

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE
PIMENTA PARA ELABORAÇÃO DE GELEIA DIET**

Gisele Teixeira de Souza Sora
Tecnóloga de Alimentos, UTFPR, 2007

Orientadora: Prof. Dra. Rosangela Bergamasco

Co-orientadora: Prof. Dra. Angélica M. Salcedo Vieira

Dissertação de Mestrado
apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Engenharia
Química da Universidade Estadual
de Maringá, como parte dos
requisitos necessários à obtenção
do Grau de Mestre em Engenharia
Química, área Desenvolvimento de
Processos.

Maringá – PR – Brasil

Fevereiro de 2011

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

Sora, Gisele Teixeira de Souza
S714 Aproveitamento de resíduos agroindustriais de pimenta para
elaboração de geleia diet / Gisele Teixeira de Souza
Sora. -- Maringá, 2011.
93 f. : il. col., figs., tabs.

Orientador: Prof.a Dr.a. Rosangela Bergamasco.
Co-orientadora: Prof.a Dr.a Angelica Marquettoti Salcedo Vieira.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá,
Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia
Química, Programa de Pós-Graduação em Engenharia
Química, 2011.

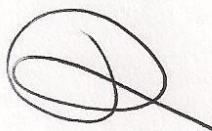
1. Elaboração de Geleia Diet. 2. Caracterização Físico-Química,
Microbiológica e Sensorial 3. Reologia 4. Compostos
Fenólicos . I. Bergamasco, Rosangela, orient. II.
Vieira, Angelica Marquetotti Salcedo co-orient. III.
Universidade Estadual de Maringá, Departamento de
Engenharia Química, Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Química III. Título.

664.8CDD 21.ed.

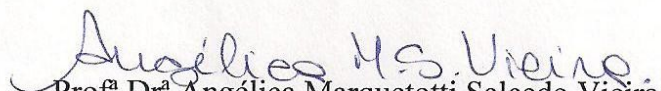
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Esta é a versão final da Dissertação de Mestrado apresentada por Gisele Teixeira de Souza Sora perante a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Engenharia Química em 24 de fevereiro de 2011.

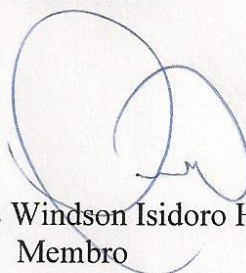
COMISSÃO JULGADORA



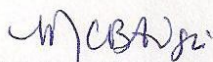
Profª Drª Rosângela Bergamasco
Orientadora



Profª Drª Angélica Marquetotti Salcedo Vieira
Coorientadora



Prof. Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk
Membro



Profª Drª Miriam Carla Bonicentro Ambrosio Ugri
Membro

SORA, GISELE TEIXEIRA DE SOUZA

Aproveitamento de Resíduos Agroindustriais de Pimenta para Elaboração de Geleia Diet [Paraná] 2011.

XIII, 93 p., 29,7 cm (PEQ/UEM, M.Sc., Engenharia Química, 2011).

Dissertação – Universidade Estadual de Maringá – PEQ.

1. Desenvolvimento geleia

2. Caracterização

I. PEQ/UEM II. Título (série)

*Por mais que estudemos, sabemos pouco
perto do que saberemos... e jamais saberemos
tudo.*

*Sê humilde para evitar o orgulho, mas voa alto
para alcançar a sabedoria”.*
(Santo Agostinho)

*Meu amor e carinho aos meus pais
Rosane e Airton e irmãos Laila e Yuri.*

*Meu amor e companheirismo ao meu
querido Paulo.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À **DEUS**, por renovar minha fé constantemente fazendo-me acreditar que foi possível, me guiando e orientando sempre.

Ao meu esposo **Paulo**, pelo seu amor e amparo, sempre compreendendo minha ausência.

Aos meus **pais e família** que mesmo distantes sempre se fizeram presentes em todos os momentos.

À professora e amiga, **Rosângela**, pela orientação, carinho, compreensão, oportunidade de crescimento profissional e confiança depositada.

Aos professores e amigos **Charles e Angélica**, pelas sábias sugestões no trabalho, paciência e conhecimentos compartilhados.

Aos **professores componentes da banca examinadora**, por sua cordialidade e disponibilidade na avaliação deste trabalho.

À agroindústria **Sabor da Vila** e indústrias **Lowçucar** e **CPKelco**, que forneceram materiais necessários para a realização desse trabalho, sem os quais não teria se desenvolvido da mesma forma.

À amiga **Fernanda**, pela força nos momentos difíceis, pelo carinho incansável, pelos dias de estudo, pelas risadas e pela amizade que o mestrado nos fez construir. Às amigas **Cynthia, Dalany, Sheila e Fer** pelo carinho da hospitalidade, convívio e momentos agradáveis. À querida **Rúbia** por sua amizade e trocas de experiências, aos amigos que iniciaram o mestrado comigo, com os quais passei dias estudando, bons momentos. Aos demais **amigos** que encontrei nessa caminhada que foram muito importantes e que tanto me ajudaram.

Aos **funcionários do DEQ** pelo apoio no decorrer do trabalho.

Aos amigos de laboratório **Maria, Lauro, Elenice, João, Luíza, Valmir, Luiz e Milton** pelo convívio e conhecimento compartilhado.

Ao **Departamento de Engenharia Química** da Universidade Estadual de Maringá, pela oportunidade profissional.

À **Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Campo Mourão**, em especial ao departamento de Alimentos, pelo apoio.

Ao **CNPq e Fundação Araucária** pelo suporte financeiro e incentivo à pesquisa.

E a todos cujos nomes não foram citados, mas que contribuíram para que este trabalho fosse realizado.

APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE PIMENTA PARA A ELABORAÇÃO GELEIA DIET

AUTORA: GISELE TEIXEIRA DE SOUZA SORA

ORIENTADORA: PROF^a ROSÂNGELA BERGAMASCO, D.Sc.

Dissertação de Mestrado; Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química;
Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo, 5790, BL E46-09; CEP: 87020-900 –
Maringá – PR, Brasil, defendida em 24 de fevereiro de 2011. 93 p.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo a elaboração e caracterização de geleia *diet* de pimenta, tendo como base resíduos e sobras de pimenta dedo-de-moça (*Capsicum baccatum* var. *pendulum*) fornecidos pela agroindústria Sabor da Vila de Atalaia - Paraná, dando a estes subprodutos um destino mais nobre e aumentando seu valor comercial. A geleia foi caracterizada de forma físico-química, microbiológica e sensorial. Esta avaliação completa revelou resultados satisfatórios quando comparados a resultados encontrados por outros autores e aos limites permitidos pela legislação. Constatou-se um produto livre de qualquer contaminação microbiológica, com os padrões físico-químicos dentro dos limites permitidos pela ANVISA, e de excelente aceitação pelos consumidores em relação às análises sensoriais de aceitação e consumo.

Realizou-se para a geleia a avaliação do comportamento reológico e os dados de viscosidade ajustados ao modelo de Arrhenius para obtenção da energia de ativação. A geleia de pimenta *diet* apresentou um comportamento pseudoplástico em todas as temperaturas ensaiadas que variaram de 10° - 60°C, sendo que os valores foram bem ajustados pelo modelo de Lei de Potência. A energia de ativação obtida pela equação de Arrhenius, em 30 s⁻¹, foi de 10,35 kJmol⁻¹.

Fez-se a verificação de compostos fenólicos presentes na amostra de geleia e da pimenta *in natura*, pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, e a quantificação e avaliação da sua atividade antioxidante foi analisada pelo método do radical livre DPPH. Uma grande variedade no valor de compostos fenólicos foi observada nas amostras.

Notou-se que, devido a cocção, a geleia obteve resultados em relação a porcentagem da atividade antioxidante (%AA) um pouco inferiores aos da pimenta.; Uma vez que a pimenta *in natura* oferece seis vez mais proteção a oxidação (aproximadamente 88,6 %AA) quando comparado com a geleia (aproximadamente 36,23 %AA).

Palavras Chave: geleia de pimenta, caracterização, reologia, compostos fenólicos.

UTILIZATION OF WASTE GENERATED IN AGRO TO PREPARE FOR NEW FOOD PRODUCTS

AUTHOR: GISELE TEIXEIRA DE SOUZA SORA

SUPERVISOR: PROF^a ROSÂNGELA BERGAMASCO, D.Sc.

Master Thesis; Chemical Engineering Graduate Program, State University of Maringá; Av. Colombo, 5790, BL E46-09; CEP: 87020-900 – Maringá – PR, Brazil, presented on February, 24th 2010. 93p.

ABSTRACT

This study aimed to the preparation and characterization of diet pepper jam based on waste and leftover “dedo-de-moça” pepper (*Capsicum baccatum* var. *pendulum*) provided by Taste of Village Agrobusiness located in Atalaia -Paraná, giving these products a noblest destination and increasing their commercial value. The jam was characterized by physical-chemical and microbiological analysis besides sensory testing. This complete evaluation showed satisfactory results when compared to results found by other authors and permitted by Brazilian legislation. It found a product free from any microbiological contamination, with the physical-chemical standards within the limits allowed by ANVISA, excellent acceptance by panelists in sensory analysis and great score on consumer acceptance test.

Rheological behavior evaluation was performed for the diet pepper jam, and viscosity data were adjusted to the Arrhenius model to obtain the activation energy. The diet pepper jam showed a pseudoplastic behavior at all temperatures tested ranged from 10° - 60° C, and the values were well fitted by the Power Law model. The activation energy obtained by the Arrhenius equation, 30 s^{-1} , was 10.35 kJmol^{-1} .

The verification of phenolic compounds present in both pepper jam and fresh pepper samples were performed by the colorimetric method of Folin-Ciocalteu and the quantification and evaluation of their antioxidant activity were analyzed by the DPPH free radical system. A variety of phenolic compounds was observed in the samples. It was noted that due to cooking, the percentage of antioxidant activity (AA%) for jam was slightly lower than *in natura* pepper percentage. Fresh pepper showed six times more

protection to oxidation (approximately 88,6 %AA) compared with the jelly (approximately 36,23 %AA).

Keywords: pepper jam, characterization, rheology, phenolics compounds.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	4
2.1	OBJETIVO PRINCIPAL.....	4
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1	PIMENTA.....	5
3.1.1	<i>Pimenta Capsicum baccatum variedade pendulum</i>	7
3.2	RESÍDUOS E SOBRAS AGROINDUSTRIAIS	9
3.3	INDUSTRIALIZAÇÃO DE GELEIAS	11
3.3.1	<i>Pectina</i>	13
3.3.2	<i>Ácido Cítrico</i>	16
3.3.3	<i>Sorbato de Potássio</i>	17
3.3.4	<i>Edulcorantes</i>	18
3.4	ALIMENTOS <i>DIET</i>	19
3.5	ANÁLISE SENSORIAL.....	22
3.6	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE GELEIAS	23
3.7	CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS.....	27
3.8	REOLOGIA DOS ALIMENTOS.....	31
3.9	ANTIOXIDANTES.....	34
4	METODOLOGIA	37
4.1	PROCESSAMENTO DA GELEIA.....	37
4.2	CARACTERIZAÇÃO SENSORIAL	39
4.2.1	<i>Teste de Aceitação</i>	40
4.2.2	<i>Teste de Consumo</i>	41
4.3	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA GELEIA	41
4.3.1	<i>Proteínas</i>	41
4.3.2	<i>Teor de Sólidos Solúveis (°Brix)</i>	41
4.3.3	<i>pH</i>	42
4.3.4	<i>Acidez Titulável (% em ácido cítrico)</i>	42
4.3.5	<i>Cinzas</i>	42
4.3.6	<i>Umidade Relativa</i>	42
4.3.7	<i>Atividade de Água (AW)</i>	42
4.3.8	<i>Açúcares Redutores</i>	42
4.4	CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA.....	43
4.4.1	<i>Coliformes Totais (35°C) e Termotolerantes (45°C)</i>	43
4.4.2	<i>Salmonella</i>	44
4.4.3	<i>Bolores e Leveduras</i>	44
4.5	ANÁLISES REOLÓGICAS	45
4.6	DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS.....	45
4.6.1	<i>Determinação de Compostos Fenólicos por Folin Ciocalteu</i>	46
4.6.2	<i>Método do Radical Livre DPPH</i>	46
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1	PROCESSAMENTO DA GELEIA.....	48
5.2	CARACTERIZAÇÃO SENSORIAL	49
5.2.1	<i>Teste de Aceitação</i>	49
5.2.2	<i>Teste de Consumo</i>	50

5.3	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA GELEIA	50
5.3.1	<i>Proteínas</i>	51
5.3.2	<i>Teor de Sólidos Solúveis (°Brix)</i>	51
5.3.3	<i>pH</i>	52
5.3.4	<i>Acidez Titulável (% em ácido cítrico)</i>	52
5.3.5	<i>Cinzas</i>	52
5.3.6	<i>Umidade Relativa (%)</i>	53
5.3.7	<i>Atividade de água (AW)</i>	53
5.3.8	<i>Açúcares Redutores</i>	53
5.4	CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA.....	54
5.4.1	<i>Coliformes Totais (35°C) e Termotolerantes (45°C)</i>	55
5.4.2	<i>Salmonella</i>	56
5.4.3	<i>Bolores e Leveduras</i>	57
5.5	ANÁLISES REOLÓGICAS	58
5.6	DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS.....	61
5.6.1	<i>Determinação de Compostos Fenólicos por Folin Ciocalteau</i>	61
5.6.2	<i>Método do Radical Livre DPPH</i>	67
6	CONCLUSÕES.....	69
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
8	ANEXOS	85

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - PIMENTA <i>CAPSIUM BACCATUM</i> VAR. <i>PENDULUM</i>	8
FIGURA 2 - RESÍDUOS E SOBRAS DE PIMENTA DEDO-DE-MOÇA.....	10
FIGURA 3 : ESTRUTURA QUÍMICA GERAL DAS SUBSTÂNCIAS PÉTICAS.....	14
FIGURA 4: FLUXOGRAMA DO PROCESSAMENTO DA GELEIA <i>DIET</i> DE PIMENTA DEDO-DE-MOÇA.....	39
FIGURA 5: FORMULAÇÕES FINAIS A E B DE GELEIA DE PIMENTA DEDO-DE-MOÇA <i>DIET</i>	48
FIGURA 6- GRÁFICO QUE INDICA A PROVÁVEL ATITUDE DE CONSUMO DOS PROVADORES EM RELAÇÃO À AMOSTRA (B) QUE MAIS GOSTARAM.	50
FIGURA 7 – TUBOS DE ENSAIO CONTIDOS DE GELEIA DE PIMENTA E CALDO VB E EC COM AUSÊNCIA DE CONTAMINAÇÃO DE COLIFORMES À 35° E 45°C SEM PRODUÇÃO DE GÁS E MEIO LÍMPIDO.	56
FIGURA 8 – PLACAS DE PÉTRI CONTENDO OS ÁGARES HEKTOEN (VERDE) E XLD (VERMELHO) APRESENTANDO ESTRIAS COM AUSÊNCIA DE COLÔNIAS DE <i>SALMONELLA</i>	57
FIGURA 9– PLACA DE PÉTRI CONTENDO DG18 COM AUSÊNCIA DE COLÔNIAS DE BOLORES E LEVEDURAS.	58
FIGURA 10 – CURVA DE FLUXO DO MODELO LEI DA POTÊNCIA AJUSTADO PARA GELEIA DE PIMENTA <i>DIET</i>	59
FIGURA 11 – RELAÇÃO LINEAR DA VISCOSIDADE SOBRE A TEMPERATURA DA GELEIA DE PIMENTA <i>DIET</i>	60
FIGURA 12 – DIAGRAMAS DE PARETO PARA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DA PIMENTA DEDO-DE-MOÇA (A) E GELEIA <i>DIET</i> DE PIMENTA (B) VARIANDO SOLUTO/SOLVENTE E VOLUME	63
FIGURA 13 – GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA EM RELAÇÃO O PONTO ÓTIMO DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DA PIMENTA DEDO-DE-MOÇA (A) E GELEIA DE PIMENTA <i>DIET</i> (B), SOLUTO/SOLVENTE EM MG/ L.....	65
FIGURA 14 – GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA (CURVAS DE NÍVEL) EM RELAÇÃO O PONTO ÓTIMO DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DA PIMENTA DEDO-DE-MOÇA (A) E GELEIA DE PIMENTA <i>DIET</i> (B), SOLUTO/SOLVENTE EM MG/L.	66
FIGURA 15 - PERCENTUAL DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA PIMENTA E GELEIA PELO MÉTODO DPPH.....	68

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - PERCENTUAL DO ÍNDICE DE ACEITABILIDADE	40
TABELA 2- FORMULAÇÕES FINAIS ENCONTRADAS PARA A ELABORAÇÃO DA GELEIA DE PIMENTA DEDO-DE-MOÇA <i>DIET</i>	48
TABELA 3 - NOTAS MÉDIAS ATRIBUÍDAS PELOS PROVADORES PARA AS DIFERENTES FORMULAÇÕES DE GELEIA AOS ATRIBUTOS REQUISITADOS NO TESTE DE ACEITAÇÃO.....	49
TABELA 4 – RESULTADOS DA CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA DA GELEIA DE PIMENTA <i>DIET</i>	51
TABELA 5 – DETERMINAÇÕES MICROBIOLÓGICAS DE GELEIA DE PIMENTA DEDO-DE-MOÇA <i>DIET</i> E LEGISLAÇÃO.....	54
TABELA 6 - PARÂMETROS DE AJUSTE DO MODELO DE LEI DE POTÊNCIA DA GELEIA DE PIMENTA DEDO-DE-MOÇA <i>DIET</i>	59
TABELA 7 - DELINEAMENTO EXPERIMENTAL VARIANDO SOLUTO/SOLVENTE DA PIMENTA <i>IN NATURA</i> E GELEIA DE PIMENTA <i>DIET</i> ..	61
TABELA 8 - PORCENTAGEM DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH DA PIMENTA, GELEIA E PADRÕES.....	67

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

Em estudo realizado pelo Ministério do Meio Ambiente em 2007, foi constatado que a falta de saneamento ambiental (coleta de lixo, rede de esgotos, tratamento de efluentes) é a maior preocupação ambiental para muitos brasileiros questionados (ZUBEM, 2008).

A disposição inadequada do resíduo sólido urbano em "lixões" a céu aberto, sem qualquer tratamento, está contaminando os lençóis freáticos (água de subsolo) de várias regiões brasileiras (MANO, 2005).

A decomposição do lixo, na ausência de oxigênio, resulta na emissão descontrolada do gás chamado metano, grande causador do efeito estufa, que é aumento da temperatura média do planeta: uma tonelada deste gás equivale à liberação de aproximadamente 20 toneladas de gás carbônico para a atmosfera (ZUBEM, 2008).

O resíduo sólido urbano brasileiro ainda possui concentração muito elevada de matéria orgânica (resíduos de alimentos) que, de acordo com os últimos dados levantados na cidade de São Paulo, atinge cerca de 50% (cerca de 5 mil toneladas) em peso de todo o lixo coletado diariamente (ZUBEM, 2008).

Um fator importante a ser levado em consideração quando se trabalha com produtos agrícolas está relacionado ao desperdício e perdas ao longo da cadeia produtiva. Na produção de frutas (30 milhões de toneladas por ano), o desperdício varia de 20 a 35%, enquanto no segmento de hortaliças (27 milhões de toneladas por ano) as perdas oscilam entre 20 e 50%, ou seja, o desperdício pode chegar a 48,9 milhões de toneladas por ano (BANCO DE ALIMENTOS, 2006; IBGE, 2003).

Em geral, as pessoas não identificam restos de alimento como geradores de impactos ambientais, e a busca de soluções para o problema não tem sido prioritária. Evitar a perda de alimentos faz sentido, também, em termos de diminuição do impacto ambiental de toda a cadeia alimentícia (MULLER, 2009).

Uma alternativa para aproveitar os resíduos consiste no desenvolvimento de novos produtos que os utilizem, proporcionando um destino mais nobre, de maior valor comercial aos subprodutos gerados em agroindústrias.

O desenvolvimento de novos produtos nas economias de mercados dinâmicos, especialmente na indústria de alimentos é fator essencial para a sobrevivência das empresas. Os consumidores têm aumentado suas expectativas quanto a novidades em produtos e diminuído sua fidelidade às marcas, tornando o mercado de alimentos muito mais competitivo e encurtando o ciclo de vida dos produtos lançados (WILLE *et al.*, 2004).

Para que se tenha um bom resultado na comercialização de novos produtos é importante definir para qual segmento da população serão destinados os produtos elaborados (FERREIRA, 2010).

Uma parcela da população que apresenta potencial para o consumo de produtos diferenciados são aqueles portadores de diabetes, pois não podem consumir produtos que contenham açúcares (BELFORT e OLIVEIRA, 2001).

O desenvolvimento de produtos com boa qualidade nutricional e sem açúcares, destinados aos portadores de diabetes tem apelo comercial e certamente traria bons resultados à agroindústria produtora (FERREIRA, 2010).

A grande variedade de produtos e marcas disponíveis no mercado alimentício dificulta a comercialização por parte dos pequenos produtores, os quais necessitam apresentar produtos de qualidade, seguros sob o ponto de vista microbiológico e físico-químico, e com algum diferencial (WILLE *et al.*, 2004).

Quando se visa uma determinada parcela do mercado, as oportunidades de comercialização tornam-se maiores, fazendo com que ocorra um desenvolvimento deste pequeno negócio (FERREIRA, 2010).

Avaliando esse contexto sob o ponto de vista agrícola, de saúde pública e mercadológica, surge a necessidade de se viabilizar um tratamento diferenciado no setor hortifruti no Brasil, como uma maneira sustentável de diminuir os agravantes da fome e da saúde no país, desenvolvendo maneiras alternativas para o decréscimo de desperdícios alimentares (ZUBEM, 2008).

Uma alternativa é apoiar a agro-industrialização da produção dos agricultores familiares e a sua comercialização, de modo a agregar valor, gerar renda e oportunidades

de trabalho no meio rural, com conseqüente melhoria da qualidade de vida dos agricultores (MULLER, 2009).

A cidade de Atalaia, localizada no norte do Paraná, possui uma região rural subdesenvolvida, porém a execução de projetos, como a parceria entre a Universidade e a agroindústria Sabor da Vila, tem beneficiado o desenvolvimento da mesma. Esta parceria envolve toda uma cadeia produtiva, incluindo a comercialização dos produtos finais, mão de obra para desenvolvimento dos produtos, fornecedores dos insumos utilizados além de produtores agrícolas locais.

A busca por novos produtos que agreguem valor às sobras e resíduos de frutos e tragam benefícios à saúde deve ser relevante, levando-se em consideração as propriedades nutricionais e funcionais dos mesmos.

O desenvolvimento de uma geleia tendo como base resíduos e sobras de pimenta dedo-de-moça gerados, irá contribuir de forma significativa tanto para a agroindústria, pois irá aumentar seu portfólio de produtos e dar um destino nobre a suas sobras, quanto para os consumidores de pimenta, propondo a elaboração de um novo produto no mercado assegurando qualidade, aceitação e segurança ao mesmo.

Com base nessas informações o presente trabalho foi proposto.

CAPÍTULO 2

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Principal

Este trabalho teve como objetivo geral aproveitar os sub-produtos e resíduos de pimenta *Capsicum baccatum* var. *pendulum*, gerados em uma agroindústria familiar da Região de Maringá para a produção de geleia *diet*.

2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver um novo produto;
- Caracterização físico-química e microbiológica da formulação final da nova geleia elaborada;
- Avaliação sensorial, aplicação dos testes de consumo e aceitabilidade em relação a atributos (aparência, aroma, sabor, textura e global);
- Realização de análises reológicas da geleia para a obtenção das curvas de fluxos e a modelagem matemática das mesmas;
- Avaliação do efeito da temperatura nos parâmetros reológicos e os dados de viscosidade ajustados ao modelo Lei da Potência e Arrhenius para obtenção da energia de ativação;
- Avaliação de compostos fenólicos presentes na geleia e na pimenta *in natura*, quantificação e avaliação da sua atividade antioxidante.

CAPÍTULO 3

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Pimenta

As pimentas constituem um grupo de espécies botânicas com características próprias, que produzem frutos geralmente com sabor picante, embora também existam pimentas doces (REIFSCHNEIDER, 2000).

A planta é arbustiva, atingindo 120 cm de altura, com ampla formação de ramificações laterais e possibilidade de tornar-se perene. Normalmente é autopolinizada, todavia pode ocorrer a polinização cruzada (BONTEMPO, 2007).

As pimentas (*Capsicum spp*) são cultivadas em diferentes regiões de nosso país, sejam de clima subtropical como no sul ou de clima tropical como no norte e nordeste (NASCIMENTO, DIAS e FREITAS, 2006).

O gênero *Capsicum* possui cerca de 25 espécies, sendo apenas cinco domesticadas: *C. annum L. var. annum* (pimentão), *C. baccatum L. var. pendulum* (pimenta dedo-de-moça), *C. chinense Jacq.* (pimenta de cheiro), *C. frutescens L.* (pimenta malagueta) e *C. pubescens* (pimenta rocoto). As demais espécies são semidosmesticadas e silvestres (REIFSCHNEIDER, 2000).

Assim como os pimentões, as pimentas pertencem a família *Solanaceae*, gênero *Capsicum spp*. E são originárias das Américas. O Brasil se destaca como o país possuidor de maior número de espécies silvestres do gênero, pois sua distribuição natural, além da zona andina (Argentina/Venezuela) que vai até a América Central, predomina também na zona litorânea brasileira. Sua origem exata é controversa. Alguns pesquisadores acreditam que elas surgiram na Bacia Amazônica, enquanto outros afirmam que se originaram na América Central ou ainda no México (BONTEMPO, 2007).

No Brasil, o agronegócio de pimentas movimenta, desde o processamento até à comercialização, cerca de R\$ 80 milhões por ano. As variedades de pimenta mais cultivadas

são: a malagueta (*Capsicum frutescens*), dedo-de-moça (*Capsicum baccatum*) e cumari (*Capsicum chinense*), entre outras (DINIZ e DIAS, 2008).

Apenas a comercialização de sementes é responsável por um mercado de mais de três milhões de reais anuais. As pimentas vermelhas respondem pelo terceiro lugar em produção e consumo de hortaliças para tempero no Brasil, ficando atrás apenas do alho e da cebola (REIFSCHNEIDER, 2000).

O cultivo de pimentas, considerado até pouco tempo uma atividade secundária, tem sofrido grandes transformações e assumido maior importância no País. Essas transformações visam atender às demandas internas e externas do mercado consumidor (NASCIMENTO, DIAS e FREITAS, 2006).

As pimentas conquistaram o mundo e o comércio das especiarias com o seu colorido, ardor e beleza. As variedades do gênero *Capsicum* são presença obrigatória na culinária de quase todos os povos (LINGUANOTTO NETO, 2004).

Hoje, o agronegócio de pimentas está entre os melhores exemplos de integração entre todos os atores dessa cadeia produtiva. Grande número de produtores familiares, de pequeno porte, faz conservas de pimentas e as comercializa diretamente em feiras livres, mercados de beira de estrada, pequenos estabelecimentos comerciais e atacadistas (RUFINO e PENTEADO, 2006).

O gênero *Capsicum*, ao qual pertencem todas as pimentas, apresenta grande variação morfológica, com frutos de tamanhos, formatos, cores e pungências (característica exclusiva deste gênero, sendo atribuída a uma amida chamada capsaicina) variadas. A coloração do fruto maduro é geralmente vermelha, podendo variar desde amarelo-leitoso ao roxo ou preto (COSTA, 2007).

O formato varia com as espécies, existindo frutos alongados, arredondados, triangulares ou cônicos, quadrados, campanulados (COSTA, 2007) e diante de tão grande diversidade, as propriedades antioxidantes, as vitaminas e outros fitoquímicos também apresentam grande variação (CHUAH *et al.*, 2008).

Os capsaicinóides são as substâncias que dão às pimentas o sabor picante: o alcalóide lipófilo, capsaicina ou capsaicina. Eles causam a ardência, a inflamação, a dessensibilização e o

estímulo elétrico de nervos sensoriais, os quais ocorrem devido ao bloqueio de um neurotransmissor chamado substância “P”, necessário para a excitação dos receptores da dor e que desencadeiam diversos processos fisiológicos (PURKISS *et al.*, 2000).

Um deles é a liberação de endorfinas, que provocam uma sensação de bem estar, provável razão pelo seu grande consumo (WAGNER, 2003).

Além dos benefícios citados acima, as pimentas são excelentes fontes de vitaminas A e C, bem como de compostos fenólicos, que são antioxidantes importantes para sobrevivência da plantas. São ricas também em carotenóides como β -caroteno, capsantina, capsorubina e β -cripitoxantina (MARKUS *et al.*, 1999).

As pimentas são estimulantes do apetite e auxiliares da digestão. Sua ingestão aumenta a salivação e estimula a secreção gástrica e a motilidade gastrointestinal, promovendo a sensação de bem estar após a ingestão (BONTEMPO, 2007).

Os nutrientes, quando em proporções adequadas na dieta, são capazes de assegurar a manutenção das funções vitais do organismo, suprimindo as suas necessidades de produção de energia, de elaboração e manutenção tecidual e de equilíbrio biológico. Todos esses componentes são encontrados nos frutos de *Capsicum* em quantidades variáveis (REIFSCHNEIDER, 2000).

3.1.1 Pimenta *Capsicum baccatum* variedade *pendulum*

As plantas de pimenta tipo dedo-de-moça espécie *Capsicum baccatum* var. *Pendulum* são arbustivas, com cerca de 1 m de altura. Os frutos são alongados, de coloração vermelha quando maduros, medem cerca de 1,0 a 1,5 cm de diâmetro, de 8 a 10 cm de comprimento e pungência que varia de suave a mediana (CARVALHO *et al.*, 2006; MOREIRA *et al.*, 2006).

Dependendo da região e do uso, as pimentas do tipo dedo-de-moça podem ter diferentes nomes, como Chifre de Veado, quando os frutos são maiores, e Vermelha ou Calabresa quando usadas desidratadas na forma de flocos (CARVALHO *et al.*, 2006). A Figura 1 apresenta a foto de um fruto de pimenta dedo-de-moça inteiro e em corte longitudinal exibindo suas sementes e as demais estruturas morfológicas.

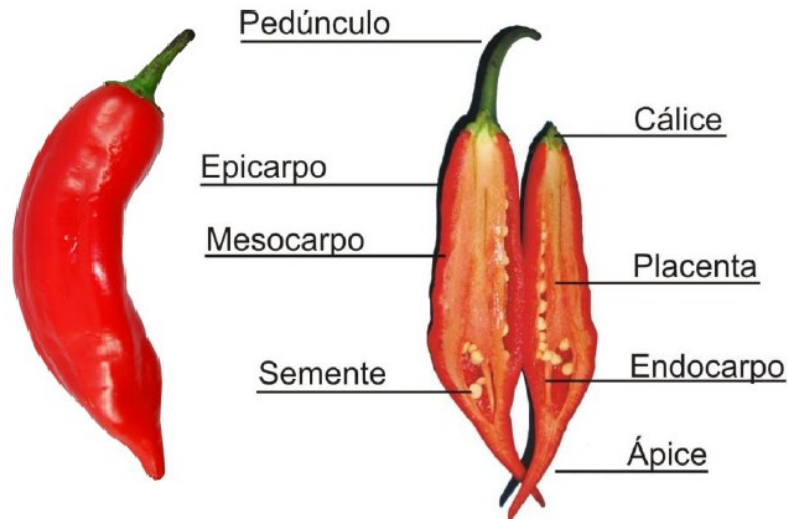


Figura 1 - Pimenta *Capsicum baccatum* var. *Pendulum*

Atualmente é uma pimenta que está presente nas especiarias dos países da América Latina, nos Estados Unidos e Japão. É consumida *in natura* ou na forma de molhos, pastas e desidratada com as sementes que é popularmente denominada de calabresa (EMBRAPA, 2009).

A pimenta dedo-de-moça é cultivada principalmente nos estados de São Paulo, Rio Grande do Sul e Goiás. O seu cultivo é realizado por pequenos, médios e grandes produtores e se ajusta perfeitamente aos modelos de agricultura familiar e de integração pequeno agricultor-agroindústrias (CARVALHO *et al.*, 2006).

Sabe-se que as pimentas *Capsicum baccatum*, juntamente com os pimentões, têm altos valores vitamínicos. São fontes de antioxidantes naturais: a vitamina C, os carotenóides (que têm atividade pró-vitamina A), a vitamina E e as vitaminas do complexo B, bem como os compostos fenólicos (LINGUANOTTO NETO, 2004).

A pimenta dedo-de-moça está descrita como um alimento funcional devido às propriedades antioxidante, antiinflamatória, anti-mutagênica e quimiopreventivo do vanilóide (receptor sensorial) pungente (capsaicina) presente nos frutos (LINGUANOTTO NETO, 2004).

Estudos apontam que a capsaicina exibe propriedade antiinflamatória e pode ser útil na melhora de doenças inflamatórias e como agente preventivo. Sugerem que a ingestão de

pimenta pode prevenir doenças relacionadas com inflamação e estresse oxidativo (a exemplo da aterosclerose), bem como ser usada como tratamento como por exemplo, na redução do colesterol e peroxidação lipídica (ALVES², 2006).

Alguns benefícios associados ao uso continuado de pimentas *Capsicum baccatum* foram verificados em grupos étnicos, tais como tailandeses e africanos, que apresentam menor nível de fibrina no sangue (componente que participa da formação do trombo) e baixa incidência de tromboembolismo (EMBRAPA,2009).

A ação digestiva dá-se pela capsaicina contida nos frutos, que estimula as enzimas responsáveis pela digestão ou de secreção de bile. Deste modo, a ingestão de capsaicina diminui significativamente o tempo de trânsito gastrointestinal dos alimentos (REIFSCHNEIDER, 2000).

3.2 Resíduos e Sobras Agroindustriais

A agroindústria tem se expandido cada vez mais para atender a crescente demanda populacional por alimentos. Dentro desse contexto, o Brasil, com sua economia fortemente baseada no agronegócio, contribui para a geração de grande quantidade de resíduos agroindustriais resultantes das atividades de processamento (ALBUQUERQUE, 2009).

Esses resíduos, em muitas situações, representam um grave problema, pois, aparentemente sem aplicação viável são descartados diretamente no meio ambiente (ALBUQUERQUE, 2009).

Os alimentos não aproveitados ao longo da cadeia produtiva representam 1,4% do Produto Interno Bruto (PIB), o que ultrapassa a quantia de R\$ 17,25 bilhões de reais. Aproximadamente 64% do que se planta no Brasil é perdido ao longo dessa cadeia, sendo: 20% na colheita, 8% no transporte e armazenamento, 15% na indústria de processamento, 1% no varejo e 20% no processamento culinário e hábitos alimentares (IBGE, 2003; BANCO DE ALIMENTOS, 2006).

As atividades agropecuárias e de processamento de produtos agropecuários têm proporcionado sérios problemas de poluição no solo, em águas superficiais e em águas subterrâneas (ZUBEM, 2008).

Como os resíduos de atividades agroindustriais apresentam, em geral, grande concentração de material orgânico, o seu lançamento em corpos hídricos pode proporcionar grande decréscimo na concentração de oxigênio dissolvido nesse meio, cuja magnitude depende da concentração de carga orgânica e da quantidade lançada, além da vazão do curso d'água receptor (MATOS, 2005).

Os resíduos agroindustriais são constituídos pelos restos de plantas não aproveitados comercialmente ou condicionados pela maturidade da cultura ou oferta da matéria-prima (MATOS, 2005). A Figura 2 representa algumas sobras e resíduos de pimenta dedo-de-moça de formas e tamanhos irregulares, cores diferenciadas e que contém partes amassadas, as quais não serão utilizadas na fabricação de conservas ou vendas *in natura*.



Figura 2 - Resíduos e sobras de pimenta dedo-de-moça

A indústria alimentícia, que até então não demonstrava maior preocupação com o reaproveitamento de resíduos, vem se mostrando aberta ao diálogo para empregar os resultados das novas pesquisas nas etapas produtivas, uma vez que estão verificando a real possibilidade de agregar valor ao seu negócio (ALENCAR, 2009).

De acordo com Alencar (2009), do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da USP, muitos resíduos são ricos em compostos bioativos, amplamente reconhecidos pelas suas propriedades promotoras de saúde e aplicações tecnológicas, tais

como antioxidantes e antimicrobianos, representando, portanto, potenciais fontes naturais destas substâncias.

O estudo desses compostos bioativos de alimentos inspirou o conceito de alimentos funcionais. Compostos bioativos são constituintes extranutricionais e ocorrem tipicamente em pequenas quantidades nos alimentos, o interesse neles cresce a cada ano (ALENCAR, 2009).

Estudos epidemiológicos, que abordam principalmente uma dieta rica em alimentos de origem vegetal, apresentam resultados interessantes, sugerindo que esses alimentos são capazes de exercer influência na redução do risco do desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, como cardiovasculares, cânceres, distúrbios metabólicos, doenças neurodegenerativas e enfermidades inflamatórias (CARRATU e SANZINI, 2005).

3.3 Industrialização de Geleias

Atualmente investe-se muito em produtos alternativos a base de pimenta sendo as geleias um deles. Pode-se considerá-las como o segundo produto em importância comercial para a indústria de conservas de frutas brasileiras. Em outros países, principalmente os europeus, como é o caso da Inglaterra, assume um papel de destaque, tanto no consumo quanto na qualidade (ITAL, 1991).

O produto geleia deve ser preparado de frutos sãos, limpos, isentos de matéria terrosa, de parasitos, de detritos, de animais ou vegetais, e de fermentação. Não deve conter substâncias estranhas à sua composição normal, exceto as previstas nesta Norma. Deve estar isento de pedúnculos e de cascas, mas pode conter fragmentos da fruta, dependendo da espécie empregada no preparo do produto (BRASIL, 2007).

As geleias transparentes que não contiverem em sua massa pedaços de frutas devem, ainda, apresentar elasticidade ao toque, retornando à sua forma primitiva após ligeira pressão. A cor e o cheiro devem ser próprios da fruta de origem. O sabor deve ser doce, semi-ácido, de acordo com a fruta de origem (BRASIL, 2007).

As Normas Técnicas Relativas a Alimentos e Bebidas da ANVISA, constantes da Resolução nº 65, de 4 de outubro de 2007, estabelece que geleia de fruta é o produto obtido pela cocção de frutos, inteiros ou em pedaços, polpa ou suco de fruta, com açúcar e água e

concentrado até a consistência gelatinosa, podendo sofrer a adição de glicose ou açúcar invertido.

Ela não pode ser colorida nem aromatizada artificialmente, sendo tolerada a adição de acidulantes e de pectina, caso necessário, para compensar qualquer deficiência do conteúdo natural de acidez da fruta e/ou de pectina (BRASIL, 2007).

A consistência deve ser tal que, quando extraída de seu recipiente, seja capaz de se manter no estado semi-sólido. Uma combinação adequada desses componentes, tanto na qualidade como na ordem de colocação durante o processamento, deve ser respeitada para obter uma maior qualidade no produto final (BRASIL, 2007).

Na preparação da geleia a acidez e o pH devem ser controlados. Sabe-se que a acidez total não deve exceder a 0,8%, e o mínimo indicado é de 0,3%. O pH máximo é de 3,4. A legislação brasileira também estabelece um teor mínimo de 65% de sólidos solúveis em geleias contidas de açúcares (KROLOW, 2005).

Produto recente na mesa dos brasileiros, as geleias podem ser elaboradas tanto com frutos e/ou sucos ou extratos de frutos, como com partes comestíveis de pimenta, tomate, gengibre e outros vegetais, além de açúcar (ou adoçantes) e aditivos permitidos, entre eles pectina e ácidos (VENDRUSCOLO e VENDRUSCOLO, 2005).

Pode ser simples, com um só tipo de fruto ou de legume, ou mista, quando composta de um legume e de um fruto ou de dois legumes ou dois frutos (PEREDA *et al.*, 2005).

Geleia, no Brasil, é um termo genérico, usado tanto para o produto límpido, feito só com extrato, quanto para o preparado com a massa do fruto ou do legume. As geleias destacam-se entre as várias formas de se consumir pimenta porque são doces e versáteis. É possível combiná-las com salgados, como queijos e torradas. Mas, em pequena quantidade, também são muito empregadas em sobremesas feitas tanto de chocolate como de frutos (RIGO, 2010).

A utilização de uma hortaliça popular como a pimenta, portadora de sabor e aroma de grande aceitação, além de componentes funcionais, pode resultar em produtos de alta qualidade sensorial e nutricional, como geleias, doces em massa e balas, os quais apresentam grande potencial de mercado (BONTEMPO, 2007).

3.3.1 Pectina

Pectina é o polissacarídeo que, junto com a celulose e hemicelulose, forma o material estrutural das paredes celulares dos vegetais (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

Esta substância está presente na natureza, fazendo parte dos tecidos das plantas. Elas estão associadas ao processo de maturação das frutas e apresentam a capacidade de formar gel, quando em presença de açúcar (KROLOW, 2005).

Industrialmente, são utilizados frutos cítricos e a maçã como principais fontes de obtenção da pectina, sendo apresentados na forma de pó industrialmente. Podem também ser apresentados sob forma de concentrados quando extraída de forma caseira, sendo que desta forma podem sofrer degradação, pois apresentam uma umidade mais elevada, chegando a perder atividade gelificante durante o armazenamento, além de ficarem suscetíveis a fermentação (CP KELKO, 2007; KROLOW, 2005).

A pectina é um dos polissacarídeos mais importantes na indústria de alimentos, sendo muito utilizada como um ingrediente funcional em indústrias alimentícias e farmacêuticas, devido às suas propriedades gelificante e estabilizante (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

O tipo de pectina utilizada influencia tanto na qualidade do produto obtido quanto na economia do processo de produção (CP KELKO, 2007).

As substâncias pécticas são os principais componentes químicos dos tecidos, responsáveis pelas mudanças de textura dos frutos e hortaliças. Os frutos destinados à industrialização devem ser firmes o suficiente para suportar os tratamentos térmicos, estando a firmeza diretamente correlacionada ao conteúdo e tipo de pectina presentes (CHITARRA e CHITARRA, 1990).

A pectina é o elemento fundamental para a formação do gel, encontra-se amplamente distribuída no reino vegetal, na forma de diversos compostos denominados de substâncias pécticas, protopectinas, ácidos pectínicos e ácidos pécticos (SILVA, 2000).

Para a elaboração de geleias a legislação coloca limite na adição de pectinas nos produtos, sendo o limite máximo aceitável de 2% (BRASIL, 2007).

Com o envelhecimento do vegetal, a pectina é enzimaticamente degradada com perda de rigidez do material estrutural, em parte compensada pela formação da lignina que torna o tecido vegetal duro (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

Substâncias pécicas são compostos que formam um complexo grupo de substâncias derivadas de carboidratos, exclusivamente vegetais. São substâncias coloidais, constituídas por cadeias de ácidos D-galacturônicos unidos por ligações α (1-4) e seus grupos carboxílicos, podem estar parcialmente metoxilados e parcialmente ou totalmente neutralizados por base, como representado na Figura 3 (SILVA, 2000).

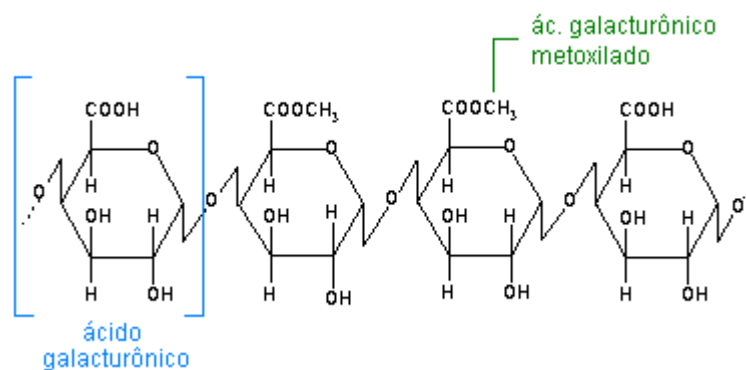


Figura 3 : Estrutura química geral das substâncias pécicas

A protopectina é a combinação da pectina com a celulose e hemicelulose por ligações covalentes (BOBBIO e BOBBIO, 2001). São substâncias insolúveis em água encontradas nas plantas, que por aquecimento, na presença de ácidos diluídos, formam ácidos pectínicos ou ácidos pécicos.

Os ácidos pectínicos são substâncias coloidais, não necessariamente solúveis em água, constituídas por ácidos poligalacturônicos com um número significativo de metoxilas na forma de ésteres. Dependendo de grau de metoxilação, podem formar géis com sacarose em meio ácido ou na presença de cátions divalentes. Ácidos pécicos são cadeias de ácido D-galacturônico, livres de metoxilas. Na presença de água formam soluções coloidais (SILVA, 2000).

As pectinas são ácidos pectínicos solúveis em água, com número de metoxilas esterificadas e grau de neutralização variável. Em meio ácido, formam géis com a sacarose (CP KELKO, 2007).

O açúcar contribui para a gelatinização porque promove a desidratação das moléculas de pectina. Os ácidos agem pela neutralização sobre os grupos carboxila (-COOH) da pectina, aumentando a tendência das moléculas se associarem para formar gel (KROLOW, 2005).

Localizam-se principalmente nos tecidos mais tenros das plantas, como no albedo das frutas cítricas e na polpa de beterraba. A quantidade em que se encontram varia de acordo com o vegetal em questão (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

As frutas cítricas são consideradas as melhores fontes de pectina, contêm entre 30 e 35%. A maçã pode ser considerada uma fruta com teor médio de pectina, enquanto que nos vegetais como a batata e o tomate contém apenas 2,5 a 3,0% de pectina, podendo ser considerados vegetais que contêm baixo teor pectínico (KROLOW, 2005).

Na presença de ácido, sacarose e água, em proporções adequadas, as pectinas formam géis bastante estáveis, a função da água no gel de pectina é dissolver o ácido, o açúcar e dispersar a pectina (SILVA, 2000).

A pectina é comercialmente classificada em pectina de alto teor de grupos metoxílicos (ATM), quando contém acima de 50% de seus grupos carboxílicos esterificados e de baixo teor (BTM), quando somente 50%, ou menos, estão esterificados (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

Grau ou teor de metoxilação é uma medida da proporção de grupos carboxílicos que estão presentes na forma esterificada. Assim sendo, o D.M. (degree of methoxylation) de 0,6 indica 60% de esterificação (CP KELKO, 2007).

Pectinas de baixo teor de metoxilas, são substâncias preparadas pela desesterificação parcial de pectinas naturais por métodos químicos e enzimáticos. A desesterificação química pode ser feita pelo emprego de ácidos, soluções aquosas de álcalis ou amônia em meio alcoólico (SILVA, 2000).

As pectinas com poucos grupos metoxílicos (abaixo de 7,0%) não formam géis da mesma forma que as pectinas de alto teor de grupos metoxílicos, mas geleificam facilmente na presença de íons divalentes, sem adição de ácido e sacarose, sendo o íon cálcio o mais utilizado. Desse modo pode-se facilmente preparar geleias dietéticas, sem a adição da

sacarose. O teor de grupos metoxílicos ideal para se produzir esse tipo de geleia é em torno de 3,5% (SILVA, 2000).

O metal atua como ligante entre as cadeias de pectina, formando a estrutura do gel, sem a necessidade de açúcar. Nos alimentos, usa-se somente íon de cálcio que é adicionado na proporção de 0,1-0,5% do peso do gel. Um excesso de cálcio produz a precipitação do pectato de cálcio (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

A pectina, é uma fibra dietética solúvel em água. Estas fibras são consideradas um complexo de fibras solúveis, celulose, hemiceluloses e polissacarídeos. A ingestão de fibras dietéticas, encontradas principalmente em cereais, leguminosas e frutas, é um meio de prevenção de doenças coronárias. Alguns trabalhos demonstram que sua ingestão pode reduzir níveis de colesterol e triglicerídeos (TURLEY, DAGGY e DIETSCHY, 1991).

Os níveis e tipos de fibras na dieta podem interferir na atividade das carboidrases intestinais, atuando na hidrólise e absorção dos nutrientes (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

3.3.2 Ácido Cítrico

O ácido cítrico também é um constituinte indispensável para a formação do gel, em geleias, quando ele não está presente na fruta ou encontra-se em quantidades insuficientes, deve ser adicionado, obedecendo aos limites permitidos pela legislação vigente. Uma matéria-prima com acidez de 0,1 a 0,5% resulta em uma economia de açúcar de aproximadamente 20% (SILVA, 2000).

A adição de acidulantes tem por finalidade abaixar o pH para a gelificação adequada e realçar o aroma natural da fruta (JACKIX, 1988).

O ácido cítrico é um dos acidulantes mais utilizados pelo seu sabor agradável para elaboração de geleias. A legislação permite ser adicionado a quantidade suficiente (*quantum satis*) para atingir a acidez do produto desejado (BRASIL, 2007).

Embora o ácido cítrico seja o mais utilizado para controle de pH em geleias e doces, outros ácidos como o málico, o láctico e o tartárico, podem ser usados. No entanto, para a mesma queda de pH alguns ácidos conferem sabor mais ou menos intenso (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

O ácido tartárico tem um sabor ácido menos detectável, possui a vantagem de que, quando utilizado nas mesmas quantidades do cítrico, dá valores de pH muito mais baixos (BONTEMPO, 2007). O ácido málico dá quase o mesmo efeito que o cítrico em pH e sabor. Entretanto, dá um sabor ácido menos intenso, porém mais persistente. Já o ácido láctico, embora dê a mesma redução de pH que o ácido cítrico, tem menor sabor acidulante, quando a mesma quantidade for empregada (SOLER, 1991).

3.3.3 Sorbato de Potássio

O sorbato de potássio é o sal de potássio do ácido sórbico, atua como conservante, fungicida e bactericida, é inibidor de crescimento de bolores e leveduras. Amplamente utilizado na alimentação como conservante (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

O ácido sórbico se encontra em forma natural em alguns frutos, contudo geralmente, utiliza-se o sorbato de potássio na indústria alimentar, pois é mais solúvel em água que o ácido sórbico (SILVA, 2000).

A quantidade máxima permitida pela legislação para geleias é de 0,10g em 100g de produto final (BRASIL, 2007).

Ele impede a rancificação e mofos em alimentos. Quando empregado no segmento de bebidas, molhos, doces, panificação entre outras aplicações, evita a formação de mofos e bolores. Por inibir a ação do fermento, não se deve utilizar este composto em produtos cuja elaboração inclui a fermentação (CALIL e AZEVEDO, 1999).

Ele é feito a partir de uma reação do ácido sórbico com o hidróxido de potássio. Apesar de classificado como irritante em alguns lugares, esse conservante é considerado seguro e suave por conta de seu longo histórico de segurança e perfil não-tóxico (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

O sorbato de potássio é não-irritante e não-sensibilizante. Reações alérgicas são muito raras e ele é bem tolerado quando administrado internamente (SILVA JUNIOR, 1996).

3.3.4 *Edulcorantes*

Edulcorantes são substâncias que possuem capacidade adoçante superior a da sacarose (açúcar comum). Em geral, não são absorvidos pelo organismo, ou contém um valor calórico muito reduzido (ALTSCHUL, 1998).

Os adoçantes dietéticos, por sua vez, são produtos considerados “Alimentos para Fins Especiais”, pela Portaria Nº 29, de 13 de janeiro de 1998, recomendados para dietas especiais, quer seja de emagrecimento ou de restrição de açúcar. E contém como princípio ativo o edulcorante.

Existem adoçantes naturais, artificiais, calóricos e não-calóricos (BRASIL, 1998).

No Brasil, até meados dos anos 1980, devido à legislação vigente, os produtos dietéticos eram considerados fármacos, sendo consumidos apenas por portadores de diabetes ou outras doenças com indicação de limitação na ingestão de sacarose (OLIVEIRA e ASSUMPÇÃO, 2000).

A situação mudou com a reclassificação dos adoçantes em 1988, o que ampliou seu uso pela população geral. Uma nova legislação em 1998 regulamentou o seu uso no mercado nacional (BRASIL, 1998).

Em razão da crescente demanda por produtos ligados ao culto ao corpo e à saúde os adoçantes dietéticos de mesa são consumidos não somente por obesos ou diabéticos, mas também por um número crescente de pessoas preocupadas em manter a forma física e restringir o nível calórico de sua alimentação (OLIVEIRA e ASSUMPÇÃO, 2000).

De acordo com Santos *et al.* (2009), embora os adoçantes sejam alvos de muitos estudos, nenhum malefício provocado pela substância foi constatado em pessoas que fazem o uso deles de forma controlada, ou seja, sem exageros.

O limite é estabelecido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e regulado no Brasil pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Até o momento, o que se sabe é que, dentro desses parâmetros, a ingestão não é tóxica (SANTOS *et al.*, 2009).

Pesquisas apontam problemas de saúde em ratos de laboratório quando os limites são ultrapassados em mais de 80 vezes. São quantidades altíssimas, que dificilmente uma pessoa

conseguiria ingerir. Logo recomenda-se que se observe a quantidade ingerida (SANTOS *et al.*, 2009).

Dentre os aditivos edulcorantes mais conhecidos estão o aspartame, a sacarina e o ciclamato, comumente utilizados, por exemplo, em adoçantes artificiais e em refrigerantes de baixo teor calórico. Os edulcorantes permitidos pela legislação brasileira são: taumatina, eritritol, neotame, sorbitol, manitol, acessulfame de potássio, aspartame, ácido ciclâmico, isomalte, sacarina, sucralose, glicosídeos de esteviol, maltitol, lactitol, xilitol e eritritol, todos com respectivos limites máximos de uso os quais se encontram no Anexo 1 (BRASIL, 1998).

A legislação brasileira divide os adoçantes em naturais, sendo a estévia o mais conhecido, além da frutose e do sorbitol; e os artificiais, como aspartame, ciclamato e sacarina entre outros. O que difere as duas modalidades é a origem deste adoçante e também seu poder de doçura em relação ao açúcar. Os edulcorantes (artificiais) apresentam um poder adoçante maior (SANTOS *et al.*, 2009).

Os adoçantes chamados naturais são originados de plantas ou moléculas de compostos naturais, como na lactose do leite, o lactitol e a própria estévia, da planta *Stevia rebaudiana*, único edulcorante natural produzido em larga escala, cultivado nos países orientais, como China e Japão, e na fronteira do Paraguai. Já os artificiais são feitos a partir de moléculas sintéticas (SANTOS *et al.*, 2009).

O adoçante utilizado para a elaboração da geleia foi o um mix elaborado pela Lowçucar. Ele é feito com diferentes edulcorantes para que não se ultrapasse o limite de consumo diário; a sua fórmula contém maltodextrina como veículo, edulcorantes artificiais ciclamato de sódio, sacarina sódica sucralose e acessulfame-K e natural steviosídeo, antiumectante dióxido de silício (LOWÇUCAR, 2010).

Este produto substitui o açúcar nas preparações culinárias *diet* e *light*, adoçando na mesma proporção (LOWÇUCAR, 2010).

3.4 Alimentos *Diet*

Diet é um dos termos estrangeiros permitidos na rotulagem dos alimentos dietéticos.

A possibilidade de substituição da expressão “produto dietético” pelo termo *diet*, é estabelecida pela Portaria nº 29/MS. Alimentos dietéticos são aqueles produtos isentos de algum ingrediente como os açúcares, sódio, gorduras, proteínas entre outros (BRASIL, 1998).

Os consumidores de produtos *diet* normalmente apresentam condições metabólicas ou fisiológicas específicas. Precisam de alimentos especialmente formulados, que eliminam ou substituem algum componente como o açúcar (diabéticos) e o sal (hipertensos) (SANTOS *et al.*, 2009).

Atualmente, a saúde é uma das maiores preocupações das pessoas. Segundo dados encontrados no site do IBOPE, 1 (um) em cada 2 (dois) brasileiros fazem regime em algum momento de sua vida, e as pessoas estão procurando ter hábitos alimentares voltados para o padrão mais equilibrado, sem restrições alimentares (UGGIORNI e FAGUNDES, 2006).

Muito se confunde em relação a alimentos *diet* e *light*, a primeira diferença entre eles está na quantidade permitida de nutriente. Enquanto que o *diet* precisa ser isento de algum ingrediente, o *light* deve apresentar uma diminuição mínima de 25% de nutrientes ou calorias em relação ao alimento convencional (BRASIL, 1998).

Para o setor alimentício, essa tendência aponta para perspectivas de desenvolvimento de uma linha de produtos saudáveis. O desafio, no entanto, é manter o sabor dos produtos tão bom quanto ao que já estamos acostumados a criar (ABIAD, 2010).

O mercado de alimentos dietéticos vive um bom momento e planeja um ciclo de expansão com inovações. Em 2010, a estimativa é de que o setor cresça 17%, segundo dados da Associação Brasileira da Indústria de Alimentos para Fins Especiais e Congêneres (ABIAD). Em 2006, o setor movimentou cerca de US\$ 5,2 bilhões, contra US\$ 4,33 bilhões em 2005 (BERGAMO e NEIVA, 2006).

A expansão do mercado de produtos *diet* e o aumento do número de consumidores contribuíram, em boa parte, para a melhoria da qualidade, do sabor e da redução nos preços destes produtos, facilitando a ampliação de seu consumo para classes sociais com menor poder aquisitivo (BERGAMO e NEIVA, 2006).

Segundo Oliveira e Assumpção (2000), frequentemente estes produtos são indevidamente considerados como alimentos de baixa caloria, resultando no uso incorreto dos alimentos *diet*.

O senso comum de que produtos *diet* não engordam e que, portanto, podem ser consumidos em qualquer quantidade, necessita ser desfeito. Alguns produtos *diet* podem não conter açúcar em sua composição, mas apresentam alto teor de gordura (BERGAMO e NEIVA, 2006).

É o caso do chocolate *diet*, recomendado para portadores de diabetes por não conter açúcar, porém contra-indicado para pessoas que buscam o emagrecimento, pois apresenta valor calórico semelhante ao convencional (aproximadamente 565 kcal/100g, para o convencional, e 535kcal/ 100g, para o *diet*) em virtude da presença de grande quantidade de gordura (OLIVEIRA E ASSUMPÇÃO, 2000).

É exigência da Anvisa que todo produto *diet* contenha no rótulo a frase "Consumir preferencialmente sob orientação de nutricionista ou médico". Além disso, é aconselhado um alerta aos diabéticos quando o alimento contiver glicose, frutose ou sacarose, e o aviso "Contém fenilalanina" quando houver adição de aspartame à fórmula (BRASIL, 1998).

O acesso à informação correta sobre o conteúdo dos alimentos configura uma questão de segurança alimentar e nutricional, que consiste em garantir a todos condições de acesso a alimentos básicos seguros e de qualidade, em quantidade suficiente, de modo permanente e sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, com base em práticas alimentares saudáveis, contribuindo assim para uma existência digna em um contexto de desenvolvimento integral da pessoa humana (VALENTE, 2002).

A dieta é um dos fatores mais importantes que afetam o bem estar e a saúde. Evidências científicas correlacionam a ingestão de alimentos e a incidência de doenças, e isso tem despertado o interesse em alimentos que propiciam benefícios fisiológicos (ARIHARA, 2006).

3.5 Análise Sensorial

Análise Sensorial é uma metodologia que visa avaliar a aceitação realizada pela degustação de produtos no mercado, pesquisando os gostos e preferências de consumidores. Pode ser realizada por provadores treinados ou não. Com base nos resultados, é possível medir, avaliar e interpretar a percepção sensorial em relação ao produto analisado (MONTEIRO, 2005).

Os consumidores expressam suas opiniões em cabines individuais, onde recebem o produto a ser analisado, usando metodologia científica referendada internacionalmente, acompanhado de um formulário com perguntas pré-definidas para determinação dos resultados (DUTCOSKY, 1996).

Empregam-se diferentes métodos de avaliação, visando determinar o perfil sensorial, a aceitação e preferências acerca dos produtos. Estes métodos podem ser orientados ao controle de qualidade, ao desenvolvimento de produtos e a estudos de consumidores (DUTCOSKY, 1996).

A determinação da aceitação pelo consumidor é parte crucial no processo de desenvolvimento ou melhoramento de produtos. Os testes afetivos requerem equipe com aproximadamente 50 provadores que representem a população de consumidores atuais e/ou potenciais do produto (MONTEIRO, 2005).

Entre os métodos mais empregados na medida de aceitação de produtos está a escala hedônica de 9 pontos, em que o consumidor expressa sua aceitação pelo produto seguindo uma escala previamente estabelecida que varia gradativamente com base nos termos gostei muitíssimo e desgostei muitíssimo (CHAVES e SPROSSER, 2001).

Assim que eleita a amostra preferida, a mesma pode ser submetida a um teste de consumo, onde os provadores avaliam a amostra em uma escala de cinco pontos a qual varia de certamente compraria a certamente não compraria o produto (DUTCOSKY, 1996).

A Análise Sensorial é uma ferramenta moderna utilizada para o desenvolvimento de novos produtos, reformulação dos produtos já estabelecidos no mercado, estudo de vida de prateleira (*shelf life*), determinação das diferenças e similaridades apresentadas entre produtos

concorrentes, identificação das preferências dos consumidores por um determinado produto e, finalmente, para a otimização e melhoria da qualidade (CHAVES e SPROSSER, 2001).

3.6 Características Físico-químicas de Geleias

Os principais parâmetros físico-químicos da geleia são umidade relativa, atividade de água (a_w), pH, acidez, sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) e açúcares redutores (BRASIL, 2007).

A determinação de umidade em alimentos é normalmente considerada um procedimento analítico simples. No entanto, esta determinação envolve muitas complexidades, e os métodos existentes para a sua avaliação são raramente absolutos (CANO, FELSNER, e BRUNS, 2007).

De um ponto de vista econômico, a determinação rápida e confiável deste parâmetro físico-químico é imprescindível (ISENGARD e SCHULTEIB, 2001).

A quantidade de água presente é um parâmetro de qualidade muito importante em praticamente todos os produtos alimentícios, bem como em seus ingredientes, por ser uma influência decisiva na qualidade e especialmente na vida de prateleira de praticamente todo material de origem alimentícia (ABRAMOVIC *et al.*, 2008).

Valores de umidade abaixo de 20% são considerados adequados para assegurar a ausência de fermentação (WELKE *et al.*, 2008), visto que microrganismos osmofílicos (microrganismos tolerantes ao açúcar) provocam a sua fermentação em amostras com alta umidade.

Para realização da umidade relativa, o método de estufa é o mais utilizado em alimentos e está baseado na remoção da água por aquecimento, onde o ar quente é absorvido por uma camada muito fina do alimento e é então conduzido para o interior do sólido por condução. Como a condutividade térmica dos alimentos é geralmente baixa, costuma levar muito tempo (6 – 18 horas a 100 – 102° C, ou até peso constante) para o calor atingir as porções mais internas do alimento (AOAC, 2002).

A evaporação por um tempo determinado pode resultar numa remoção incompleta da água, se ela estiver fortemente presa por forças de hidratação, ou se o seu movimento for

impedido por baixa difusividade ou formação de crosta na superfície (CANO, FELSNER e BRUNS, 2007).

Por outro lado, na evaporação até peso constante, pode ocorrer uma superestimação da umidade por perda de substâncias voláteis ou por reações de decomposição (CANO, FELSNER e BRUNS, 2007).

A atividade aquosa, atividade da água, AW, ou water activity, define-se como a relação que existe entre a pressão de vapor de um alimento e a pressão do vapor de água pura à mesma temperatura, e pode variar de 0 a 1 (AOAC, 2002).

A atividade de água é um parâmetro inteiramente ligado à umidade do alimento o que permite determinar sua capacidade de conservação, de propagação microbiana, entre outras (ABRAMOVIC *et al.*, 2008).

Ela pode ser reduzida aumentando a concentração de solutos na fase aquosa dos alimentos mediante a extração da água (liofilização) ou mediante a adição de novos solutos. A atividade de água junto a temperatura, o pH e o oxigênio, são os fatores que mais influenciam na estabilidade dos produtos alimentícios (ABRAMOVIC *et al.*, 2008).

Para geleia, esse valor deve ser menor do que 0,95% devido a propagação de bactérias e bolores e leveduras (BRASIL, 2007).

Diversos autores discutem a utilização da atividade de água como o melhor parâmetro para avaliação da possibilidade de desenvolvimento de microrganismos fermentativos em geleias (CHIRIFE, ZAMORA e MOTTO 2006).

Segundo Franco e Landgraf (2005), a atividade de água de geléias encontra-se abaixo de 0,95%. A umidade pode ser utilizada como um parâmetro fortemente associado à atividade de água neste alimento.

A análise de cinzas tem como objetivo determinar o conteúdo de mineral contido na amostra o qual foi determinado pela queima da matéria orgânica, que é transformada em CO₂, H₂O e NO₂ submetida a altas temperaturas em mufla. Geralmente frutos e produtos de origem vegetal tem baixas concentrações de resíduos orgânicos (LANARA, 1981).

O pH é um parâmetro físico-químico associado ao desenvolvimento microbiano em qualquer alimento. No caso específico das geleias, a faixa de pH deve estar entre 3 e 3,2

(BRASIL, 2007). Tais valores de pH impedem o desenvolvimento de microrganismos que necessitam de valores de pH neutros ou básicos, limitando significativamente o espectro de microrganismos potencialmente contaminantes (TERRAB *et al.*, 2004).

Esta propriedade físico-química depende dos seus ácidos ionizados, bem como de seus elementos minerais e influencia na atividade enzimática e textura, entre outras propriedades (ESTUPIÑÁN *et al.*, 1998).

A influência do pH na textura, na estabilidade e na vida de prateleira da geleia é importante, visto que valores alterados de pH indicam fermentação ou adulterações (TERRAB *et al.*, 2004).

A acidez (% em ácido cítrico) deve ser observada pois valores elevados de acidez livre indicam a fermentação dos açúcares por leveduras. Durante tal fermentação, a glicose e a frutose são convertidas em dióxido de carbono e alcoóis, sendo esses últimos hidrolisados na presença de oxigênio e convertidos em ácidos (acético, principalmente), os quais contribuem para a elevação do nível de acidez livre (AJLOUNI e SUJIRAPINYOKUL, 2010).

A acidez livre é um parâmetro importante de qualidade por outros aspectos, uma vez que contribui amplamente para o sabor característico deste alimento (BRASIL, 2007), além de influenciar na estabilidade, reações químicas e nas suas propriedades antibacterianas e antioxidantes (BOGDANOV, 1997).

O conteúdo de proteínas nos alimentos é muito variável, sendo que as principais fontes são alimentos de origem animal e as leguminosas (feijão, soja, favas) (SILVA, 2000).

Há vários métodos de análises, sendo que não existe um método capaz de quantificar absolutamente o conteúdo de proteína em nenhum tipo de amostra. Todos os métodos fornecem o conteúdo estimado de proteína (AOAC, 2002); isto ocorre por vários fatores ligados às características de cada método. Alguns dosam proteínas baseados em características ou reações com aminoácidos específicos. Outros pela presença das ligações peptídicas.

O método oficial da AOAC (2002), (Associaton of Official Analytical Chemists) é o método de Kjeldahl, baseado na quantificação do Nitrogênio protéico total (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

O teor de sólidos solúveis totais (TSST), expresso como percentagem do peso da matéria fresca, apresenta alta correlação positiva com o teor de açúcares e, portanto, geralmente é aceito como uma importante característica de qualidade (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

O TSST é de grande importância tanto para o consumo *in natura* como para o processamento industrial, visto que elevados teores desses constituintes na matéria prima implicam em menor adição de açúcares, menor tempo de evaporação da água, menor gasto de energia e maior rendimento do produto, resultando em maior economia no processamento (VENDRUSCOLO e VENDRUSCOLO, 2005).

Para geleias, a legislação exige um valor de 60° à 65 °Brix, porém para geleias *diet*, aceita-se valores menores pela não adição de açúcar, podendo ser de no mínimo 30 °Brix (BRASIL, 1998; BRASIL, 2007).

A sacarose é o dissacarídeo mais importante, tanto pela quantidade e frequência com que é encontrada na natureza, como pela sua importância na alimentação humana. É facilmente hidrolisada pela enzima invertase produzindo o açúcar invertido, que é constituído de uma molécula de glicose e uma de frutose (BERGAMASCO, 1989).

A dosagem da glicose e frutose durante a reação de hidrólise da sacarose pode ser feita pelo método de DNS Berkeley – modificado por Zanin e Moraes (1987).

Este método baseia-se na redução do ácido 3,5-dinitrosalicílico a ácido 3-amino-5-nitrosalicílico ao mesmo tempo em que o grupo aldeído do açúcar é oxidado a grupo carboxílico, com o desenvolvimento da coloração avermelhada, lida espectrofotometricamente em 540 nm (ZANIN e MORAES, 1987).

Esta análise é extremamente importante para a geleia em questão, para a verificação se o nível de açúcares provindos de reações ocorridas no processo encontra-se abaixo de 0,5% para ser considerado um produto *diet* (BRASIL, 1998).

3.7 Características Microbiológicas

A segurança alimentar é uma questão com importância crescente em saúde pública, e os governos de todo o mundo têm intensificado seus esforços visando melhorias (WHO, 2003).

As bactérias patogênicas encontradas na água e/ou alimentos constituem uma das principais fontes de morbidade em nosso meio, e são responsáveis pelos numerosos casos de enterites, diarreias infantis e doenças epidêmicas (D'AGUILA *et al.*, 2000).

Doenças alimentares são definidas como enfermidades, de natureza tóxica ou infecciosa, causadas por microrganismos que entram no corpo por meio da alimentação, e somente em 2005, se relatou 1,8 milhões de mortes ocasionadas por enfermidades diarreicas, causadas por distintos microrganismos que acometem diversos grupos populacionais com diferentes graus de severidade influenciados por múltiplos fatores (WHO, 2003).

As propriedades antimicrobianas de geleias sugerem que o baixo conteúdo protéico e a alta proporção carbono-nitrogênio não são propícios ao desenvolvimento de microrganismos, nem a sua acidez. Além disso, ela possui uma atividade de água baixa ($<0,95$) quando comparada à atividade de água de outros alimentos (PACHECO, 2006).

As características microbiológicas estão relacionadas à sua qualidade e segurança. Os microrganismos de importância são leveduras, fungos filamentosos e bactérias patogênicas. Estes estão envolvidos em atividades de deterioração, produção de enzimas, toxinas, conversão metabólica e inibição de microrganismos competidores (DA SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2001).

Existem duas distintas fontes de contaminação microbiana para o produto. As fontes primárias são difíceis de controlar e englobam a qualidade das matérias primas a serem utilizadas, e as fontes secundárias (SILVA *et al.*, 2008).

Hosny, El-Ghani e Nadir (2009) apontam que as fontes secundárias são manipuladores, equipamentos, recipientes, animais, água. Os manipuladores causam contaminação devido a infecções cutâneas, espirros, perdigotos e contaminação fecal. A contaminação cruzada pode

ser atribuída a animais domésticos e equipamentos que podem causar contaminação devido à resíduos de alimentos ou água (FINOLA, LASAGNO e MARIOLI, 2007).

A classificação dos coliformes, segundo SILVA JUNIOR (1996), apresenta o grupo de Coliformes totais que incluem as bactérias na forma de bastonetes gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou aeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C.

Apresenta-se cerca de 20 espécies, dentre as quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato intestinal de humanos e outros animais de sangue quente (DA SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2001).

Os Coliformes termotolerantes ou fecais são capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24h a 44,5-45,5°C. Esse grupo inclui três gêneros, *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, sendo a cepas de *Enterobacter* e *Klebsiella* de origem não fecal. Por isso *E. coli* é a cepa mais conhecida, sendo seu habitat o trato gastrintestinal ela é a indicadora de contaminação fecal, em alimentos processados (DA SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2001).

Para confirmação de Coliformes termotolerantes, segundo Vanderzant e Splittstieser (1996), utiliza-se o caldo EC (*Escherichia coli*), por eles serem definidos como coliformes capazes de fermentar a lactose, com produção de gás, no período de 48 horas, a 45,5°C.

O gênero *Escherichia*, juntamente com os gêneros *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, formam o grupo denominado coliforme (DA SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2001).

O habitat das bactérias que pertencem ao grupo coliforme é o trato intestinal do homem e de outros animais (VANDERZANT e SPLITTSTIESSER, 1996), entretanto, espécies do gênero *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* podem persistir por longos períodos e se multiplicarem em ambientes não fecais.

O índice de coliformes totais é utilizado para avaliar as condições higiênicas (DELAZARI, 1998), sendo que altas contagens significam contaminação pós-processamento, limpezas e sanificações deficientes, tratamentos térmicos ineficientes ou multiplicação durante o processamento ou estocagem.

O índice de coliformes termotolerantes empregado como indicador de contaminação fecal, ou seja, de condições higiênico-sanitárias mau realizadas levando-se em conta que a população deste grupo é constituída de uma alta população de *E. coli* (PARDI *et al.*, 1995), pode indicar outros patógenos internos (DELAZARI, 1998).

Em geral, as bactérias do grupo coliformes são prejudiciais para os alimentos, onde sua presença determina inutilidade dos mesmos (DA SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2001).

Em alimentos, a contagem de coliformes totais positiva significa a necessidade de adoção de boas práticas de manipulação, bem como maior controle no processamento e acondicionamento dos alimentos, além do isolamento das áreas de manipulação para melhorar a qualidade higiênica dos produtos analisados (SILVA *et al.*, 2008).

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae e compreendem bacilos Gram-negativos não produtores de esporos (HANES, MILIOTIS e BIER, 2003).

As salmonelas são classificadas como anaeróbios facultativos, produtores de gases a partir da glicose e que são capazes de utilizar o citrato como fonte de carbono (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

As bactérias do gênero *Salmonella* são as principais causadoras de toxinfecções alimentares no mundo (HANES, MILIOTIS e BIER, 2003), inclusive no Brasil (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

Segundo o Ministério da Saúde, durante o período de 1999 a setembro de 2008 foram notificados no Brasil 1275 surtos associado a este microrganismo, representando o percentual de 42,9% do total de surtos relatados (BRASIL, 2003).

Entre os animais, as aves, os suínos, os bovinos e os animais domésticos podem ser portadores de *Salmonella* (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

As principais vias de transmissão envolvem a transmissão de animais para humanos por alimentos ou transmissão entre humanos por via oral-fecal, caracterizando possíveis fontes secundárias de contaminação dos produtos, ou mesmo contaminações cruzadas. Salmoneloses em humanos ocorrem em uma variedade de tipos, apresentando um amplo espectro clínico (HANES, MILIOTIS, e BIER, 2003).

Os alimentos apresentam aparência e cheiro normais, a maioria deles é de origem animal, entretanto, todos os alimentos, inclusive os de origem vegetal podem ser contaminados principalmente pela manipulação dos mesmos por alguém com as mãos contaminadas (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

O quadro clínico caracteriza-se por sintomas que incluem diarreia, febre, dores abdominais e vômitos (FRANCO e LANDGRAF, 2005; HANES, MILIOTIS, e BIER, 2003). Tipicamente, o período de incubação para o desenvolvimento do quadro é de 6 a 72 horas.

O início súbito se caracteriza por dor abdominal, diarreia aquosa e ocasional presença de muco ou sangue nas fezes. Febre de 38-39°C é comum, sendo freqüentes dores abdominais brandas ou severas (FRANCO e LANDGRAF, 2005). Casos sem complicações atingem o estágio agudo dentro de 48 horas, contudo a patologia ainda pode persistir durante 14 dias (HANES, MILIOTIS, e BIER, 2003).

A técnica tradicional de detecção de *Salmonella* é um método clássico, desenvolvido com a finalidade de garantir a detecção mesmo em situações extremamente desfavoráveis. Como no caso de alimentos com uma microbiota competidora muito maior do que a população de *Salmonella*, e/ou alimentos em que as células de *Salmonella* estão em número muito reduzido e/ou alimentos em que as células se encontrem com injúrias pelo processo de preservação (DA SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2001).

Em alimentos com acidez alta e baixa atividade de água, como no caso das geleias, o crescimento de fungos filamentosos é um aspecto fundamental e provoca deterioração pela ação de uma variedade de enzimas (OGA, 2003).

Além disso, muitos fungos filamentosos produzem metabólitos tóxicos quando se multiplicam e estes metabólitos secundários são micotoxinas e quando ingeridos causam alterações biológicas prejudiciais tanto no homem como em animais. Portanto, atualmente se considera a presença destes fungos um perigo à saúde pública (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

A produção de micotoxinas, gerando a contaminação dos alimentos e a sua subsequente ingestão, ocasionam na espécie humana sintomas com distintos graus de severidade que vão desde náuseas e dermatites até carcinomas hepáticos quando há a ingestão a longo prazo (OGA, 2003).

Deste modo, os fungos filamentosos também podem ser importantes microrganismos contaminantes em geleia, principalmente os seguintes gêneros: *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Trichoderma spp.*, *Fusarium spp.* e *Cladosporium spp.* (PACHECO, 2006).

Os bolores e as leveduras deteriorantes fazem parte da microbiota dominante das frutas e dos vegetais. Um grande risco que se refere às altas contagens de bolores e leveduras é a produção das micotoxinas por esses microrganismos, as quais são responsáveis pelas intoxicações alimentares (OGA, 2003).

Caso ocorra a contaminação, é preciso identificar as cepas produtoras de micotoxinas e considerar as características intrínsecas do produto para avaliar as condições de sua produção (NASCIMENTO *et al.*, 2006).

3.8 Reologia dos Alimentos

A reologia é definida como o estudo da deformação e do escoamento de materiais, devido à força nele aplicada, ou seja, está relacionada com a deformação de sólidos e deformação e escoamento de fluidos líquidos e gasosos (SCHRAMM, 2006).

As medidas ou predições das propriedades reológicas de alimentos são muito importantes em cálculos de engenharia de processos, controle de qualidade e determinação das propriedades de ingredientes, entre outros (CASTRO, 2004).

As características reológicas de alimentos sólidos estão ligadas principalmente à textura, enquanto em alimentos líquidos, ao processo. Na avaliação do escoamento de fluidos é importante quantificar e tipificar sua resistência à deformação. Os fluidos podem ser classificados em dois grandes grupos: newtonianos e não newtonianos (STEFFE, 1996).

O comportamento newtoniano indica que a viscosidade do alimento é independente da taxa de deformação a que ele está submetido. Possui um único valor de viscosidade, em uma dada temperatura. Exemplos: gases, água, leite, soluções de sacarose e óleos vegetais (CASTRO, 2004).

Os não newtonianos possuem relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento mais complexa, pois a viscosidade varia com a taxa de deformação e com a necessidade da tensão de cisalhamento inicial (STEFFE, 1996).

Os fluidos reais, líquidos e gases, apresentam uma certa resistência ao escoamento ou deformação, resultante da viscosidade ou viscosidade aparente do material. Para os gases, a viscosidade está relacionada com a transferência de impulso devido à agitação molecular. A viscosidade dos líquidos relaciona-se mais com as forças de coesão entre as moléculas (CASTRO, 2004).

Os fluidos sofrem transformações irreversíveis. A energia mecânica não é recuperável, sendo transformada em escoamento viscoso e energia térmica. As substâncias sólidas podem apresentar um comportamento elástico ideal. Denomina-se elasticidade a toda deformação reversível (STEFFE, 1996).

As substâncias que apresentam um comportamento elástico ideal sofrem deformação instantânea sob ação de uma força, que desaparece quando a tensão é eliminada. Caso a tensão aplicada exceda um certo limite, ocorre uma deformação plástica. O trabalho empregado na deformação de um sólido elástico ideal é totalmente recuperado quando o sólido volta à sua forma original (SCHRAMM, 2006).

O conhecimento do comportamento reológico dos alimentos é útil para o controle de qualidade do produto, e também para o dimensionamento de sistemas de tubulação, trocadores de calor, filtros, bombas, entre outros (VASQUES, 2003).

O comportamento dos fluidos é descrito pelos modelos reológicos, que relacionam tensão de cisalhamento com a taxa de deformação (CASTRO, 2004).

O modelo reológico mais simples é o newtoniano, que apresenta uma relação linear entre tensão de cisalhamento e taxa de deformação. No entanto, a maioria dos alimentos fluidos não apresenta esse tipo de comportamento e requer modelos mais complexos para sua caracterização (TABILO-MUNIZAGA e BARBOSA-CÁNOVAS, 2005).

A escolha do modelo a ser utilizado é uma função das características do fluido. Os modelos mais comumente utilizados são: Ostwald de Waele, Plástico de Bingham, Hershel-Bulkley e Casson (STEFFE, 1996).

A função de viscosidade de Ostawld de Waele – Lei da Potência é uma das utilizadas para adequar os dados de viscosidade dos materiais viscoplásticos (GUEDES, RAMOS e

DINIZ, 2010) e por isso optou-se por esse modelo para descrever os escoamentos simulados nessa dissertação.

Este modelo tem grande aplicação em cálculos de projeto na área de alimentos, e também é muito utilizado para polpas de frutas. Algumas vantagens da utilização do modelo Lei da Potência se dão pelo fato dele ser um modelo simples e também quando comparado aos demais modelos que estimam valores de tensão inicial ao escoamento (τ_0), e esses valores encontrados são pequenos ($\tau_0 < 2,218$ Pa) mesmo na maior concentração, os mesmos podem ser desprezados como pode-se observar na equação 1 (GUEDES, RAMOS e DINIZ, 2010).

$$\tau = K(\dot{\gamma})^n \dots\dots\dots$$

em que: τ é tensão de cisalhamento (Pa); $\dot{\gamma}$ é a taxa de deformação (s^{-1}); K é o índice de consistência ($Pa.s^n$); n: índice de comportamento (adimensional).

Para fluidos não newtonianos, é necessário definir o termo viscosidade aparente (η_a), visto que a razão entre a tensão de cisalhamento (τ) e a taxa de deformação ($\dot{\gamma}$) não é uma constante (equação 2) (GUEDES, RAMOS e DINIZ, 2010).

$$\eta_a = \eta(\dot{\gamma}) = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \dots\dots\dots(2)$$

Para o modelo da Lei da Potência, a viscosidade aparente pode ser definida como (equação 3) (GUEDES, RAMOS e DINIZ, 2010):

$$\eta_a = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} = \frac{K(\dot{\gamma})^n}{\dot{\gamma}} = K\dot{\gamma}^{(n-1)} \dots\dots\dots(3)$$

A viscosidade aparente pode ser calculada utilizando a equação 3 e com base em uma taxa de deformação de $100 s^{-1}$, já que esta é normalmente a taxa de deformação que os fluidos são submetidos em operações de transporte, principalmente bombeamento.

O efeito da temperatura sobre a viscosidade aparente é descrito mediante uma equação análoga à de Arrhenius (equação 4) (GUEDES, RAMOS e DINIZ, 2010):

$$\eta_a = \eta_0 \exp\left(\frac{E_a}{RT}\right) \dots\dots\dots(4)$$

em que: η_a é viscosidade aparente (Pa.s); η_0 é uma constante (Pa.s); E_a é a energia de ativação para escoamento viscoso (kJ.gmol^{-1}); R é a constante dos gases ($8,314 \text{ J.gmol}^{-1}.\text{K}^{-1}$) e T é temperatura absoluta (K) (GUEDES, RAMOS e DINIZ, 2010).

É importante que os dados sejam ajustados de acordo com o modelo lei da potência, à uma análise estatística para obtenção de parâmetros estatísticos do coeficiente de determinação.

3.9 Antioxidantes

Entre os antioxidantes presentes nos vegetais, os mais ativos e freqüentemente encontrados são os compostos fenólicos, tais como os flavonóides. As propriedades benéficas desses compostos podem ser atribuídas à sua capacidade de seqüestrar os radicais livres (BIANCHI e ANTUNES, 1999).

Os compostos fenólicos mais estudados são: o ácido caféico, o ácido gálico e o ácido elágico. Esses compostos de considerável importância na dieta podem inibir o processo de peroxidação lipídica. O ácido elágico, encontrado principalmente na uva, morango e nozes, tem sido efetivo na prevenção do desenvolvimento do câncer induzido pelas substâncias do cigarro (BIANCHI e ANTUNES, 1999).

Os compostos fenólicos como os capsaicinóides, componente ativo do gênero *Capsicum*, estimulam enzimas pancreáticas e intestinais em animais não ruminantes, reduzindo a viscosidade intestinal e melhorando a passagem dos nutrientes por meio do intestino para os principais locais de absorção (MILTENBURG e BRUGALLI, 2004).

Podem ainda atuar como cicatrizantes de feridas, antioxidante, agindo na dissolução de coágulos sanguíneos, prevenindo a arteriosclerose, controlando o colesterol, evitando hemorragias e aumentando a resistência física (KASBIA, 2005; ADAMS, 2007).

As pimentas vermelhas, muito consumidas como tempero, têm sido bastante investigadas, e estudos mostram que as pimentas do gênero *Capsicum* possuem propriedades antioxidantes devido à presença de capsaicina (LINGUANOTTO NETO, 2004).

Carotenóides são uma classe de pigmentos naturais responsáveis por diversas cores em frutas e vegetais e podem ser encontrados em abundância em pimentas. Os carotenóides presentes em pimentas são predominantemente pró-vitamina A, xantofilas e carotenóides oxigenados. Estes compostos lipossolúveis mostram potencial ação contra certos cânceres, previnem úlceras gástricas, estimulam o sistema imune, previnem doenças cardiovasculares e protegem contra degenerações relacionadas à idade e cataratas (CHUAH *et al.*, 2008).

Os polifenóis são encontrados em muitos alimentos a diferentes concentrações. Evidências epidemiológicas indicam uma relação inversa entre a ingestão de alimentos ricos em compostos fenólicos (exemplo flavonóides) e a redução de certas doenças crônicas e coronárias. Polifenóis também apresentam atividade biológica, tal como os antioxidantes (DÁVALOS, BARTOLOMÉ e GÓMEZ-CODROVÉS, 2005).

A pimenta é um dos vegetais que contém altos níveis de antioxidantes. Elas rapidamente ganharam popularidade, não somente por seus atrativos de cor, características de sabor e aroma, mas também por suas propriedades de promover saúde (CHUAH *et al.*, 2008).

A utilização de substâncias com capacidade antioxidante pode ser de grande relevância na prevenção e terapêutica de doenças relacionadas com o aumento do estresse oxidativo, uma vez que evidências têm sugerido o envolvimento do estresse oxidativo na fisiopatologia de várias doenças crônicas, tais como aterosclerose, câncer e doenças degenerativas (TEPE e SOKMEN, 2007).

A capsaicina é uma substância inibidora da peroxidação lipídica por radicais livres. Alimentos funcionais são definidos como qualquer substância ou componente de um alimento que proporciona benefícios para a saúde, inclusive a prevenção e o tratamento de doenças. Sabe-se que as pimentas, juntamente com os pimentões, têm altos valores vitamínicos. São fontes de antioxidantes naturais: a vitamina C, os carotenóides (que têm atividade pró-vitamina A), a vitamina E e as vitaminas do complexo B, bem como os compostos fenólicos (LINGUANOTTO NETO, 2004).

A quantificação espectrométrica de compostos fenólicos é realizada por meio de uma variedade de técnicas, todavia, a que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu está entre as mais utilizadas (ROGINSKY e LISSI, 2005).

O reagente consiste de mistura dos ácidos fosfomolibdídico e fosfotungústico, no qual o molibdênio e o tungstênio encontram-se no estado de oxidação 6^+ porém, em presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam-se os chamados molibdênio azul e tungstênio azul, nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 e 6 e cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras, que não necessariamente precisam ter natureza fenólica (NACZK e SHAHIDI, 2004).

Vários métodos são utilizados para determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas (PRADO, 2009).

Um dos mais usados consiste em avaliar a atividade seqüestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila - DPPH, de coloração púrpura que absorve a 515 nm^{10} . Por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar (R), o DPPH é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância (SÁNCHEZ-MORENO, LARRAURI e SAURA-CALIXTO, 1998).

A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou seqüestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional (PRADO, 2009).

A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (EC_{50}), também chamada de concentração inibitória (CI_{50}). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua EC_{50} e maior a sua atividade antioxidante (SOUSA *et al.*, 2007).

CAPÍTULO 4

4 METODOLOGIA

4.1 Processamento da Geleia

Na elaboração foram empregadas do produto resíduos e sobras de pimenta dedo-de-moça (*Capsicum baccatum* var. *pendulum*) provindas da Agroindústria Sabor da Vila de Atalaia - Paraná. Também foram utilizados mix de edulcorantes Lowçucar (edulcorantes artificiais ciclamato de sódio, sacarina sódica, sucralose e acessulfame-K e natural steviosídeo) cedido pela empresa Lowçucar de Marialva – Paraná, água mineral natural, pectina de baixo teor metoxílico (BTM) da marca CPKelco , ácido cítrico e sorbato de potássio e especiarias (cravo e canela).

O mix de adoçante utilizado na industrialização da geleia, cedido pela Lowçucar, foi desenvolvido para que se pudesse utilizar até 20% no produto final sem exceder os limites de edulcorantes exigidos pela legislação.

O desenvolvimento do produto foi realizado no laboratório de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá (UEM), sendo testadas diferentes formulações de geleia *diet* de resíduos/sobras de pimenta dedo-de-moça, com diferentes quantidades de ingredientes, para verificar quais seriam as quantidades ideais para se ter uma geleia com características físico-químicas e sensoriais correspondentes as normas da legislação para geleias e com boa aceitação por parte dos consumidores.

Após testes com diferentes formulações avaliadas previamente pelos manipuladores obteve-se duas formulações finais, sendo designadas formulação A tida como padrão e B com acréscimo de especiarias.

Para otimização das formulações finais (A e B) que foram destinadas à análise sensorial realizou-se algumas análises físico-químicas para a verificação dos padrões de °Brix e acidez das geleias, e também realizou-se uma prévia avaliação sensorial dos manipuladores.

As sobras e resíduos de pimenta dedo-de-moça foram inicialmente lavadas, sanitizadas com solução de água/hipoclorito de sódio (100:1) e tiveram suas sementes retiradas e descartadas.

Posteriormente, foram batidas no liquidificador com parte da água por aproximadamente 1 minuto.

Numa panela, sobre fogo baixo, foi colocada parte do mix de adoçante juntamente com o restante de água e a solução de pimenta sob agitação constante.

Após 20 minutos de cocção, foram adicionados sorbato de potássio e especiarias.

Quase no final do processo (cerca de 40 minutos), quando °Brix encontrava-se num valor entre 25° e 28°, foi adicionada a pectina, previamente preparada com o adoçante na proporção de 1:5 e dissolvida em água a aproximadamente 65°C.

O ácido cítrico também foi adicionado ao fim do processo, diluído em água, quando °Brix da geleia encontrava-se num valor entre 30° e 31°.

Desligou-se o fogo quando a geleia obteve 32 °Brix, embalou-se a geleia ainda quente em vidros estéreis e esterilizou-se a geleia em banho-maria sobre água fervente por 20 minutos.

Após a esterilização, os vidros foram resfriados à temperatura ambiente e armazenados. Todas as etapas seguem conforme o fluxograma apresentado na Figura 4:

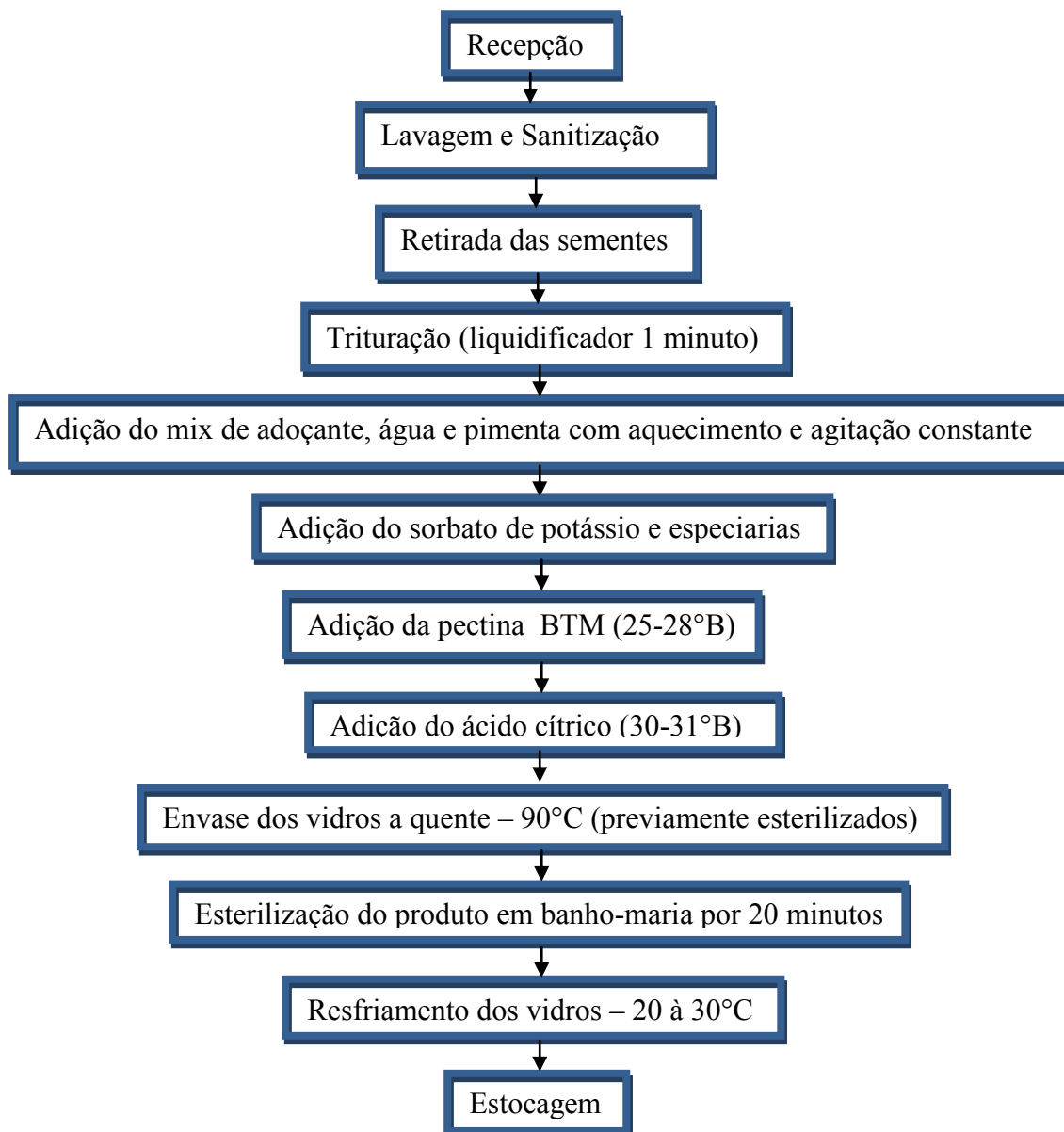


Figura 4: Fluxograma do Processamento da Geleia *Diet* de Pimenta Dedo-de-Moça

4.2 Caracterização Sensorial

Para a realização dos testes sensoriais da geleia de pimenta *diet* este projeto de pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Maringá, conforme solicitado na Resolução nº 196/96 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2003). Para isso foram cadastrados todos os pesquisadores envolvidos no Sistema Nacional de Informações Sobre Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (SISNEP). Esta pesquisa foi aprovada pelo COPEP, aprovação - CAAE 0453-10, sendo que a aprovação se encontra no Anexo 2.

As avaliações sensoriais foram realizadas com a participação de 50 provadores não treinados, alunos de cursos superiores e funcionários do campus da UEM. Parcialmente no laboratório de análise sensorial da engenharia de alimentos no bloco 13 e parcialmente na sala de aula 004 do bloco E46.

4.2.1 Teste de Aceitação

O teste de aceitação foi realizado utilizando uma escala hedônica de 9 pontos, que varia de gostei muitíssimo (nota 9) a desgostei muitíssimo (nota 1) (ITAL 1991), comparando aleatoriamente duas amostras variando nas mesmas apenas a adição de especiarias. Esta escala se refere à avaliação dos atributos: textura, aparência, sabor, aroma e global.

Cerca de 3g de cada amostra de geleia sobre pequeno pedaço de biscoito água e sal foram entregues aos provadores em bandejas, codificadas com números de três dígitos, acompanhadas de um copo com água para lavar a boca entre uma amostra e outra, um guardanapo descartável e a ficha de avaliação.

O modelo das fichas de avaliação utilizadas nas análises se encontram no Anexo 3.

Para calcular a porcentagem do índice de aceitação da geleia, utilizou-se a equação 5, sendo esta realizada por meio da média calculada a partir das notas atribuídas (DUTCOSKY, 1996).

$$IA\% = \frac{\text{média notas} \times 100}{K+} \dots\dots\dots(5)$$

Onde:

IA% = Porcentagem do índice de Aceitação

K+ = Maior nota recebida

Com base no valor obtido pela equação 5, avaliou-se a porcentagem do índice de aceitabilidade da geleia utilizando-se Tabela 1 (DUTCOSKY, 1996).

Tabela 1 - Percentual do índice de aceitabilidade

(%)	ACEITAÇÃO
100 - 80	Ótimo
80 - 60	Bom
60 - 40	Regular
0	Ruim

A avaliação dos atributos referentes à análise das características solicitadas e de preferência de consumo das amostras foram realizadas pela análise de variância (limite crítico de 5% de significância com análise comparativa das médias pelo teste de Tukey (quando evidenciou-se diferença significativa para constatação de qual ou quais amostras tiveram maior ou menor aceitação (MONTEIRO, 2005).

4.2.2 Teste de Consumo

O teste de consumo foi realizado utilizando apenas a geleia tida como favorita por uma escala de 5 pontos que variou de certamente compraria (nota 5) a certamente não compraria (nota 1) (DUTCOSKY, 1996). Este teste foi realizado para avaliação da intenção de consumo dos provadores em relação ao novo produto elaborado.

4.3 Caracterização Físico-química da Geleia

As análises físico-químicas foram realizadas nos laboratórios de engenharia química da Universidade Estadual de Maringá. Os parâmetros físico-químicos foram compostos de ensaios realizados em triplicata e baseados nas metodologias oficiais da AOAC (2002) e Instituto Adolfo Lutz (1985).

4.3.1 Proteínas

A análise de proteínas do produto teve como objetivo comparar a quantidade de proteínas da geleia de pimenta *diet* formulada.

O teor de proteína foi determinado utilizando-se o método de Kjeldahl segundo a metodologia do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1985). A metodologia completa encontra-se no Anexo 4.

4.3.2 Teor de Sólidos Solúveis (°Brix)

O teor de sólidos solúveis totais foi determinado pelo uso de refratômetro de ABÉE, que expressa os resultados em °Brix pela mensuração do índice refractométrico da geleia (AOAC, 2002). Foi utilizado o refratômetro marca INSTRUTHERM modelo RT – 90 ATC para tais determinações.

4.3.3 pH

O pH da geleia foi analisado por potenciometria em um pHmetro digital de bancada microprocessado da marca Tecnal modelo TEC-5, previamente limpo o qual foi calibrado com as soluções tampão pH 4,0 e 7,0 a cada leitura (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

4.3.4 Acidez Titulável (% em ácido cítrico)

A acidez total titulável da geleia foi realizada por titulação com NaOH 0,1N. Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido cítrico na amostra (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

4.3.5 Cinzas

A determinação do resíduo mineral fixo (cinzas) foi realizado de acordo com a metodologia de Adolfo Lutz, (1985). Realizou-se a carbonização do material em mufla à 550°C por quatro horas.

4.3.6 Umidade Relativa

A umidade relativa foi realizada pelo método de estufa à 105°C por 4 horas (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

4.3.7 Atividade de Água (AW)

Para a determinação da atividade de água utilizou-se o equipamento AW Sprint/NOVASINA e o software NOVASINA NOVALOG32. As amostras estavam à temperatura de 25°C, seguindo metodologia descrita em seu manual.

4.3.8 Açúcares Redutores

Para a avaliação da quantidade de açúcares redutores (% de glicose e frutose) foi utilizado o método de DNS – Berkley, modificado por Zanin e Moraes (1987). A

metodologia completa encontra-se no Anexo 5. Esta análise foi realizada mês à mês durante três meses para verificação da estabilidade dos valores de açúcares redutores.

4.4 Caracterização Microbiológica

Todas as análises foram realizadas de acordo com as metodologias sugeridas por Franco e Landgraf (2005). As análises microbiológicas foram realizadas no período de três meses para realização do teste de prateleira, o qual avalia a qualidade microbiológica do produto neste período. Inicialmente diluiu-se 25g da amostra de geleia em 250mL de água salina peptonada (HIMEDIA) em copo homogeneizador estéril por cinco minutos para se obter uma solução.

4.4.1 Coliformes Totais (35°C) e Termotolerantes (45°C)

Para análise de coliformes termotolerantes e coliformes totais, microrganismos anaeróbios facultativos fermentadores de lactose com produção de ácido e gás dentro de 24 a 48 horas de incubação à temperatura de 32° a 37°C, usou-se a metodologia de tubos seriados.

Partindo das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} foram pipetadas alíquotas de 1 mL das respectivas diluições para uma série de três tubos contendo 9 mL do Caldo Lauril Triptose, suplementado com 50 mg/L de 4-metil-umbelifenil- β -D-glucuronídeo (LST-MUG) (HIMEDIA) contendo tubo de Durham invertido, homogeneizando e incubando os tubos a 35°C/48 horas. Transcorrido este tempo foi observada a produção de gás nos tubos de fermentação (tubo de Durham).

Para contagem de coliformes totais, tomaram-se todos os tubos de LST-MUG com produção de gás e foi transferida uma alçada de cada cultura para tubos de Caldo Verde Brilhante 2% (VB) (HIMEDIA).

Incubou-se a 35°C por 24 a 48 horas e observou-se o crescimento com produção de gás. Foi anotado o número de tubos de VB com gás confirmativo da presença de coliformes totais, o resultado foi expresso em NMP/de coliformes totais/g.

Para contagem de coliformes termotolerantes, tomaram-se todos os tubos de Caldo Verde Brilhante (HIMEDIA) com produção de gás e foi transferida uma alçada de cada cultura para tubos de Caldo EC medium (HIMEDIA).

Incubou-se a 45°C por 24 a 48 horas e observou-se o crescimento com produção de gás. Foi anotado o número de tubos de EC com gás confirmativo da presença de coliformes termotolerantes e determinado o NMP/g (número mais provável por g) apropriada às diluições inoculadas, o resultado foi expresso em NMP de coliformes termotolerantes/g.

4.4.2 *Salmonella*

Na pesquisa de *Salmonella spp.* a amostra contida na água salina peptonada (HIMEDIA) foi incubada a 35°C por 24 horas. Estas amostras foram transferidas para dois diferentes caldos de enriquecimento seletivo, Rappaport-Vassiliadis (HIMEDIA) e Tetrionato-Novobiocina (HIMEDIA), incubados a 35° e 42°C por 24 horas.

Cada amostra foi semeada na forma de estrias com alça de inoculação estéril em placas de Petri com Ágar XLD (Xylose lysine deoxycholate) (HIMEDIA) e em Ágar Hektoen (HIMEDIA) que foram incubados por 24 horas a 35°C.

As colônias típicas obtidas nas placas foram confirmadas por provas bioquímicas e sorológicas. Inicialmente as colônias foram submetidas aos testes de descarboxilação da lisina, fermentação da lactose e/ou sacarose e produção de H₂S, no Ágar Lisina Ferro (HIMEDIA) e Ágar Tríplice Açúcar Ferro (HIMEDIA).

4.4.3 *Bolores e Leveduras*

Para a análise de bolores e leveduras, que são microrganismos que crescem em temperatura de incubação entre 20° e 25°C, foram pipetadas alíquotas de 1 mL de cada uma das três diluições para placas de Petri (100x20 mm) esterilizadas, fazendo de cada diluição placas em triplicata. Foram adicionados a cada placa 15 a 20 mL de Agar DG-18 (Dichloran Glycerol - ACUMEDIA), previamente fundidos e resfriados à temperatura de 44 a 46°C.

Foi homogeneizado com movimentos suaves em forma de oito (cerca de 10 vezes) e deixado a temperatura ambiente até a completa solidificação do ágar e incubado a 25°C por 144 horas.

4.5 Análises Reológicas

As análises reológicas da geleia foram realizadas em um reômetro Brookfield (DV-III +), equipado com cilindro coaxial e spindle SC4-25. Um banho termostático Tecnal TE-184 foi utilizado para ajustar e controlar a temperatura da amostra na faixa de 10-60°C, as medições foram realizadas em volumes de aproximadamente 10 mL de geleia.

Cada ensaio experimental para a curva de fluxo teve uma duração de dois minutos. Quando a amostra atingia a temperatura desejada realizavam-se as leituras de tensão cisalhamento e taxa de deformação, que eram efetuadas após um tempo de 30 segundos de deformação, para evitar erros induzidos por possíveis efeitos de tempo, com taxa de corte variando de 0 a 50 s⁻¹.

O equipamento forneceu diretamente os dados de tensão de cisalhamento e taxa de deformação.

Os testes foram realizados em duplicata utilizando-se para cada repetição, uma nova amostra.

Os dados experimentais foram ajustados de acordo com o modelo reológico de lei de potência utilizando o software Origin 7.0 para obter a (K – índice de consistência do fluido e N – índice de fluxo de comportamento) reológicas e parâmetros estatísticos (R² - coeficiente de determinação).

As leituras de velocidade de rotação e torque foram transformadas em valores de taxa de deformação e tensão de cisalhamento mediante o uso da metodologia proposta por Mitschka (1982).

Os dados de taxa de deformação e tensão de cisalhamento foram ajustados pelo modelo da Lei de Potência (equação 1). Valores de viscosidade aparente foram ajustados por uma equação do tipo Arrhenius (equação 4).

4.6 Determinação de Compostos Fenólicos

As análises de compostos fenólicos foram realizadas no fruto *in natura* e na geleia. Todos os reagentes utilizados nas análises foram de grau analítico.

4.6.1 Determinação de Compostos Fenólicos por Folin Ciocalteau

Para a determinação de compostos fenólicos utilizou-se a metodologia de Singleton e Rossi (1965) (DAVES, 2003). Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

Fez-se um delineamento experimental completo utilizando 12 ensaios com três pontos centrais, os quais foram utilizados para avaliar a influência do volume de etanol (álcool etílico 20%, 40% e 60%) e a relação soluto/solvente para a extração de compostos fenólicos da pimenta *in natura* e geleia.

Os compostos fenólicos dos extratos foram estimados por colorimetria, utilizando o método de Folin-Ciocalteu e ácido gálico como padrão.

Cem microlitros das amostras diluídas adequadamente ou em branco foram pipetados e separados em balões volumétricos de 10 mL juntamente com 5 mL de água destilada, foi adicionado à mistura 500 µL do reagente Folin-Ciocalteu.

Após um período de três minutos adicionou-se 1,5 mL de carbonato de sódio a 15%, preencheu-se o balão volumétrico com água filtrada por osmose reversa até completar os 10 mL e deixou-os no escuro, à temperatura ambiente por duas horas. A absorvância foi medida em 765 nm usando um espectrofotômetro de feixe duplo-80 UV / Vis T (PG Instruments Limited, Beijing, China).

Os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico (GAE), utilizando uma curva de calibração no intervalo de 5-250 ppm (VASCO, RUALES e KAMAL-ELDIN, 2008).

4.6.2 Método do Radical Livre DPPH

O método DPPH consiste na redução do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), de coloração púrpura, que, ao receber um elétron ou um radical hidrogênio, muda sua coloração de violeta para amarelo (difenil-picril-hidrazina), ficando estável e com o desaparecimento da absorção que pode ser avaliada pelo decréscimo da absorvância (ROGINSKY e LISSI, 2005).

A eficácia anti radical foi avaliada com o método DPPH, como descrito por Mensor *et al.* (2001). Com base em valores de compostos fenólicos totais, realizou-se seis diferentes concentrações para o extrato de pimenta (5, 10, 25, 50, 125 e 250 ppm, em

etanol) e seis diferentes concentrações para o extrato da geleia (75, 37, 18, 9, 4, 2 ppm, em etanol) para realizar o DPPH.

Um mL de DPPH 0,3 mmol/L diluído em etanol foi adicionado a 2,5 mL das soluções das amostras de diferentes concentrações, e deixou-se reagir à temperatura ambiente por 30 minutos. Após, a absorbância foi medida a 518 nm e convertida em porcentagem da atividade antioxidante (% AA) utilizando a equação 6:

$$AA\% = 100 - \left[\frac{(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100}{Abs_{controle}} \right] \dots \dots \dots (6)$$

sendo: $Abs_{amostra}$ é a absorbância da amostra, Abs_{branco} é a absorbância do controle em branco e $Abs_{controle}$ é a absorbância do controle negativo.

Um mL de etanol mais 2,5 mL da solução de extrato de pimenta e geleia foi utilizado como branco.

Um mL da solução DPPH à 0,3 mmol/L mais 2,5 mL etanol foi utilizado como controle negativo.

Os controles positivos foram Trolox, BHT e galato de propila que foram utilizados como padrões na concentração de 100 ppm.

Os valores de EC_{50} (concentração efetiva em 50%), metade da atividade antioxidante, foram calculados a por regressão logarítmica (equações 7 e 8), à partir dos dados do gráfico da figura 15, onde a abscissa representa a concentração de etanol em ppm nas amostras e a ordenada o percentual médio da atividade antioxidante (SIM e SIL, 2008).

$$EC_{50} = EXP((50+35,909)/21,557) \dots \dots \dots (7)$$

$$EC_{50} = EXP((50+4,9634)/9,5547) \dots \dots \dots (8)$$

CAPÍTULO 5

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Processamento da Geleia

Depois de testes com diferentes formulações para o desenvolvimento da geleia de pimenta dedo de moça *diet* constatou-se uma semelhança bem próxima entre duas formulações finais, as quais foram utilizadas posteriormente para a análise sensorial e de aceitação, na Figura 5 pode-se observar as formulações finais A e B da geleia. As fórmulas foram apresentadas em gramas/Kg e % de seus ingredientes na Tabela 2:

Tabela 2- Formulações finais encontradas para a elaboração da geleia de pimenta dedo-de-moça *diet*

INGREDIENTES	FORMULAÇÃO A		FORMULAÇÃO B	
	Gramas	%	Gramas	%
Mix de Adoçante	160,0	16	160,0	16
Sorbitol	72,00	7,2	72,00	7,2
Água	558,9	55,89	557,8	55,78
Pimenta	190,0	19,0	190,0	19
Ác. Citrico	5,500	0,55	5,500	0,55
Sorbato de Potássio	0,100	0,01	0,100	0,01
Pectina	13,50	1,35	13,50	1,35
Cravo e canela	-	-	1,100	0,11

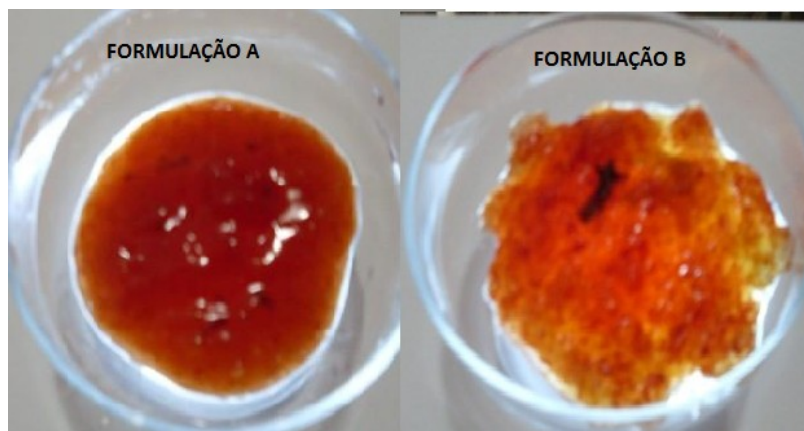


Figura 5: Formulações finais A e B de geleia de pimenta dedo-de-moça *diet*

5.2 Caracterização Sensorial

5.2.1 Teste de Aceitação

Depois de testes com diferentes formulações para o desenvolvimento da geleia de pimenta dedo de moça zero açúcar constatou-se pelos manipuladores algumas semelhanças na aparência, textura e sabor entre a padrão (formulação A) e a com especiarias (formulação B), as quais foram submetidas à análise sensorial.

Os valores médios obtidos pela análise sensorial podem ser constatados na Tabela 3:

Tabela 3 - Notas médias atribuídas pelos provadores para as diferentes formulações de geleia aos atributos requisitados no teste de aceitação

ATRIBUTOS	Amostra A	Amostra B
Aparência	6,51	6,96
Aroma	6,12	6,99
Sabor	6,13	7,01
Textura	6,68	6,96
Global	6,34	7,03

Analisando-se a Tabela 3, pode-se observar que a amostra B, com cravo e canela, foi a que recebeu as maiores notas em relação a maioria dos atributos (aroma, sabor e global). Realizando-se o teste de variância constatou-se que não houve diferença significativa entre as amostras (ao limite crítico de 5% de significância).

Porém levou-se em consideração vários comentários deixados nas fichas de análise referindo-se à amostra B como preferida.

Foi possível observar, por meio da análise de preferência, uma grande aceitabilidade dos possíveis consumidores para as amostra com adição de especiarias (formulação B).

Constatou-se que 2% dos provadores atribuíram nota 3 (desgostei moderadamente) 4% atribuíram nota 4 (desgostei ligeiramente), 9% atribuíram a nota 7 (gostei moderadamente), 46% atribuíram a nota 8 (gostei muito) ao produto e 39% atribuíram nota 9 (gostei muitíssimo).

De acordo com Dutcosky (1996), por meio da média calculada a partir das notas atribuídas pelos provadores adicionada a equação (5) da porcentagem do índice de

aceitação, obteve-se 81% de aceitabilidade para a geleia de formulação B. Neste caso pode-se afirmar que a aceitação foi ótima como representa a Tabela 1.

Devido a geleia de formulação B ter obtido maior aceitação, as demais caracterizações foram realizadas utilizando-se a amostra com adição de especiarias cravo e canela.

5.2.2 Teste de Consumo

Conforme os dados obtidos pela análise de consumo da geleia B, pode-se afirmar que 32% dos provadores certamente compraria e 41% possivelmente a comprariam em supermercados, o que evidencia que esse novo produto obteve uma boa aceitação em relação ao consumo. Os valores obtidos na análise de consumo podem ser observados na Figura 6.

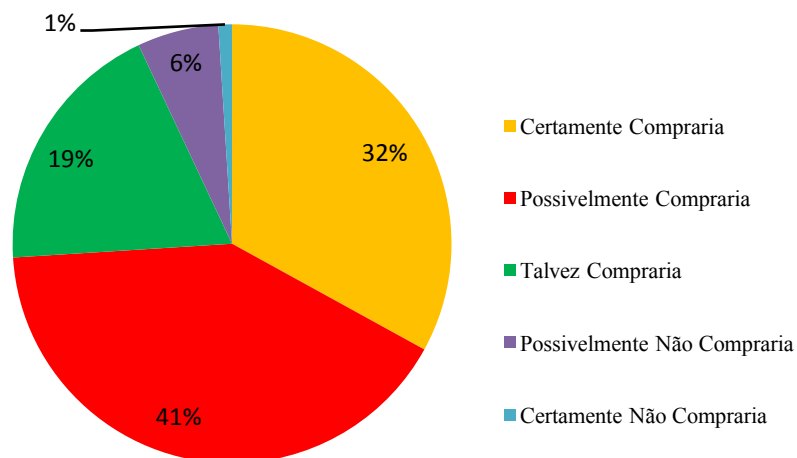


Figura 6- Gráfico que indica a provável atitude de consumo dos provadores em relação à amostra (B) que mais gostaram.

5.3 Caracterização Físico-química da Geleia

A Tabela 4 expõe os valores das determinações físico-químicas da geleia de pimenta *diet* comparada à limites exigidos pela legislação em alguns parâmetros (BRASIL, 2007).

Tabela 4 – Resultados da caracterização físico química da geleia de pimenta *diet*

ANÁLISES	GELEIA DE PIMENTA <i>DIET</i>	PADRÕES ESTABELECIDOS (ANVISA 2007)
Sólidos Solúveis (°Brix)	32,75	60 à 65
pH	3,19	< 3,4
Atividade de água (aw)	0,922	< 0,95
Açúcares Redutores (%)	0,43	Máx. 5% Glicose

Observando-se a Tabela 4 nota-se que a geleia se encontra dentro dos padrões que a legislação brasileira exige para geleias, porém, o valor do da quantidade de sólidos solúveis (°Brix) encontra-se abaixo do valor estabelecido, pelo fato de que o valor do °Brix exigido pela legislação se dá somente para geleias com adição de sacarose.

5.3.1 Proteínas

De acordo com o método de Kjeldahl, o conteúdo de proteína presente na amostra de geleia analisada foi 0% a cada 10g de geleia, resultado menor do que as proteínas encontradas na pimenta *in natura*, onde as proteínas representam 0,001% em 10g (BONTEMPO, 2007).

O valor obtido aceitável quando considerado a baixa proporção de proteínas presentes na própria pimenta.

5.3.2 Teor de Sólidos Solúveis (°Brix)

O único valor mencionado na legislação brasileira diz respeito à concentração de sólidos solúveis presentes nas geleias, que não deve ser inferior a 65°Brix (BRASIL, 2007). Ainda assim, a legislação específica de geleias não traz valores de referência para geleias sem açúcar.

Para fins de avaliação, a análise da concentração de açúcar nas geleias comerciais *light* ou *diet* seguiu a portaria n° 27, de 13 de janeiro de 1998, que normatiza a produção e comercialização de produtos *light*. Esta lei regulamenta que haja redução de 25% no valor

de açúcares encontrados nesses produtos e redução de 100% para as geleias *diet* (BRASIL, 1998).

Isso explica o baixo valor de sólidos solúveis encontrado na geleia de pimenta *diet*, que foi de 32,75 °Brix, esse valor deve-se também ao fato de que a pimenta é um fruto com baixo teor de sólidos solúveis totais, 6 °Brix (ANTONIALI, 2007). Um valor próximo foi encontrado por Alves¹ (2006), em geleia comercial de uva sem adição de açúcar, a qual obteve 30°Brix.

5.3.3 pH

Na determinação do pH, o resultado encontrado foi de 3,19, valor que favorece a perfeita geleificação, pois o pH deve estar situado entre 3,1 a 3,4, sendo 3,2 considerado o valor ótimo (EMBRAPA, 2003). Este resultado contribuiu para a obtenção de uma geleia com pH ótimo obtendo um geleia com estrutura rígida. Mota (2006), encontrou valores parecidos para geleias de amora preta, os quais variaram de 3,2 a 3,4.

5.3.4 Acidez Titulável (% em ácido cítrico)

O valor da acidez em porcentagem de ácido cítrico na geleia de pimenta foi de 1,4%. Valores próximos foram encontrados por Mota (2006), em geleias de amora preta os quais variaram de 1,22 à 1,79%.

Esse valor tende a diminuir um pouco com o decorrer do tempo devido a degradação do ácido cítrico contido na formulação (SILVA, 2000).

A legislação não especifica valores máximos e mínimos para a acidez de geleias, isso deve-se ao fato de não ter limites na adição de ácido cítrico nas mesmas (BRASIL, 2007).

5.3.5 Cinzas

Com relação aos valores obtidos na análise de cinzas ou resíduo mineral fixo (RMF), a geleia de pimenta dedo-de-moça *diet* obteve 0,29% de cinzas, valor que indica que a geleia tem baixo teor de minerais em sua composição.

Frigueri e Prado (2008) obtiveram valores aproximados em geleias de frutos, os quais variam de 0,21% na geleia de maracujá com acerola e 0,41% na de goiaba com acerola. As geleias de laranja e morango com acerola obtiveram valores muito próximo ao da geleia de pimenta, que foram de 0,28%.

5.3.6 Umidade Relativa (%)

O resultado obtido para o teor de umidade foi de 36% (base úmida), valor que encontra-se em concordância com a legislação (BRASIL, 2007). O valor encontrado foi próximo ao de Medeiros *et al.* (2010), que encontraram para a geleia de tomate uma umidade relativa entre 37% e 38%.

5.3.7 Atividade de água (AW)

A atividade de água encontrada na geleia final foi de 0,922, resultado considerado satisfatório, pois este valor deve ser menor que 0,95 para diminuição da probabilidade de contaminação de microrganismos osmofílicos. Quando os mesmos são submetidos a esta atividade de água baixa não estarão nas suas condições ótimas de proliferação.

Valores próximos também foram encontrados por Freire *et al.* (2009) em doce de goiaba, que foram de 0,933 e 0,934.

5.3.8 Açúcares Redutores

Alimentos para dietas com restrição de sacarose, frutose e ou glicose, podem conter no máximo 0,5 g de sacarose, frutose e ou glicose por 100g ou 100mL do produto final a ser consumido (BRASIL, 1998).

O valor 0,43% obtido na geleia de pimenta se encontra dentro do limite permitido pela legislação. Esse valor de açúcares redutores contido na geleia não indica que houve adição de sacarose, frutose ou glicose na formulação, mas se dá devido a uma reação de hidrólise com a maltodextrina contida no mix de adoçante quando entra em contato com o ácido cítrico sob aquecimento.

Yuyama *et al.* (2008) afirma que os valores de açúcares redutores de geleia elaborada com xilitol apresentou-se estável durante todo o período de armazenamento. Por

outro lado, verificou-se um aumento destes açúcares na geleia com sacarose, sugerindo ter ocorrido hidrólise da sacarose durante o período de armazenamento, o que, conseqüentemente, levou à formação de glicídios redutores. Esta hidrólise pode ser atribuída a reações químicas ocasionadas pela presença de ácidos orgânicos, uma vez que açúcares não-redutores como a sacarose é hidrolisada em meio ácido.

A hidrólise de glicídios não redutores durante o armazenamento de produtos processados foi constatada também por Maeda (2002) avaliando néctar de camu-camu adoçado com sacarose e armazenado em temperatura ambiente.

A tendência dessa porcentagem de açúcares redutores aumentarem na geleia de pimenta *diet* é mínima, pois a geleia foi avaliada por 3 meses e este valor de 0,43% manteve-se constante, devido ao fato de a hidrólise ocorrido somente na hora da cocção do produto até seu resfriamento. A geleia é considerada um produto *diet* de acordo com a legislação vigente.

5.4 Caracterização Microbiológica

A geleia de pimenta dedo-de-moça *diet* não apresentou nenhuma contaminação de origem microbiológica entre os três meses de avaliação, podendo ser considerada um produto comercialmente estéril. Esses valores se dão devido a qualidade da matéria prima utilizada em todo processo, boas condições e procedimento no processamento das geleias, como sanitização adequada das frutas e dos equipamentos utilizados, além da efetividade dos métodos de conservação empregados, e uma eficiente esterilização do produto final. Esses valores estão expressos na Tabela 5.

Tabela 5 – Determinações microbiológicas de geleia de pimenta dedo-de-moça *diet* e legislação

	GELEIA DE PIMENTA <i>DIET</i>	LEGISLAÇÃO
Coliformes Totais	AUSÊNCIA	Máx. 1,02 NMPg *
Coliformes Termotolerantes	AUSÊNCIA	AUSENCIA EM 1g
Salmonella sp.	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA EM 25g
Bolores e Leveduras	AUSÊNCIA	Máx. 1,04 UFC.g **

* NMP g⁻¹ = número mais provável por grama de amostra.

** UFC g⁻¹ = unidades formadoras de colônias por grama de amostra.

5.4.1 *Coliformes Totais (35°C) e Termotolerantes (45°C)*

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Resolução RDC N° 12 de 02 de Janeiro de 2001, estabelece padrões microbiológicos para geleias de frutas dispostas para comercialização.

Para coliformes totais a contaminação deve ser menor do que 1,02 NMP/g, o que significa que a cada grama de alimento é permitido encontrar 1,02 colônias que podem ou não ser de coliformes (número mais provável - NMP) que fermentam lactose à 35°C (BRASIL, 2001).

Para coliformes fecais ou termotolerantes a legislação brasileira exige ausência de contaminação em 1g de alimento, pois o alimento que se encontra contaminado por coliformes que fermentam a lactose à 45°C, pode causar infecções alimentares. Pois o coliforme fecal inclui três gêneros que são, *Escherichia Coli*, *Enterobacter* e *Klebsiella* que são os causadores das infecções (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

A presença de bactérias do grupo coliformes a 45°C, especialmente *Escherichia coli*, indica provável contaminação dos alimentos com material de origem fecal (FLORENTINO *et al.*, 1997).

A geleia encontrou-se livre de contaminações por coliformes que fermentam a lactose à 35° e 45°C, apresentando total ausência nas análises desses gêneros como representado na Figura 7. A figura mostra os tubos contendo caldo Verde Brilhante e caldo EC medium livres de produção de gás em seus tubos de Duhran e sem estarem turvos.

Damiani *et al.* (2008), também obtiveram uma geleia de manga livre de contaminação por coliformes. Já Granada *et al.* (2005), não obtiveram ausência de contaminação por coliformes em sua geleia *light* de abacaxi, a qual apresentou seus valores como menores que 3 NMP/g, não obtendo ausência como na geleia *diet* de pimenta dedo-de-moça.



Figura 7 – Tubos de ensaio contidos de geleia de pimenta e caldo VB e EC com ausência de contaminação de Coliformes à 35° e 45°C sem produção de gás e meio límpido.

5.4.2 Salmonella

A *salmonella* não é um microrganismo termo-tolerante, logo ela não suporta altas temperaturas. Sendo assim, a esterilização a quente das geleias prontas e a cocção durante a fabricação permitiu deixá-la livre desta contaminação.

Não foi constatado crescimento para *Salmonella spp.* como mostra a Tabela 5 e a Figura 8, onde estão representadas as placas de inoculação contendo os ágares Hektoen Enteric agar e XLD (xilose-lisina desoxicolato) estriados que se mostram ausentes de colônias de *Salmonella*.

Estes resultados são extremamente relevantes, uma vez que salmoneloses são bastante prevalentes e são consideradas enfermidades de alta incidência e com risco considerável em termos de saúde pública, já que são atribuídos a esta bactéria diversos surtos com óbitos. Resultado equivalente ao encontrado na geleia de manga produzida por Damiani *et al.* (2008) que também encontrou-se ausente em relação a contaminação por *salmonella*.

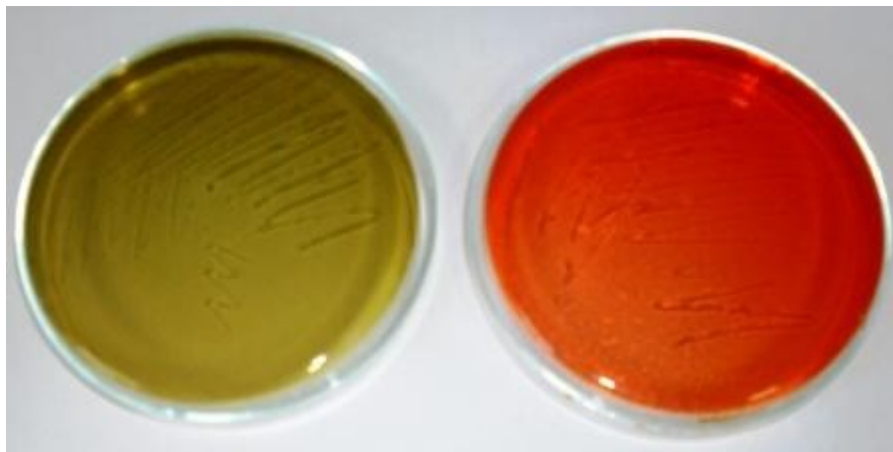


Figura 8 – Placas de pétri contendo os ágaros Hektoen (verde) e XLD (vermelho) apresentando estrias com ausência de colônias de *Salmonella*.

5.4.3 Bolors e Leveduras

A geleia de pimenta encontrou-se livre de contaminação por qualquer bolor e levedura, como pode-se notar na Tabela 5 e Figura 9 que mostra a placa contida de Agar DG18 (Dichloran 18% glycerol) com ausência de qualquer colônia de bolor e levedura.

Isso indica que o sorbato de potássio mostrou-se eficiente na inibição do desenvolvimento desses microrganismos não patogênicos. Portanto, as amostras avaliadas no estudo em questão dispõem de uma boa qualidade microbiológica.

Damiani *et al.* (2008), em geleia de manga, obtiveram 0,2 UFC/g em sua amostra controle e Chisté *et al.* (2004) que obtiveram 0,15 UFC/g em geleia de aração-boi. Ambas as geleias são significativamente inferiores, vale ressaltar que as duas encontram-se dentro dos padrões de contaminação de bolors e leveduras permitidos pela legislação.

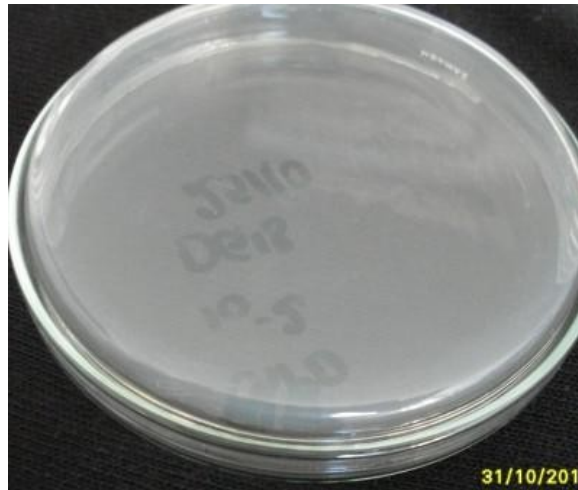


Figura 9– Placa de pétri contendo DG18 com ausência de colônias de bolores e leveduras.

5.5 Análises Reológicas

A geleia de pimenta dedo-de-moça exibiu um comportamento pseudoplástico, como pode-se observar na Tabela 6, na qual se encontram os valores dos parâmetros do modelo de Lei de Potência e os parâmetros estatísticos: soma dos quadrados dos resíduos (SSR), coeficiente de determinação (R^2) e qui-quadrado (χ^2).

Pode-se observar que este modelo empírico do comportamento reológico apresentou um excelente ajuste aos dados experimentais nas temperaturas de 10° a 70°C , os valores do índice de fluxo (n) foram inferiores a 1 ($n < 1$) para todas as temperaturas.

De acordo com Steffe (1996), quando o valor de K (índice de consistência do fluido) é maior que zero e o valor de n está entre $0 < n < 1$, o fluido é considerado não-newtoniano e pseudoplástico. O modelo Lei da Potência deu uma boa descrição dos dados reológicos em todas as temperaturas.

Todos os coeficientes de determinação (R^2) foram superiores a 0,98 e os valores do qui-quadrado (χ^2) foram superiores a 11,61. Nesta análise, os valores de índice de fluxo de comportamento (n) variaram de 0,18 à 0,38, enquanto os valores de coeficiente de consistência (K) variaram de 230,55 à 262,50 Pa.sn.

Foi observada a queda brusca nos valores do índice de fluxo (n), (significância estatística: $p \leq 0,05$). Estes resultados estão de acordo com Krokida, Maroulis, e Saravacos (2001), para purês de frutas.

Tabela 6 - Parâmetros de ajuste do modelo de Lei de Potência da geleia de pimenta dedo-de-moça *diet*

Temperatura °C	Coefficiente de consistência K (Pa.sn)	Índice de Fluxo de Comportamento n (adimensional)	SSR	R ²	χ^2
10°C	252,19	0,38	7766,56	0,994	337,67
20°C	230,55	0,36	3543,90	0,996	154,08
30°C	231,35	0,32	1602,14	0,997	69,65
40°C	235,77	0,28	267,08	0,999	11,61
50°C	248,88	0,24	371,96	0,998	16,17
70°C	262,50	0,18	2345,01	0,981	101,95

SSR – soma dos quadrados dos resíduos, R² - coeficiente de determinação, χ^2 – qui-quadrado.

A Figura 10 apresenta o efeito da temperatura sobre a viscosidade aparente da geleia de pimenta dedo-de-moça *diet*.

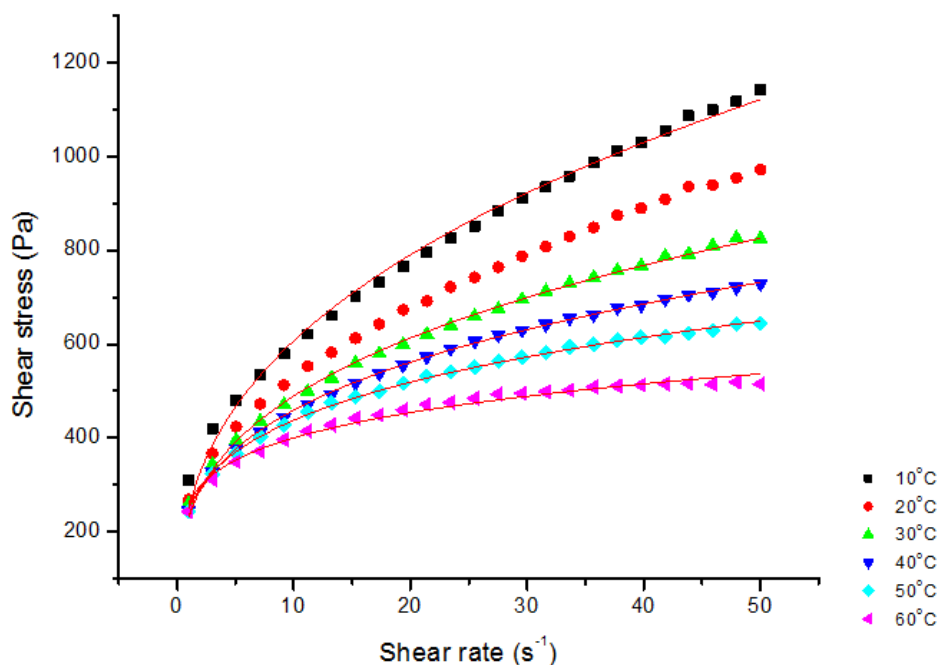


Figura 10 – Curva de fluxo do modelo Lei da Potência ajustado para geleia de pimenta *diet*

O efeito da temperatura sobre a viscosidade aparente de alimentos líquidos, a uma taxa de cisalhamento constante, pode ser descrita pela equação de Arrhenius (equação 4), na qual a viscosidade aparente (η_{AP}) diminui de uma função exponencial com a temperatura.

A geleia de pimenta *diet* teve seus dados adequadamente ajustados ao modelo de Lei de Potência. Confirma-se, então, que a geleia analisada apresentou comportamento não-newtoniano, com característica pseudoplástica.

Verifica-se, a partir dos resultados obtidos, que a tensão de cisalhamento inicial decresceu com o aumento da temperatura. Como pode ser observado na Figura 10, a qual representa a tensão de cisalhamento (shear stress) pela taxa de deformação (shear rate).

A equação de Arrhenius (equação 4) foi utilizada com sucesso para prever a dependência da temperatura de alimentos líquidos ricos em açúcar, sucos de frutas, polpas de frutas, entre outros.

A relação linear de viscosidade aparente $\ln(\eta_{AP})$ pela temperatura ($1/T$) pode ser observada na Figura 11. Dak, Verma e Jaafrey (2007), também obtiveram uma relação linear de viscosidade aparente para suco de manga.

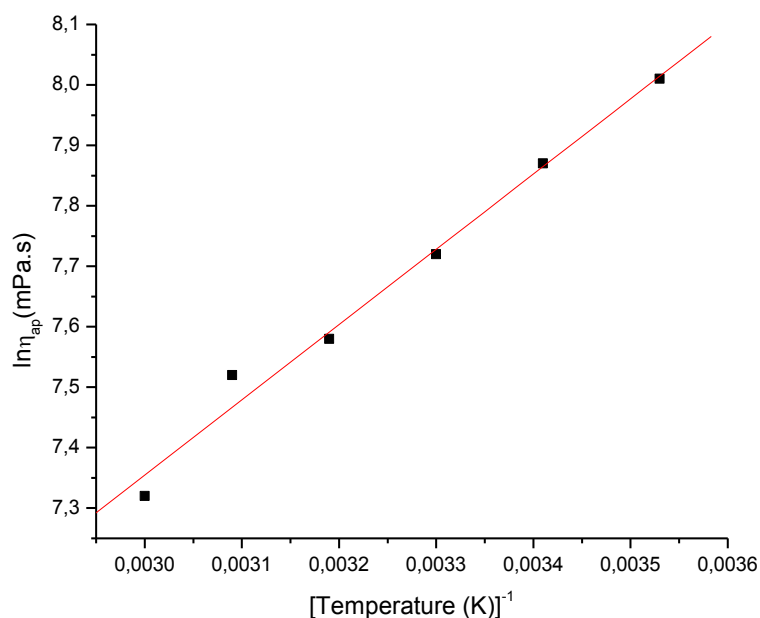


Figura 11 – Relação linear da viscosidade sobre a temperatura da geleia de pimenta *diet*

O valor da energia de ativação obtida em $30s^{-1}$ para a geleia de pimenta foi de $10,35 \text{ kJmol}^{-1}$ com um coeficiente de determinação (R^2) coeficiente de 0,99 e erro padrão de 0,03. Moura *et al.* (2009), encontraram valores pouco superiores para doces cremosos e geleias *light* de morango e goiaba, os quais variaram entre 14 e 22 kJ/mol^{-1} .

Quanto menor a energia de ativação mais sensível é o produto a mudança de temperatura.

5.6 Determinação de Compostos Fenólicos

5.6.1 Determinação de Compostos Fenólicos por Folin Ciocalteu

Em geral, a eficiência da extração de um composto fenólico é influenciado por vários parâmetros, como temperatura, tempo e polaridade do solvente, entre outros, e seus efeitos podem ser independentes ou interativo (MONTGOMERY, 2001).

De acordo com a análise de variância, entre as variáveis estudadas, apenas a razão soluto/solvente desempenhou um papel importante na extração dos compostos fenólicos da geleia de pimenta *diet* e da pimenta dedo-de-moça *in natura*. Uma grande variedade de compostos fenólicos totais foi observada nas amostras, como pode-se constatar na Tabela 7.

Tabela 7 - Delineamento experimental variando soluto/solvente da pimenta *in natura* e geleia de pimenta *diet*

Concentração Etanol %	Relação soluto/solvente	C. fenólicos Pimenta mg/L	C. Fenólicos Geleia Diet mg/L
20	0,500	270,150	68,231
20	0,250	174,770	47,462
20	0,166	159,770	39,385
40	0,500	271,310	76,692
40	0,250	187,846	56,308
40	0,166	171,308	40,538
60	0,500	239,000	76, 154
60	0,250	184,385	50,923
60	0,166	161,692	42,462
40	0,250	195,923	63,231
40	0,250	180,154	53,615
40	0,250	195,923	56,692

A qualidade do ajuste da equação polinomial foi expressa pelo coeficiente de determinação R^2 , e sua significância estatística foi verificada por um teste-F. Análise de variância (teste F) mostrou que o modelo de segunda ordem ajustou-se bem aos dados experimentais. O valor do coeficiente de determinação (R^2) do modelo foi de 0,98 para a pimenta e 0,95 para a geleia de pimenta, o que indica que o modelo representa adequadamente a relação entre os parâmetros escolhidos.

No caso de pimenta *in natura* e geleia de pimenta *diet*, observa-se, pela Figura 12 (Diagrama de Pareto), que os efeitos linear e quadrático de soluto/solvente e volume foram estatisticamente significativos (dentro de 5% de significância), na extração dos compostos da pimenta. Já na extração dos compostos fenólicos da geleia apenas a variação soluto/solvente teve influência significativa na extração por terem ultrapassado o limite de $p=0,5$.

As demais interações dos termos lineares não foram significativas.

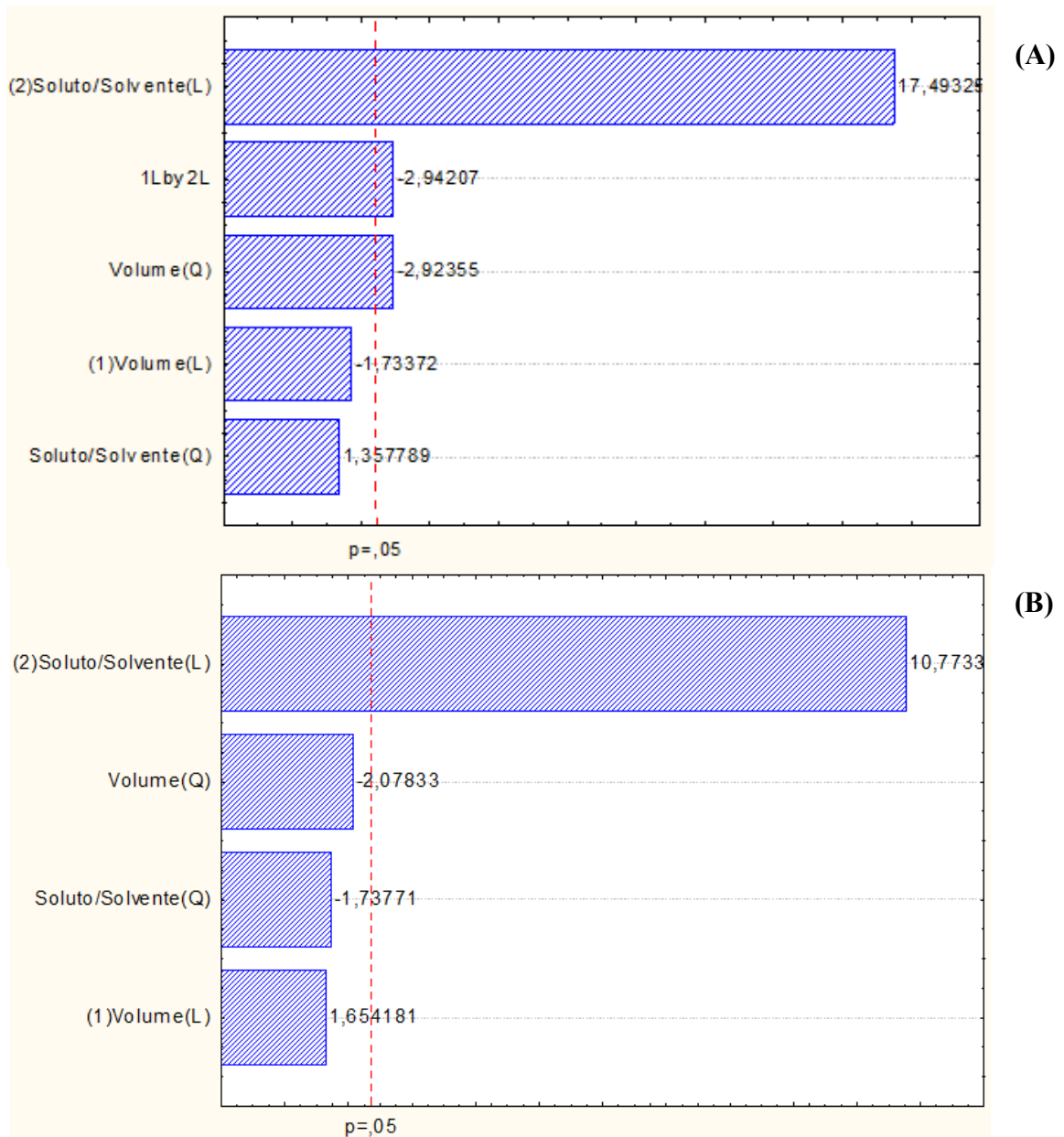


Figura 12 – Diagramas de Pareto para extração de compostos fenólicos da pimenta dedo-de-moça (A) e geleia *diet* de pimenta (B) variando soluto/solvente e volume .

As Figuras 13 e 14 mostram, respectivamente, os gráficos de superfície de resposta dos tratamentos soluto/solvente e concentração de etanol da pimenta *in natura* e geleia de pimenta *diet*, para se obter uma idéia plana e a região otimizada. Observa-se nestas figuras que o ponto ótimo de extração (parte onde se encontra o vermelho mais escuro no gráfico) foi utilizando o etanol à 40% e a relação soluto/solvente de 0,500, que para a pimenta a quantidade de compostos fenólicos foi de 271,310 mg/L e para geleia 76,692 mg/L.

O resultado referente a pimenta foi superior aos encontrados por Costa *et al.* (2009), que realizaram a análise com vários tipos de pimentas e diferentes solventes, as

quantidades de compostos fenólicos encontradas na pimenta *Capsicum baccatum* var. *pendulum* (dedo-de-moça) foi de 234,62 mg/L com clorofórmio como solvente e seu ponto ótimo de extração foi com acetato de etila que foi de 248,75 mg/L.

Essa diferença entre os dados pode-se dar ao devido grau de maturação das pimentas avaliadas, ao tipo de cultivo entre outros, e também pela diferença do solvente utilizado, concentração do mesmo, relação soluto/solvente.

Em decorrência a esse fator, fez-se o delineamento para encontrar o melhor ponto de extração.

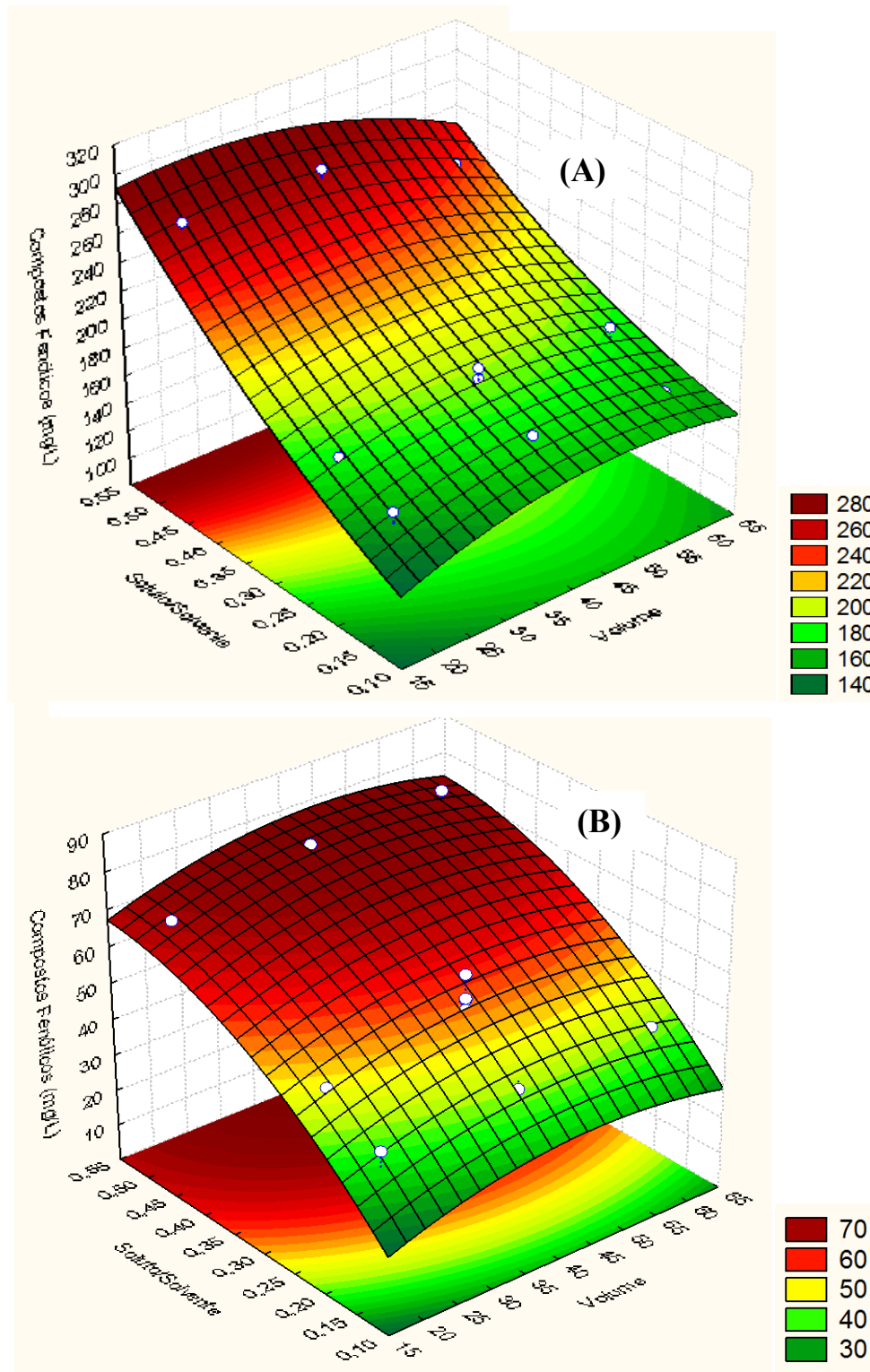


Figura 13 – Gráfico de superfície de resposta em relação o ponto ótimo de extração de compostos fenólicos da pimenta dedo-de-moça (A) e geleia de pimenta *diet* (B), soluto/solvente em mg/ L.

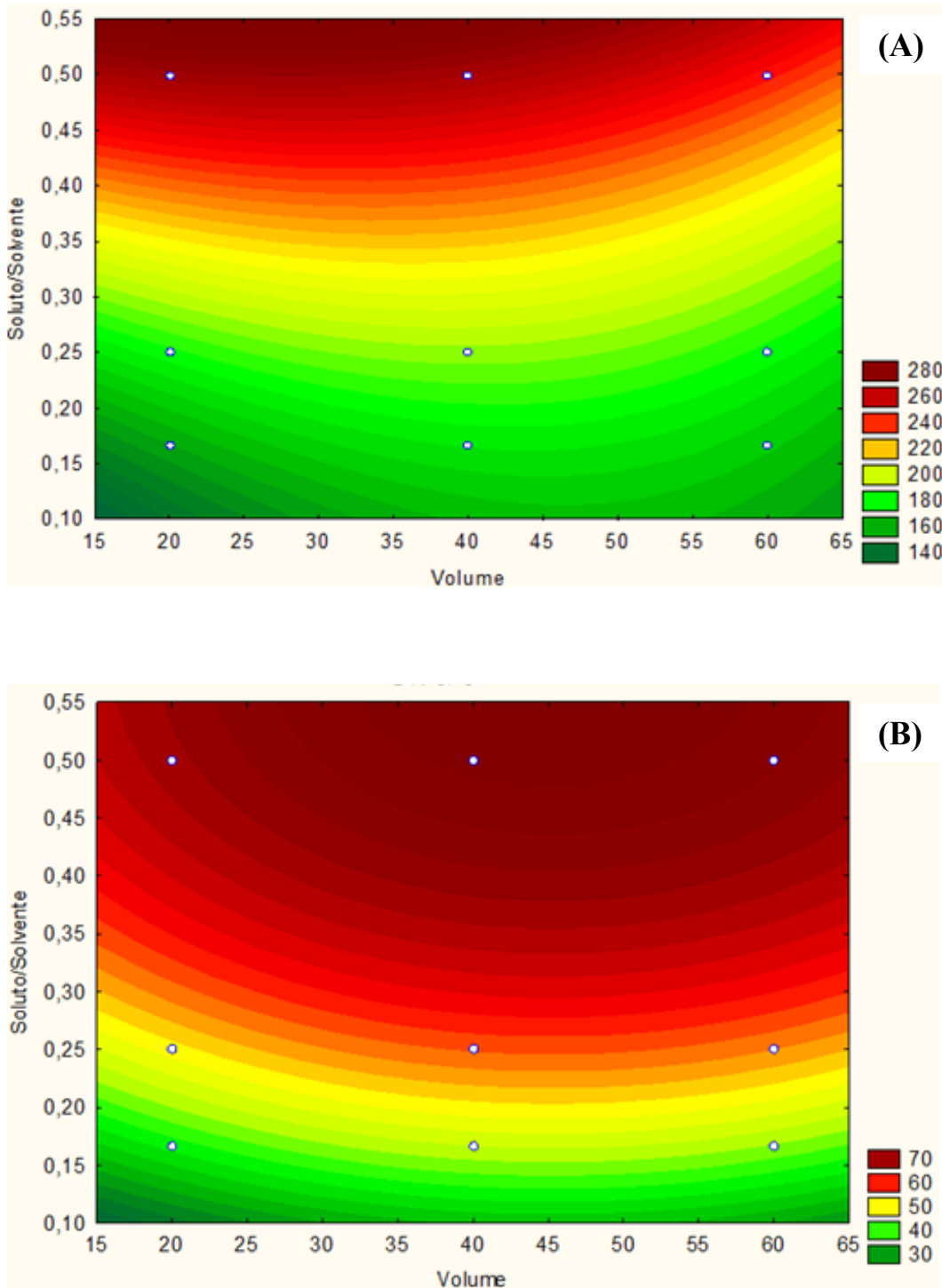


Figura 14 – Gráfico de superfície de resposta (curvas de nível) em relação o ponto ótimo de extração de compostos fenólicos da pimenta dedo-de-moça (A) e geleia de pimenta *diet* (B), soluto/solvente em mg/L.

5.6.2 Método do Radical Livre DPPH

Na Tabela 8 encontram-se os resultados da porcentagem da atividade antioxidante (AA%) determinada pelo método DPPH em diferentes concentrações de etanol, da pimenta (*Capsicum baccatum* var *pendulum.*), da geleia de pimenta *diet* e os valores de AA% relativos aos padrões utilizados, que são Trolox, BHT e Galato de Propila na concentração de 100ppm. A porcentagem de atividade antioxidante é corresponde à quantidade de DDPH consumida pelo antioxidante.

Tabela 8 - Porcentagem da atividade antioxidante pelo método DPPH da pimenta, geleia e padrões.

Concentração (ppm) Pimenta	%AA	Concentração (ppm) Geleia	%AA	Padrões (100 ppm)	%AA
250	88,65	75	36,23	Trolox	96,92
100	71,64	37	32,69	BHT	95,22
50	40,82	18	19,69	Galato de Propila	94,55
25	18,68	9	14,71	-	-
10	10,26	4	7,57	-	-
4	6,04	2	3,56	-	-

Observa-se que a pimenta dedo-de-moça (*C. Baccatum*) apresentou maior atividade antioxidante do que a geleia, com desempenho pouco inferior aos controles na proporção de 100ppm.

Tais resultados podem ser explicados pela considerável concentração de fenólicos totais e capsaicinóides encontrados nestas frações, os quais possuem grande capacidade de doar elétrons ao radical DPPH e estabilizá-lo.

Nota-se que o extrato da pimenta obteve menor ação do que os controles trolox, BHT e galato de propila, provavelmente devido à interação negativa de compostos variados extraídos pelo etanol, ou pela presença de substâncias com menor poder redutor.

Resultados semelhantes foram encontrados por Costa *et al.* (2009) e Silva *et al.* (2009), que ao analisarem vários tipos de pimenta do gênero *Capsicum* observaram resultados inferiores em relação à atividade antioxidantes das pimentas quando comparadas ao controle BHT.

Os valores de Costa *et al.* (2009), para a pimenta *Capsicum baccatum* var. *pendulum* em extrato bruto foram de 96,97% de atividade antioxidante, quanto que para os

extratos da pimenta em hexano foram de 77,78% e clorofórmio 78,79%, valores um pouco superiores quando comparados ao extrato à 100 ppm em etanol que foi de 71,64 %AA.

A Figura 15 representa graficamente as curvas obtidas, bem como a equação da curva ajustada para os pontos referentes a porcentagem da atividade antioxidante da pimenta e da geleia pelas diferentes concentrações dos extratos.

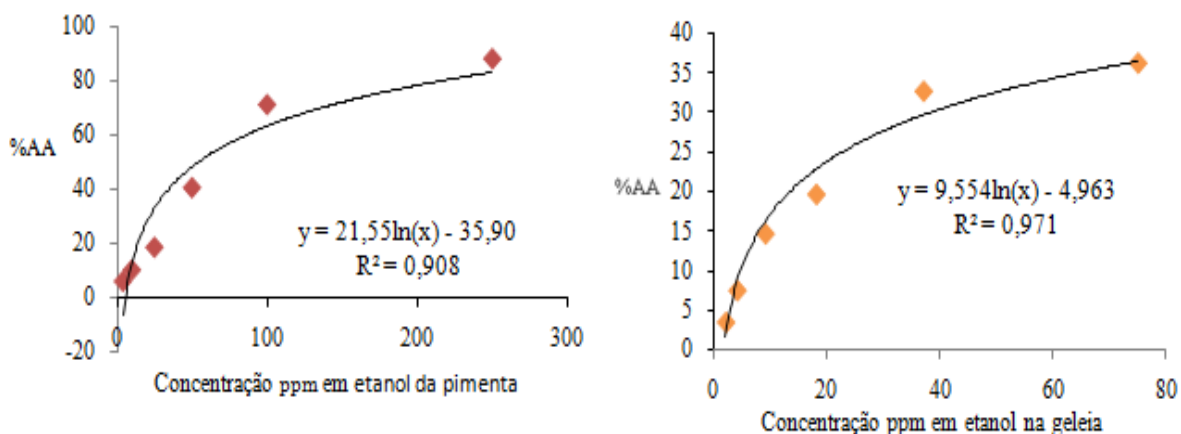


Figura 15 - Percentual da atividade antioxidante da pimenta e geleia pelo método DPPH

Pela regressão logarítmica foi possível calcular os EC_{50} da atividade antioxidante da pimenta e geleia (equações 7 e 8).

O valor de EC_{50} encontrado para a pimenta *capicum baccatum* var. *pendulum* foi de 53,80 $\mu\text{g/mL}$ e para a geleia de pimenta *diet* foi de 314,98 $\mu\text{g/mL}$, sendo que quanto menor o valor de EC_{50} , maior o potencial antioxidante, isto é, maior é a proteção. Logo, a pimenta *in natura* confere maior atividade antioxidante, obtendo seis vezes mais proteção à oxidação quando comparado com a geleia.

Com base nos resultados das análises do radical livre DPPH pode-se dizer que a pimenta dedo-de-moça pode ser considerada como um agente antioxidante natural na geleia por apresentar bom desempenho na atividade antioxidante.

CAPÍTULO 6

6 CONCLUSÕES

A busca por novos produtos no mercado que agreguem valor aos resíduos e sobras de alimentos que também tragam benefícios à saúde é cada vez maior, tanto por parte dos consumidores quanto dos produtores agroindustriais. A elaboração de uma formulação de geleia de pimenta dedo-de-moça *diet* engloba ambas as características, além de dar um destino correto aos subprodutos gerados na Agroindústria Sabor da Vila. O produto elaborado obteve resultados satisfatórios em relação as suas caracterizações.

Por meio das análises físico-químicas pode-se constatar que os parâmetros exigidos pela legislação como acidez, sólidos solúveis, pH, estavam de acordo com a legislação brasileira vigente.

Não foram encontrados limites vigentes para os sólidos solúveis (°Brix) de geleias *diet*, porém o valor foi equivalente a valores encontrados por outros autores o qual foi aproximadamente 32°Brix, esse teor baixo se dá pela não adição de açúcar na formulação.

Na análise da atividade de água (*aw*) obteve-se valores menores que 0,95%, para evitar a proliferação de microrganismos. Pela análise dos açúcares redutores valores menor do que 0,5%, limite exigido pela legislação para ser um produto considerado *diet*.

Devido as análises microbiológicas pode-se garantir que a geleia de pimenta dedo-de-moça *diet* dispõe de uma boa qualidade microbiológica, pois não apresentou contaminação por nenhum microrganismo analisado.

A partir das análises reológicas da geleia observou-se um comportamento não-newtoniano, com característica pseudoplástica. A geleia de pimenta *diet* teve seus dados adequadamente ajustados ao modelo de lei da potência. O valor da energia de ativação obtida em $30s^{-1}$ para a geleia de pimenta foi de $10,35 \text{ kJmol}^{-1}$ com um coeficiente de determinação (R^2) coeficiente de 0,99 e erro padrão de 0,03.

A análise de compostos fenólicos foi realizada na pimenta *in natura* para verificação da quantidade dos antioxidantes naturais encontrados no fruto. Essa análise também foi importante na geleia para verificação se ocorreu ou não uma diminuição na quantidade de compostos fenólicos devido a cocção utilizada no processo.

Por meio de um delineamento estatístico variando a razão soluto/solvente e a concentração do solvente obteve-se um ponto ótimo de extração desses compostos bioativos.

O melhor ponto de extração, verificado pelos gráficos de superfície de resposta, foi com solvente à 40% na proporção de 0,5 na relação soluto/solvente, os quais resultaram em 271,310 mg/L para a pimenta e 76,692 mg/L para a geleia de pimenta.

Com isto, nota-se que a pimenta demonstrou ter muitos compostos fenólicos totais, dado um pouco menor quanto se trata da geleia.

Pela análise do radical livre DPPH notou-se que a pimenta *in natura* oferece seis vezes mais proteção a oxidação quando comprada com a geléia.

CAPÍTULO 7

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMOVIC, H., JAMNIK, M., BURKAN, L., KAC, M. *Water Activity and Water Content in Slovenian Honeys*. Food Control, v.19, n.11, p. 1086-1090, 2008.

ADAMS, B. D. Antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties of garlic and onions. Nutrition & Food Science, v. 37, n. 3, p.178-183. Detroit, 2007.

AJLOUNI, S. e SUJIRAPINYOKUL, P. *Hydroxymethylfurfuldeyde and amylase contents in Australian Honey*. Food Chemistry, v.119, n.3, p.1000-1005, London, 2010.

ALBUQUERQUE, C., *Aproveitamento de resíduos traz ganhos econômicos e ambientais*. Assessoria de Comunicação da Esalq, USP-Universidade de São Paulo SP, 2009.

ALENCAR, S. M. *Esalq desenvolve pesquisa para reduzir resíduos da agroindústria*, Agrosoft, Universidade Estadual de São Paulo – USP, São Paulo SP, Brasil, 2009.

ALTSCHUL, A. M. *Low-calorie foods handbook*. New York: Marcel Dekker, p. 581, 1998.

ALVES¹, A. O., 2006. *Presença de Tran-resvetatrol em Geleias de Uva e sua Relação com a Radiação UV*. Dissertação de M. Sc. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - UFSM, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

ALVES², M. K., 2006, *Avaliação da Ação Antiinflamatória e Antidislipidêmica de Capsicum baccatum var. pendulum L. (Solanaceae) – pimenta dedo-de-moça*. Dissertação de M. Sc., Pontificia Universidade Católica do Rio Grande do Sul –PUCRS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

ANTONIALI, S. *Physico-chemical characterization of 'zarco hs' yellow bell pepper for different ripeness stages*. Scientia Agricola, v. 64, n. 1, p. 19-22, 2007.

AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry. Washington: AOAC. 2002.

ARIHARA, K. *Strategies for designing novel functional meat products*. Meat Science, Barking, v.74, p. 219-229, 2006.

BANCO DE ALIMENTOS - *Dados da Fome*, 2006, Copyright, Disponível em: <<http://www.bancodealimentos.org.br>>.

BELFORT, R., OLIVEIRA, J. E. P. *Mortalidade por Diabetes Mellitus e Outras Causas no Município do Rio de Janeiro*, Arq. Brás. Endocrinologia Metabólica. vol.45, n°5. São Paulo, 2001.

BERGAMASCO, R. 1989, *Cinética da Hidrólise de sacarose pela invertase: modelagem matemática*. Dissertação M. Sc., Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil.

BERGAMO, G., NEIVA, P. *Açúcar o Perigo Branco*. Revista Veja. ed. 1971, n° 34, ano 39. p. 88 - 96. São Paulo, 2006.

BIANCHI, M. L. P., ANTUNES, L. M. G. *Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta*. Revista de Nutrição, v. 12, n. 2, p. 123-130, São Paulo, 1999.

BOBBIO, P.A. e BOBBIO, F.O. *Química do processamento de alimentos*. Varela 3 ed. p.143 São Paulo, Brasil, 2001.

BOGDANOV, S. *Nature and Origin of the Antibacterial Substances in Honey*. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, v.30, n.7, p. 748-753, 1997.

BONTEMPO, M. *Pimenta e seus benefícios*. São Paulo: Alaúde, 2007.

BRASIL – Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância Sanitária. Aprova Normas Técnicas Especiais do Estado de São Paulo para efeito em todo território brasileiro relativas a Alimentos e Bebidas. *Geleias de frutas*.. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n° 65, de 4 de outubro de 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Área de Atuação. Alimentos. Legislação. Legislação Específica da Área por Assunto. Regulamento Técnico por Assunto. *Alimentos para fins especiais*. Portaria SVS/MS n.28, de 13 de janeiro de 1998.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. *Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília 2001. DF.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 360 de 23 de dezembro de 2003. *Aprova o regulamento técnico sobre informação nutricional*. Diário Oficial da União. Brasília, 2003.

CALIL, R. M., AZEVEDO, J. *Aditivos nos Alimentos*. Faculdades Metropolitanas Unidas – FMU, São Paulo, 1999.

CANO, C.B., FELSNER, M.L., BRUNS, R.E. *Precisão dos Métodos Refratométricos para Análise de Umidade em Mel*. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.27, n.2, p. 328-332, 2007.

CARRATU, E., SANZINI, E., *Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale*. Ann. Ist. Super Sanità, 41 ed., vol.1, p.7-16, 2005.

CARVALHO S. I. C., BIANCHETTI L.B., RIBEIRO C.S.C., LOPES C.A. *Pimentas do Gênero Capsicum no Brasil*. Brasília: Embrapa Hortaliças, 27p. (Embrapa Hortaliças. Documentos, 94), 2006.

CASTRO, A. G., *A Química e a Reologia no Processamento dos Alimentos*. Instituto Piaget, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2004.

CHAVES, J. B. P.; SPROSSER, R. L. *Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas*. Universidade Federal de Viçosa - UFV, p.81. Viçosa 2001.

CHIRIFE, J.; ZAMORA, M.C.; MOTTO, A. The Correlation Between Water Activity and % Moisture in Honey: fundamental aspects and application to Argentine honeys. *Journal of Food Engineering*, v.72, n.3, p. 287-292, 2006.

CHISTÉ, R. C., CARDOSO, R.C.D, MOREIRA, D.K.T. *Caracterização Físico-Química, Microbiológica e Sensorial da Geleia Elaborada com Araçá-Boi*. XIX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Recife, Pernambuco, 2004.

CHITARRA, M. I. F., CHITARRA, A. B. *Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio*. Lavras: ESAL, FAEPE, p. 293, 1990.

CHUAH, A. M., LEE, YC., YAMAGUCHI, T., TAKAMURA, H., YIN, LJ., MATOBA, T. *Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers*, Food Chemistry, v. 111, p. 20-28, London, 2008.

COSTA, L. M., 2007, *Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana do gênero Capsicum*. Dissertação de M. Sc., Universidade Comunitária Regional de Chapecó, Chapecó, Santa Catarina, Brasil.

COSTA, L. M., MOURA, N. F., MARANGONI, C., MENDES, C. E., TEIXEIRA, A. O. *Atividade antioxidante de pimentas do gênero Capsicum*, Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.30, n.1, Campinas, São Paulo, 2009.

CP KELCO BRASIL S/A. Pectinas: especificações técnicas. Limeira São Paulo: CP KELCO, 2007.

D'AGUILA, P.S., ROQUE, O.C.C., MIRANDO, C.A.S., FERREIRA, A.P. *Avaliação da qualidade de água para abastecimento público do Município de Nova Iguaçu*. Caderno de Saúde Pública, v.16, n.3, p.791-798, 2000.

DAK, M.; VERMA, R. C.; JAAFFREY, S. N. A. *Effect of temperature and concentration on rheological properties of "Kesar" mango juice*. Journal of Food Engineering, Oxford, v. 80, n. 4, p. 1011- 1015, 2007.

DAMIANI, C., VILAS BOAS, E. V. B., SOARES JUNIOR, M., CALIARI, M., DE PAULA, M.L, PEREIRA, D. E. P., SILVA, A. G. M., *Análise física, sensorial e microbiológica de geleias de manga formuladas com diferentes níveis de cascas em substituição à polpa*. Ciência Rural, v.38, n.5, 2008.

DA SILVA, N., JUNQUEIRA, V.C.A., SILVEIRA, F.A. *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos*. Livraria Varela, 2 ed., p.317, São Paulo, 2001.

DÁVALOS, A., BARTOLOMÉ, B., GÓMEZ-CODROVÉS, C., *Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars*, Food Chemistry v. 93 p. 325-330, London, 2005

DAVES, J. W. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Copyright by John Wiley & Sons Inc, p. 1073-1080. California, 2003.

DELAZARI, I. *Aspectos microbiológicos ligados a segurança e qualidade da carcaça de aves*. Semana Acadêmica Veterinária USP, v.8, p.71-77. São Paulo, 1998.

DINIZ, F., DIAS, B. K. M. *Pimentas: sabor com saúde*. Infobibos – Informações Tecnológicas, 2008.

DUTCOSKY, S. D. *Análise sensorial de alimentos*. Champagnat, ed. 20. Curitiba, 1996.

EMBRAPA. *Pimenta (Capsicum spp.)*. Disponível em :
(http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/PimentaPimenta_capsicum_spp/producaosemente.html). 2009.

EMBRAPA, *Iniciando um pequeno grande negócio agroindustrial: Frutas em calda, geleias e doces*, Brasília, Embrapa, SEBRAE, (Série Agronegócios). Parte 1: Processo de produção, p. 10-84. 2003.

ESTUPIÑÁN, S., SANJUÁN, E., MILLÁN, R., GONZALEZ-CORTES Y.M.A. *Parámetros de Calidad de la Miel. I. Microbiología, Caracteres Físico Químicos y de Envejecimiento*. Alimentaria, v.296, p. 89-94, 1998.

FERREIRA, J. B., *O Consumo Não é Uma Disputa de Produtos é Uma Disputa de Cabeças*, Pack - Alimentos e Bebidas, Ed. Banas 158, ano 13, p.15-17, outubro 2010, São Paulo, 2010.

FINOLA, M.S., LASAGNO, M.C., MARIOLI, J.M. *Microbiological and Chemical Characterization of Honeys from Central Argentina*. Food Chemistry, v.100, p. 1649-1653, 2007.

FLORENTINO, E.R., LEITE JUNIOR, A.F., SÁ, S.N., ARAÚJO, M. S. O., MARTINS, R.S. *Avaliação da qualidade microbiológica da carne moída comercializada em Campina Grande-PB*. Revista Higiene Alimentar, v. 11, n. 47, p.38-41, São Paulo, 1997.

FRANCO, B.D.G.M., LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. Editora Atheneu, p.182, 2005.

FREIRE, M. T. A, PETRUS, R. R., HASHIDA, J. C., FAVARO-TRINDADE, C. S. *Avaliação física, química e sensorial de doce cremoso de goiaba acondicionado em bisnaga plástica*. Brazilian Journal of Food Technology., v. 12, n. 3, p. 172-180, São Paulo, 2009.

FRIGUERI, I. B., PRADO, M. A., *Determinação de Macronutrientes e Avaliação de Métodos para Determinação de Vitamina C em Geleias de Frutas*. PIBIC – CNPQ, Faculdade de Engenharia de Alimentos – FEA UNICAMP, Campinas, São Paulo, 2008.

GRANADA, G. G., ZAMBIAZI, R. C., MENDONÇA, C. R. B., SILVA, E., *Caracterização física, química, microbiológica e sensorial de geleias light de abacaxi*. Ciência e Tecnologia de Alimentos v.25, nº4, 2005.

GUEDES, D. B.; RAMOS, A. M.; DINIZ, M. D. M. S. *Efeito da temperatura e da concentração nas propriedades físicas da polpa de melancia*. Brazilian Journal of Food Technology., v. 13, n. 4, p. 279-285. Campinas – São Paulo, 2010.

HANES, D., MILIOTIS, M.D., BIER, J.W. *Nontyphoid salmonella*. International Handbook of Foodborne Pathogens. Marcel Dekker Inc. New York, p. 72-101, 2003.

HOSNY, I.M., EL-GHANI, S.A., NADIR, A.S. *Nutrient Composition and Microbiological Quality of Three Unifloral Honeys with Emphasis on Processing of Honey Probiotic Youghurt*. Global Veterinaria, v.3, n.2, p. 107-112, 2009.

IBGE BRASIL, *Programa de agroindustrialização da produção dos agricultores familiares 2003/2006*. Documento Referencial. Brasília, Ministério do Desenvolvimento Agrário, 2003.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ, *Normas analíticas. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. Instituto Adolfo Lutz, 3. Ed. São Paulo, 1985.

ISENGARD, H.D., SCHULTEIB, D. Alternatives to official analytical methods used for the water determination in honey. *Food Control*, v. 12, p. 459-466, 2001.

ITAL- *Governo do Estado de São Paulo. Manual Técnico N°7 Relativo à Industrialização de Geleias*. Secretaria da Agricultura e Abastecimento. Instituto de Tecnologia de Alimentos, p.1 Campinas, São Paulo, 1991.

JACKIX, M. H. *Doces, geleias e frutas em caldas: (teórico e prático)*. UNICAMP - Icone, p.172, Campinas, SP, 1988.

KASBIA, S. G. *Functional foods and nutraceuticals in the management of obesity*. *Nutrition & Food Science*. v. 35, n. 5, p. 344-352, Detroit, 2005.

KROKIDA, M. K., MAROULIS, Z. B., SARAVACOS, G. D. *Rheological properties of fluid fruit and vegetable puree products: compilation of literature data*. *International Journal of Food Properties*, ed. 4, p.179-200, 2001.

KROLOW, A.C.R. *Preparo artesanal de geleias e geleadas*. Documento 138 p. 13. Embrapa, 2005.

LANARA. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: II métodos físicos e químicos. Brasília: Ministério da Agricultura, 1981.

LINGUANOTTO NETO, N. *Dicionário Gastronômico: Pimentas com suas receitas*. Boccato Editores, p.164, São Paulo, 2004.

LOWÇUCAR – Produtos Diet e Light BRASIL S/A. Adoçantes: especificações técnicas. Marialva – Paraná, 2010.

MAEDA, R. N. 2002. Estabilidade de ácido ascórbico e pigmentos presentes no néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh) armazenados em diferentes condições de luminosidade e temperatura. Dissertação M. Sc, Universidade Federal do Amazonas. Manaus, Amazonas, Brasil.

MANO, E. B. *Meio ambiente, poluição e reciclagem*. Ed. Edgard Blucher p. 152, São Paulo, 2005.

MARKUS, F., DAOOD, H. G., KAPITANY, J., BIACS, P. A. Change in the carotenoid and antioxidant content of spice red pepper (paprika) as a function of ripening and some technological factors. *J. agric. Food Chem.*, v.47, p.100-107, 1999.

MATOS A. T., *Curso Sobre Tratamento de Resíduos Agroindustriais* - Fundação Estadual do Meio Ambiente, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil, 2005.

MEDEIROS, M. J. M., SOUZA, J. F., CARNEIRO, L. C., SILVA, J. A., SANTOS FILHO, R. SANTOS, F. G., *Desenvolvimento de Geleia de Tomate (lycopersicon esculentum var. cereja)*. Congresso Norte-Nordeste de Pesquisa e Inovação - CONNEPI, Maceió, Alagoas, 2010.

MENSOR, L. L., MENEZES, F.S., LEITÃO, G.G., REIS, A.S., dos SANTOS T.C., COUBE, C.S., LEITÃO, S. G. *Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method*. *Phytother Res.* v.15 p.127-130, 2001.

MILTENBURG, G., BRUGALLI, I. *Alimentação Alternativa: A utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e do desempenho animal*. Simpósio sobre Nutrição de Aves e Suínos, Anais Cascavel: CBNA, 2004. p. 119-134. Cascavel, 2004.

MITSCSKA, P. Simple conversion of Brookfield RVT: readings into viscosity functions. *Rheologica. Acta*, Prague, v.21, n.2, p.207-209. London, 1982.

MONTEIRO, A.R.G. *Introdução à análise sensorial de alimentos*. Maringá: EDUEM, 2005.

MONTGOMERY, D. C. *Design and analysis of experiments*, John Wiley and sons, 5 ed. New York, 2001.

MOREIRA G. R.; CALIMAN F. R. B. ; SILVA D. J. H. ; RIBEIRO C. S. C. *Espécies e variedades de pimenta*. Informe Agropecuário v.27, p.16-29, 2006.

- MOTA, R. V., *Caracterização Física e Química de Geleia de Amora-preta*, Ciência e Tecnologia, v.26 n.3, p.539-543, Campinas, São Paulo, 2006.
- MOURA, S.; GERMER, S.; VISSOTTO, F.; PRATI, P.; RAFACHO, M. *Propriedades Físico-químicas, Termofísicas e Sensoriais de Geleias e Doces em Massa Light*. Fruthotec – ITAL, vol.15. Campinas – São Paulo, 2009.
- MULLER. A. C., *Introdução à Ciência Ambiental*. Curitiba – PUC-PR; uso didático, p. 67 a 73, 2009.
- NACZK, M., SHAHIDI, F. *Extractions and analysis of phenolics in food*. Journal of Chromatography A , v.1054, n.1-2, p.95- 111, 2004.
- NASCIMENTO, A. R., MOUCHREK FILHO, J. E., MARINHO, S. C., MARTINS, A. G. L. A., SOUSA, M. R., SILVA, W. A. S., CASTILLO, F. A., OLIVEIRA, M. B. *Incidência de Microrganismos Contaminantes em Polpas de Frutas Comercializadas in natura em Feiras Livres da Cidade de São Luís/MA*. B.CEPPA, v. 24, n. 1, Curitiba, Paraná, 2006.
- NASCIMENTO W. M., DIAS D. C. F. S., FREITAS R. A. *Produção de sementes de pimenta*. Informe Agropecuário, v. 27, p. 30-39, Agosto 2006.
- OGA, S. *Fundamentos de Toxicologia*. Atheneu Editora, 2 ed.,p. 474. São Paulo, 2003.
- OLIVEIRA, S. P., ASSUMPÇÃO, B. V. *Alimentos dietéticos: evolução do conceito, da oferta e do consumo*. Higiene Alimentar. v. 14, n. 76, p. 36 - 42, São Paulo, 2000.
- PACHECO, M.R., 2006. Cria Ensacada Brasileira em Apis mellifera Linnaeus no Estado do Rio de Janeiro: perdas, zoneamento, palinologia e microbiologia. Dissertação M. Sc., Universidade Federal Rural do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.
- PARDI, M.C., SANTOS, I.F., SOUZA, E.R., PARDI, H.S. *Ciência, higiene e tecnologia da carne: Riscos microbiológicos da carne*. Higiene Alimentar. v.1, p.294-308. Goiânia: UFG, 1995.

PEREDA, J. A. O., RODRÍGUES, M. I. C., ÁLVAREZ, L. F., SANZ, M. L. G., MINGUILLÓN, G. D. G. F., PERALES, L. H., CORTECERO, M. D. S. *Tecnologia de alimentos*. v. 1. Artmed, Porto Alegre, 2005.

PRADO, A. 2009. *Composição Fenólica e Atividade Antioxidante de Frutas Tropicais*. Dissertação de M.Sc. – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, Brasil.

PURKISS, J. WELCH, M. DOWARD, S. FOSTER, K. Capsaicin-stimulated release of substance P from cultured dorsal root ganglion neurons: involvement of two distinct mechanisms. *Biochem Pharmacol*, v.59, p.1403-1406, 2000.

REIFSCHNEIDER, F.J.B. (Org.) *Capsicum: pimentas e pimentões no Brasil*. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia / Embrapa Hortaliças, p.113. 2000.

RIGO, N. *Geleia de Pimenta*. Cozinha de Caras, Editora Caras, v.18, p.12, 2010.

ROGINSKY, V. e LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, v. 92, p. 235-254, 2005.

RUFINO, J. L. S. e PENTEADO, D. C. S. *Importância econômica, perspectivas e potencialidades do mercado para pimenta*. Informe Agropecuário: EPAMIG, v. 27, n. 235, p. 7-15, Belo Horizonte, 2006.

SÁNCHEZ-MORENO, C., LARRAURI, J.A., SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food Agricultural*, v. 76, p. 270-276, 1998;

SANTOS, G. A., GOLLUCKE, A. P. B., SHIBAO, J. GONÇALVES, N. F. *Edulcorantes em Alimentos: aspectos químicos tecnológicos e toxicológicos*, Phorte ed.1, p. 16, 2009.

SCHRAMM, G., *Reologia e Reometria - Fundamentos Teóricos e Práticos*. Ed. ArtLiber, 1 ed. p. 23, São Paulo, 2006.

SILVA, D. J. F, SCHERER, B.S., ALVES, M. K. OLIVEIRA, J. R. *Determinação do potencial antioxidante do extrato filtrado de Capsicum baccatum (pimenta dedo-de moça) através do método DPPH*. X Salão de Iniciação Científica – PUCRS, Rio Grande do Sul, 2009.

SILVA, J. A. *Tópicos da tecnologia dos alimentos*. Varela, p. 227, São Paulo, 2000.

SILVA JUNIOR, E.A.E. *Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos*. Varela 2 ed. p.329, São Paulo,1996.

SILVA, S.J.N., SCHUCH, P.Z., VAINSTEIN, M.H., JABLONSKI, A. *Determinação do 5-hidroxiacetilfurfural em méis utilizando cromatografia eletrocinética capilar micelar*. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.28, p.46-50, 2008.

SIM, K.H. e SIL, H.Y. *Antioxidant activities of red pepper (Capsicum annuum) pericarp and seed extracts*. International journal of food and science technology v. 43, n°. 10, p. 1813-1823, 2008.

SINGLETON, V. L., e ROSSI, J.A. Jr. *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents*. American Journal of Enology and Viticulture. v.16, p.144-158. USA, 1965.

SOLER, M. P. Instituto de Tecnologia de Alimentos. *Industrialização de frutas*. ITAL, p. 206, Campinas SP, 1991.

SOUSA, C. M. de M., SILVA, R. H., VIEIRA – JR. G. M., AYRES, C. C, COSTA, C. L. S., ARAÚJO, D. S., CAVALCANTE, L. C. D., BARROS, E. D. S., ARAÚJO, P. B. M., BRANDÃO, M. S., CHAVES, M. H. *Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais*. Química Nova, vol.30 n°.2. São Paulo, 2007

STEFFE, J.F. *Rheological methods in food process engineering*. Freeman Press, 2.ed p. 418, Michigan, 1996.

TABILO-MUNIZAGA, G., BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. *Rheology for the food industry*. Journal of Food Engineering, v. 67, p. 147-156, Berkeley, 2005.

TEPE, B.; SOKMEN, A. Screening of the antioxidative properties and total phenolic contents of three endemic *Tanacetum* subspecies from Turkish flora. *Bioresource Technology*, v. 98, p. 3076-3079, London, 2007.

TERRAB, A., RECAMALES, A.F., HERNANZ, D., HEREDIA, F.J. *Characterization of Spanish Thyme Honeys by Their Physicochemical Characteristics and Mineral Contents*. *Food Chemistry*, v.88, n.4, p.537-542, London, 2004.

TURLEY, S. D., DAGGY, B. P., DIETSCHY, J. Cholesterol-lowering action of psyllium mucilloid in the hamster: sites and possible mechanisms of action. *Metabolism*. v. 40, p. 1063-1073, Boston, 1991.

UGGIORNI, P. L., FAGUNDES, Regina L. M. *Tratamento Dietético da Intolerância à Lactose Infantil. Teor de Lactose nos Alimentos*. *Higiene Alimentar - Vol. 20*, n. 140. Anatec, São Paulo, 2006

VALENTE, F. L. S. V. Do combate à fome à segurança alimentar e nutricional: o direito à alimentação adequada. In. (Org) *Direito humano à alimentação: desafios e conquistas*. Cortez, p. 37 – 70, São Paulo, 2002.

VANDERZANT, C. e SPLITTSTOESSER, D.F. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. American Public Health Association, 3.ed., p.873, Washington, 1996.

VASCO, C., RUALES, J., e KAMAL-ELDIN, A. *Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador*. *Food Chemistry*, 111, p.816-823, London, 2008.

VASQUES, C. T. 2003. *Reologia do suco de goiaba: efeito da diluição e do tamanho de partícula*. Dissertação M. Sc. Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, Santa Catarina Brasil.

VENDRUSCOLO, J. L. S.; VENDRUSCOLO, C. T. *Sistema de produção do morango*. Embrapa de Clima Temperado, p.5, São Paulo, 2005.

WAGNER, C. M. 2003, Variedade e base genética da pungência e dos caracteres do fruto: implicações no melhoramento de uma população de *Capsicum annuum*. Dissertação M. Sc. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, Brasil.

WELKE, J. E., REGINATTO, S., FERREIRA, D., VICENZI, R., SOARES, J. M. *Caracterização Físico-Química de Méis de Apis mellifera L. da Região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul*. Ciência Rural, v.38, n.6, p. 1737-1741, Rio Grande do Sul, 2008.

WILLE, G. M. F. C., WILLE, S. A. C., FREITAS, R. J. S., HARACEMIV, S. M. C., PENTEADO, P. T. P. *Perfil dos Técnicos que Desenvolvem Produtos Alimentícios. Visão Acadêmica*. v. 5, n. 2, p. 125-130, Curitiba, 2004.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. *The Present State of Foodborne Disease*. OECD Countries, 2003. Disponível em: <<http://www.who.int>>. Acesso em: 23 nov. 2010.

YUYAMA, L. K. O, PANTOJA, L., MAEDA, R. N. , AGUIAR, J. P. L, SILVA S. B., *Development and acceptability of a low calorie cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) jam*, Ciência e Tecnologia de Alimentos, ed. 28, p. 932, Campinas, São Paulo, 2008.

ZANIN, G.M., MORAES, F. F. de. *Tecnologia de imobilização de células e enzimas aplicada à produção de álcool de biomassa*. Relatório de Pesquisa - UEM, n. 2, p. 315-321, Maringá, 1987.

ZUBEM, F. V. *Sustentabilidade é não Desperdiçar Alimentos e Incentivar a Coleta Seletiva*. Planeta Sustentável, Editora Abril S.A., São Paulo, 2008.

Sites:

www.abiad.org.br/ site acessado em 02/12/2010

www.anvisa.gov.br site acessado em 12/11/2010.

www.anvisa.gov.br/alimentos/informes site acessado em 17/12/2010.

www.anvisa.gov.br/alimentos/legis site acessado em 28/12/2010

www.ibope.com.br site acessado em 04/12/2010

www.saude.gov.br site acessado em 03/01/2011.

Anexo 1

TABELA COM LIMITES DE EDULCORANTES

ANVISA (2008)



30

ISSN 1677-7042

Diário Oficial da União - Seção 1

Nº 57, terça-feira, 25 de março de 2008

NÚCLEO REGIONAL DE ATENDIMENTO E FISCALIZAÇÃO DO RIO DE JANEIRO

DECISÕES DE 20 DE MARÇO DE 2008

O Chefe do Núcleo Regional de Atendimento e Fiscalização - RJ, no uso das atribuições que lhe foram delegadas através da Portaria nº 11, de 04/07/2007, publicada no DO de 11/07/2007, seção 2, fl. 25, pelo Diretor de Fiscalização da Agência Nacional de Saúde Suplementar - ANS, e tendo em vista o disposto no art. 65, III, §5º da Resolução Normativa - RN nº 81/2004, e no parágrafo único do art. 22, no art.15, inc. V c/c art. 25, todos da RN nº 48, de 19/09/2003, alterada pela RN nº 155, de 5/6/2007, vem por meio deste dar ciência às Operadoras, relacionadas no anexo, da decisão proferida em processos administrativos.

Número do Processo na ANS	Nome da Operadora	Número do Registro Provisório ANS	Número do CNPJ	Tipo de Infração (artigos infringidos pela Operadora)	Valor da Multa (R\$)
33902.212468/2005-53	BRADESCO SAÚDE S/A	965711	92.693.118/0001-60	Deixar de gar. as cob. obrig. prev. no art. 12 da Lei 9656/98 e sua reg. para os pl. priv. de assist. à saúde, incluindo a inscrição de filios nat. e adq. p/nc. nos seus inc. III e VII. Art. 12, I, da Lei nº 9.656/98.	80.000,00 (OITENTA MIL REAIS)
33902.188654/2006-45	CAIXA DE ASSISTÊNCIA DOS ADVOGADOS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - CAARJ	355878	33.735.174/0001-13	Comercializar, ofertar ou propor pl. priv. de assist. à saúde de forma direta ou por pessoa interpuesta sem o prévio registro na ANS. Art. 9º, da Lei nº 9.656/98 c/c art. 11 da RN 83/04, alterada pela RN 100/05.	414.305,80 (QUATROCENTOS E CATORZE MIL, TREZENTOS E CINCO REAIS E OITENTA CENTAVOS)

WLADMIR VENTURA DE SOUZA

DECISÕES DE 24 DE MARÇO DE 2008

O Chefe do Núcleo Regional de Atendimento e Fiscalização - RJ, no uso das atribuições que lhe foram delegadas através da Portaria nº 11, de 04/07/2007, publicada no DO de 11/07/2007, seção 2, fl. 25, pelo Diretor de Fiscalização da Agência Nacional de Saúde Suplementar - ANS, e tendo em vista o disposto no art. 65, III, §5º da Resolução Normativa - RN nº 81/2004, e no parágrafo único do art. 22, no art.15, inc. V c/c art. 25, todos da RN nº 48, de 19/09/2003, alterada pela RN nº 155, de 5/6/2007, vem por meio deste dar ciência às Operadoras, relacionadas no anexo, da decisão proferida em processos administrativos.

Número do Processo na ANS	Nome da Operadora	Número do Registro Provisório ANS	Número do CNPJ	Tipo de Infração (artigos infringidos pela Operadora)	Valor da Multa (R\$)
33902.23862/2005-99	AMICO SAÚDE LTDA	306622	51.722.957/0001-82	Deixar de comunicar à ANS os percentuais aplicados às contraprestações pecuniárias de contratos coletivos, no prazo previsto em resolução específica. (Art.20 caput da Lei 9656/98 c/c artigo 7º da RN 99/05)	ANULAÇÃO DO AI 26149-ARQUIVAMENTO

WLADMIR VENTURA DE SOUZA

NÚCLEO REGIONAL DE ATENDIMENTO E FISCALIZAÇÃO DE SÃO PAULO

DECISÕES DE 18 DE MARÇO DE 2008

A Chefe do Núcleo Regional de Atendimento e Fiscalização de São Paulo, no uso das atribuições que lhe foram delegadas através da Portaria nº 13/DIFIS/ANS, publicada no DOU de 11 de julho de 2007, pelo Diretor de Fiscalização, da Agência Nacional de Saúde Suplementar - ANS, e tendo em vista o disposto no Art. 65, III, §5º da Resolução Normativa - RN nº 81/2004, e no parágrafo único do art. 22, no art.15, inc. V c/c art. 25, todos da RN nº 48, de 19/09/2003, alterada pela RN nº 155, de 05/06/2007, vem por meio deste dar ciência às Operadoras, relacionadas no anexo, da decisão proferida em processos administrativos.

Número do Processo na ANS	Nome da Operadora	Número do Registro Provisório ANS	Número do CNPJ	Tipo de Infração (artigos infringidos pela Operadora)	Valor da Multa (R\$)
25789.005394/2006-05	AMICO SAÚDE LTDA	306622	51.722.957/0001-82	Deixar de garantir cobertura assistencial a recém-nascido, durante os primeiros trinta dias após o parto. Art. 12, inciso III, alínea "a" da Lei nº 9.656/98.	50.000,00 (CINQUENTA MIL REAIS)

RÚBIA PINHEIRO DA ROSA SHIMIZU

DECISÕES DE 19 DE MARÇO DE 2008

A Chefe do Núcleo Regional de Atendimento e Fiscalização de São Paulo, no uso das atribuições que lhe foram delegadas através da Portaria nº 13/DIFIS/ANS, publicada no DOU de 11 de julho de 2007, pelo Diretor de Fiscalização, da Agência Nacional de Saúde Suplementar - ANS, e tendo em vista o disposto no Art. 65, III, §5º da Resolução Normativa - RN nº 81/2004, e no parágrafo único do art. 22, no art.15, inc. V c/c art. 25, todos da RN nº 48, de 19/09/2003, alterada pela RN nº 155, de 05/06/2007, vem por meio deste dar ciência às Operadoras, relacionadas no anexo, da decisão proferida em processos administrativos.

Número do Processo na ANS	Nome da Operadora	Número do Registro Provisório ANS	Número do CNPJ	Tipo de Infração (artigos infringidos pela Operadora)	Valor da Multa (R\$)
25789.003623/2007-20	SAÚDE MEDICOL S/A	309231	02.926.892/0001-81	Descumprir obrigação de natureza contratual, ao aplicar reajuste sem o consentimento da empresa contratante, violando a cláusula 14.13 do contrato. Art. 25, da Lei nº 9.656/98.	8.813,12 (OITO MIL, TREZENTOS E TRENTE REAIS E DOZE CENTAVOS)
25789.000423/2007-15	UNIMED DE AMPARO - COOPERATIVA DE TRABALHO MÉDICO	345598	65.422.339/0001-21	Aplicar reajuste por variação de custos sem prévia autorização da ANS. Art. 25, da Lei nº 9.656/98, c/c art. 4º, XVII, da Lei 9.961/00 e art. 2º da RDC 06/2001	27.000,00 (VINTE E SETE MIL REAIS)
25789.008127/2007-02	UNIMED REGIONAL DA BAIXA MOGIANA COOP. DE TRAB. MÉDICO	311847	49.210.966/0001-42	Aplicar reajuste por alteração da faixa etária, em desacordo com a regulamentação da ANS. Art. 15, caput, da Lei nº 9.656/98.	61.031,37 (SESSENTA E UM MIL, TRINTA E UM REAIS E TRINTA E SETE CENTAVOS)

RÚBIA PINHEIRO DA ROSA SHIMIZU

DIRETORIA DE NORMAS E HABILITAÇÃO DAS OPERADORAS

INSTRUÇÃO NORMATIVA - IN Nº 16, DE 24 DE MARÇO DE 2008

Define os ajustes por efeitos econômicos no patrimônio da operadora a ser considerado no critério estabelecido para Margem de Solvência e Patrimônio Mínimo Ajustado - PMA.

O Diretor responsável pela Diretoria de Normas e Habilitação das Operadoras - DIOPE da Agência Nacional de Saúde Suplementar - ANS, no uso de suas atribuições legais definidas no inciso I do art. 26 da Resolução Normativa - RN nº 81, de 3 de setembro de 2004, considerando a necessidade de regulamentar o inciso I, art. 28, da Resolução Normativa RN nº 160, de 3 de julho de 2007, que trata dos ajustes por efeitos econômicos no patrimônio da operadora de planos de assistência à saúde, a ser considerado no cálculo da Margem de Solvência e do Patrimônio Mínimo Ajustado, resolve:

Art. 1º Na apuração do Patrimônio Líquido ou Patrimônio Social para fins de adequação às regras de Patrimônio Mínimo Ajustado - PMA e Margem de Solvência, constantes do art. 3º e 8º da Resolução Normativa RN nº 160, de 3 de julho de 2007, respectivamente, as operadoras devem observar, obrigatoriamente, os seguintes ajustes por efeitos econômicos:

- adições:
 - Lucros não-realizados da carteira de ações;
 - Receitas antecipadas;
 - Passivos exigíveis a longo prazo decorrente de renegociação de tributos federais, estaduais e municipais, devidamente formalizados e pactuado com o Ente credor; e
 - Receitas de exercícios futuros, efetivamente recebidas.
- deduções:
 - Participações diretas ou indiretas em outras operadoras e em entidades reguladas pela Superintendência de Seguros Privados - SUSEP, Banco Central do Brasil - BACEN e Secretária de Previdência Complementar - SPC, atualizadas pela efetiva equivalência patrimonial;
 - Despesas de comercialização diferida;
 - Despesas antecipadas;
 - Ativo permanente diferido; e
 - Despesas de exercícios futuros, efetivamente despendidas.

Art. 2º Os ajustes ao Patrimônio Líquido ou Patrimônio Social, previstos no artigo anterior, aplicam-se à Margem de Solvência quando esta tiver como base modelo próprio previsto no § 4º, art. 8º, da RN nº 160, de 3 de julho de 2007.

Art. 3º Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação.

ALFREDO LUIZ DE ALMEIDA CARDOSO

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA

RESOLUÇÃO - RDC Nº 18, DE 24 DE MARÇO DE 2008

Dispõe sobre o "Regulamento Técnico que autoriza o uso de aditivos edulcorantes em alimentos, com seus respectivos limites máximos".

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe confere o inciso IV do art. 11 do Regulamento aprovado pelo Decreto nº 3.029, de 16 de abril de 1999, e tendo em vista o disposto no inciso II e nos §§ 1º e 3º do art.



54 do Regimento Interno aprovado nos termos do Anexo I da Portaria nº 354 da ANVISA, de 11 de agosto de 2006, republicada no DOU de 21 de agosto de 2006, em reunião realizada em 18 de março de 2008, e

considerando a necessidade de constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de alimentos visando proteger a saúde da população;

considerando a necessidade de segurança de uso dos aditivos na fabricação de alimentos;

considerando que o emprego dos aditivos deve ser limitado a alimentos específicos, em condições específicas e ao menor nível para alcançar o efeito desejado;

considerando que os aditivos foram avaliados pelo Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives - JECFA;

considerando que os mesmos constam da Lista Geral Harmonizada de Aditivos do Mercosul - Resolução GMC nº. 11/2006;

considerando as referências do Codex Alimentarius e da União Européia para os usos propostos;

considerando que a ingestão dos aditivos, em seus limites máximos de uso, não deve ultrapassar os valores da Ingestão Diária Aceitável - IDA;

considerando que é necessário revisar a legislação que autoriza o uso de aditivos edulcorantes em alimentos;

considerando que a regulamentação de uso dos aditivos edulcorantes em alimentos deve estar em consonância com a Política Nacional de Alimentação e Nutrição;

adota a seguinte Resolução da Diretoria Colegiada e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação:

Art. 1º Aprovar o "Regulamento Técnico que autoriza o uso de aditivos edulcorantes em alimentos, com seus respectivos limites máximos", constante do Anexo desta Resolução.

Parágrafo único. Os limites máximos de uso dos aditivos estabelecidos no Anexo referem-se a 100g ou 100mL do alimento pronto para consumo.

Art. 2º As empresas têm o prazo de 03 (três) anos a contar da data da publicação deste Regulamento para adequarem seus produtos.

Art. 3º O descumprimento desta Resolução constitui infração sanitária sujeitando os infratores às penalidades da Lei nº. 6.437, de 20 de agosto de 1977, e demais disposições aplicáveis.

Art. 4º Revogam-se as disposições em contrário, em especial a Portaria SVS/MS nº. 14 de 26 de janeiro de 1988 (exceto os seus itens 4 e 5) e a Resolução RDC nº. 3 de 2 de janeiro de 2001.

Art. 5º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

DIRCEU RAPOSO DE MELLO

ANEXO

ATRIBUIÇÃO DE ADITIVOS EDULCORANTES PARA ALIMENTOS E SEUS RESPECTIVOS LIMITES MÁXIMOS DE USO

INS	Aditivo	Alimento	Limite máximo g/100g ou g/100mL
420	Sorbitol, xarope de sorbitol, D-sorbitol	Alimentos e bebidas para controle de peso	quantum satis
		Alimentos e bebidas para dietas com ingestão controlada de açúcares	quantum satis
		Alimentos e bebidas para dietas com restrição de açúcares	quantum satis
		Alimentos e bebidas com informação nutricional complementar	quantum satis
421	Manitol	Alimentos e bebidas para controle de peso	quantum satis
		Alimentos e bebidas para dietas com ingestão controlada de açúcares	quantum satis
		Alimentos e bebidas para dietas com restrição de açúcares	quantum satis
		Alimentos e bebidas com informação nutricional complementar	quantum satis
950	Acesulfame de potássio	Alimentos e bebidas para controle de peso	0,035
		Alimentos e bebidas para dietas com ingestão controlada de açúcares	0,035
		Alimentos e bebidas para dietas com restrição de açúcares	0,035
		Alimentos e bebidas com informação nutricional complementar	0,035 (1)
951	Aspartame	Alimentos e bebidas para controle de peso	0,075
		Alimentos e bebidas para dietas com ingestão controlada de açúcares	0,075
		Alimentos e bebidas para dietas com restrição de açúcares	0,075
		Alimentos e bebidas com informação nutricional complementar	0,075 (2)
952	Ácido cicâmico e seus sais de cálcio, potássio e sódio	Alimentos e bebidas para controle de peso	0,04
		Alimentos e bebidas para dietas com ingestão controlada de açúcares	0,04 (3)
		Alimentos e bebidas para dietas com restrição de açúcares	0,04 (3)
		Alimentos e bebidas com informação nutricional complementar	0,04 (3)
953	Isomalt (isomaltitol)	Alimentos e bebidas para controle de peso	quantum satis
		Alimentos e bebidas para dietas com ingestão controlada de açúcares	quantum satis
		Alimentos e bebidas para dietas com restrição de açúcares	quantum satis
		Alimentos e bebidas com informação nutricional complementar	quantum satis
954	Sacarina e seus sais de cálcio, potássio e sódio	Alimentos e bebidas para controle de peso	0,015
		Alimentos e bebidas para dietas com ingestão controlada de açúcares	0,015
		Alimentos e bebidas para dietas com restrição de açúcares	0,015
		Alimentos e bebidas com informação nutricional complementar	0,015 (5)
955	Sucralose	Alimentos para controle de peso	0,01
		Bebidas não alcoólicas gasificadas e não gasificadas para controle de peso	0,025
		Alimentos para dietas com ingestão controlada de açúcares	0,01
		Bebidas não alcoólicas gasificadas e não gasificadas para dietas com ingestão controlada de açúcares	0,025
		Alimentos para dietas com restrição de açúcares	0,01
		Bebidas não alcoólicas gasificadas e não gasificadas para dietas com restrição de açúcares	0,025
		Alimentos com informação nutricional complementar	0,01 (6)
		Com substituição total de açúcares	0,03
		Bebidas não alcoólicas gasificadas e não gasificadas com informação nutricional complementar	0,025
		Com substituição parcial de açúcares	0,02

957	Taumatina	Alimentos e bebidas para controle de peso	quantum satis
		Alimentos e bebidas para dietas com ingestão controlada de açúcares	quantum satis
		Alimentos e bebidas para dietas com restrição de açúcares	quantum satis
		Alimentos e bebidas com informação nutricional complementar	quantum satis
960	Glicosídeos de esteviol	Alimentos e bebidas para controle de peso	0,06
		Alimentos e bebidas para dietas com ingestão controlada de açúcares	0,06
		Alimentos e bebidas para dietas com restrição de açúcares	0,06
		Alimentos e bebidas com informação nutricional complementar	0,06 (7)
961	Neotame	Alimentos e bebidas para controle de peso	0,0033
		Alimentos e bebidas para dietas com ingestão controlada de açúcares	0,0065
		Alimentos e bebidas para dietas com restrição de açúcares	0,0065
		Alimentos e bebidas com informação nutricional complementar	0,0065 (8)
965	Malitol, xarope de malitol	Alimentos e bebidas para controle de peso	0,0049
		Alimentos e bebidas para dietas com ingestão controlada de açúcares	quantum satis
		Alimentos e bebidas para dietas com restrição de açúcares	quantum satis
		Alimentos e bebidas com informação nutricional complementar	quantum satis
966	Lactitol	Alimentos e bebidas para controle de peso	quantum satis
		Alimentos e bebidas para dietas com ingestão controlada de açúcares	quantum satis
		Alimentos e bebidas para dietas com restrição de açúcares	quantum satis
		Alimentos e bebidas com informação nutricional complementar	quantum satis
967	Xilitol	Alimentos e bebidas para controle de peso	quantum satis
		Alimentos e bebidas para dietas com ingestão controlada de açúcares	quantum satis
		Alimentos e bebidas para dietas com restrição de açúcares	quantum satis
		Alimentos e bebidas com informação nutricional complementar	quantum satis
968	Eritritol	Alimentos e bebidas para controle de peso	quantum satis
		Alimentos e bebidas para dietas com ingestão controlada de açúcares	quantum satis
		Alimentos e bebidas para dietas com restrição de açúcares	quantum satis
		Alimentos e bebidas com informação nutricional complementar	quantum satis

Exceto para gomas de mascar e micro pastilhas de sabor intenso, com limites máximos de 0,5 g/100g e de 0,25 g/100g, respectivamente.

Exceto para gomas de mascar e micro pastilhas de sabor intenso, com limites máximos de 1,0 g/100g e de 0,6 g/100g, respectivamente.

Exceto para bebidas não alcoólicas gasificadas e não gasificadas, com limite máximo de 0,075 g/100mL.

Exceto para bebidas não alcoólicas gasificadas e não gasificadas, com limite máximo de 0,056 g/100mL.

Exceto para gomas de mascar com limite máximo de 0,12 g/100g.

Exceto para gomas de mascar e micro pastilhas de sabor intenso, com limites máximos de 0,3 g/100g e de 0,24 g/100g, respectivamente.

Exceto para gomas de mascar, com limite máximo de 0,24 g/100g.

Exceto para gomas de mascar e micro pastilhas de sabor intenso, ambos com limite máximo de 0,1 g/100g.

Restrições:

Os edulcorantes somente devem ser utilizados nos alimentos em que se faz necessária a substituição parcial ou total do açúcar, a fim de atender o Regulamento Técnico que dispõe sobre as categorias de alimentos e bebidas a seguir:

- para controle de peso;
- para dietas com ingestão controlada de açúcares;
- para dietas com restrição de açúcares;
- com informação nutricional complementar, referente aos atributos "não contém açúcares", "sem adição de açúcares", "baixo em açúcares" ou "reduzido em açúcares" ou, ainda, referente aos atributos "baixo em valor energético" ou "reduzido em valor energético", quando é feita a substituição parcial ou total do açúcar.

Em atendimento a Regulamentos Técnicos específicos:

a) Todos os alimentos e as bebidas contendo polióis deverão obedecer aos requisitos de rotulagem referentes a efeitos laxativos.

b) Todos os alimentos e as bebidas contendo aspartame deverão obedecer aos requisitos de rotulagem referentes à presença do aminoácido fenilalanina, como informação necessária ao grupo populacional de fenilcetonúricos.

Anexo 2

APROVAÇÃO CONSELHO DE ÉTICA

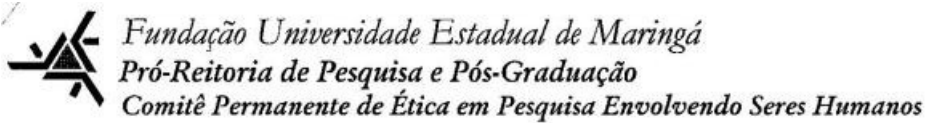



Fundação Universidade Estadual de Maringá
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos

CAAE N°. 0453.0.093.000-10

PARECER N°. 720/2010

Pesquisador(a) Responsável: Angélica Marquetotti Salcedo Vieira
Centro/Departamento: CTC/ Departamento de Engenharia Química e Alimentos
Título do projeto: “Aproveitamento de resíduos gerados na agroindústria para a elaboração de novos produtos alimentícios.”
<p>Considerações:</p> <p>Trata-se de protocolo de pesquisa de área temática III, de caráter acadêmico (Mestrado em Engenharia Química), sob orientação da pesquisadora supra-nominada, com o objetivo geral de “desenvolver geléias a base de pimenta, goiaba, abacaxi com hortelã e acerola com laranja convencionais e na versão diet.”</p> <p>Os objetivos específicos estão bem estabelecidos. O objetivo específico que caracteriza a participação de sujeitos humanos de pesquisa é o que dispõe “realizar análises sensoriais dos produtos desenvolvidos para verificação da aceitabilidade e consumo dos mesmos.”</p> <p>A revisão teórica do estudo e o racional apontam a necessidade de incrementar estudos visando o melhor aproveitamento dos alimentos na agroindústria, intervindo nas fases do sistema de produção e reduzindo, assim, as perdas.</p> <p>A fase ou etapa de análise sensorial será implementada por meio do recrutamento de 50 provadores não-treinados, utilizando o teste de escala hedônica de 9 pontos (ITAL, 1991), para avaliar amostras codificadas de geléias sobre pequenos pedaços de biscoito água e sal. A escala de 9 pontos variará de desgostei muitíssimo (nota 1) a gostei muitíssimo, e se refere à avaliação dos atributos: textura, cor, sabor e aroma.</p> <p>O número de sujeitos constante na Folha de Rosto do protocolo deverá ser corrigida, posto à discrepância em relação ao informado no texto do projeto (300 na FR e 50 no protocolo).</p> <p>O cronograma de execução prevê um período total de 18 meses, com a etapa de análise sensorial programada para o quarto trimestre de 2010. Consta compromisso do pesquisador de somente iniciar as análises sensoriais após a aprovação do projeto pelo comitê de ética em pesquisa.</p> <p>A previsão orçamentária estabelece valores totais de R\$121.348,00, sendo R\$27.850,00 voltados ao custeio de material de consumo. Consta informação de que os valores já se encontram disponibilizados por meio de uma pesquisa ampliada já contemplada com financiamento do programa “Universidade Sem Fronteiras” (Fundação Araucária).</p> <p>Recomendamos à pesquisadora que, em próximas submissões desta natureza, sejam anexados ao projeto os documentos comprobatórios da liberação dos recursos.</p> <p>Foi anexado ao protocolo, a autorização da Chefia do Departamento de Engenharia Química para utilização da estrutura disponível para implementação da pesquisa.</p> <p>O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi apresentado, demonstrando adequação à normativa ética vigente.</p> <p>Parecer:</p> <p>Face ao exposto, e considerando a adequação ética da proposta em tela, este comitê de ética em pesquisa se manifesta por aprovar o protocolo de pesquisa, recomendando que se proceda à correção da Folha de Rosto do projeto, o que deverá ser feito junto à secretaria do COPEP, por ocasião da retirada deste parecer</p>
SITUAÇÃO: APROVADO
CONEP: (X) para registro () para análise e parecer Data: 03/12/2010



Relatório Final para Comitê: () Não (X) Sim Data: 31/03/2011	
O protocolo foi apreciado de acordo com a Resolução nº. 196/96 e complementares do CNS/MS, na 208ª reunião do COPEP em 3/12/2010.	 Profa. Dra. Ieda Harumi Higarashi Presidente do COPEP

Anexo 3

FICHAS DAS ANÁLISES SENSORIAIS

DUTCOSKY (1996)

Provedor: _____ Data: ____/____/____

1 - Você está recebendo 01 amostra de GELEIA DE PIMENTA “ZERO AÇÚCAR”. Por favor, prove-a e avalie de forma global, utilizando a escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou:

NÚMERO AMOSTRA		
Aparência		
Aroma		
Sabor		
Textura		
Global		

- 9 – Gostei MUITÍSSIMO
- 8 – Gostei Muito
- 7 – Gostei Moderadamente
- 6 – Gostei Ligeiramente
- 5 – Nem Gostei / Nem Desgostei
- 4 – Desgostei Ligeiramente
- 3 – Desgostei Moderadamente
- 2 – Desgostei Muito
- 1 – Desgostei MUITÍSSIMO

Comentários:

2 – Baseado em sua opinião sobre a amostra assinale a alternativa que indique sua atitude em relação ao consumo:

- 5 Certamente compraria
- 4 Possivelmente compraria
- 3 Talvez comprasse / talvez não comprasse
- 2 Possivelmente não compraria
- 1 Certamente não compraria

Comentários: _____

Anexo 4

ANÁLISE DE PROTEÍNAS

NITROGÊNIO KJELDAHL

(ADOLFO LUFT, 1985)

Preparo da amostra:

A amostra é seca em estufa à 105-110°C durante 12 horas, moída e deixada novamente na estufa até peso constante e deixada esfriar em dessecador.

Preparo da solução digestora:

Adicionar 100 partes de K_2SO_4 em 1 parte de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ e 0,8 partes de Se_8 .

Preparo da solução indicadora de ácido bórico:

Para 1000 mL de H_3BO_3 a 4%, adicionar 15 mL de vermelho de metila (0,1% em álcool) e 6 mL de verde de bromocresol (0,1% em álcool);

Solução de NaOH – 50%:

Adicionar 500 g de NaOH em 1000 mL de água destilada.

Digestão:

Pesar 0,5 g de amostra e introduzir em um tubo kjeldahl, adicionar de 1 a 2 g da mistura digestora e 12 mL de H_2SO_4 concentrado. Colocar os tubos no digestor e aquecê-los moderadamente no início, tendo o cuidado de utilizar capela, devido os vapores ácidos despreendidos. Continuar a digestão até que a solução torne-se incolor e a temperatura tenha 350°C. Em seguida aquecer os tubos por mais 30 minutos. Deixá-los esfriar.

Destilação:

Adicionar a cada tubo 10 mL de água destilada e acoplá-los ao aparelho de destilação. Adicionar 40 mL de solução de NaOH – 50% ao conjunto de destilação. Adicionar este moderadamente. Colocar um erlenmeyer de 250 mL contendo 25 mL de solução indicadora de ácido bórico na ponta do condensador para receber o NH_3 . Após a adição do NaOH iniciar a destilação. A ponta do condensador deve ser introduzida na solução para evitar perdas da amônia. Coletar um volume do destilado de 2 a 3 vezes maior do que o volume inicial.

Titulação:

Titular com uma solução de H₂SO₄ de normalidade padronizada. Para se obter a porcentagem de nitrogênio na amostra, utiliza-se

$$N(\%) = \frac{V \times N \times 14 \times 100}{P_A}$$

Em que,

V: volume do ácido titulado (mL);

N: normalidade do ácido;

P_A: peso da amostra (mg).

OBS: Para digestão de amostra líquida: 2 mL de amostra + 12 mL de H₂SO₄. Aumentar a temperatura para 100°C por 30 minutos, elevar 50°C e permanecer por 30 minutos, assim sucessivamente, até 350°C permanecendo por 1 hora.

Anexo 5

AÇÚCARES REDUTORES

ZANIN E MORAES (1987)

Experimento curva padrão de glicose + frutose, a partir do método DNS

Preparação da Curva Padrão de Glicose + Frutose -1 g/L:

1- A solução padrão de glicose + frutose pode ser preparada contendo 1,0 ou 2,0 g de glicose + frutose/litro de solução. Pesar 0,5g de cada açúcar, dissolver em água, e deixar em repouso na geladeira por no mínimo 3 horas antes do uso.

2- A curva padrão de glicose + frutose é preparada de acordo com a metodologia indicada para as soluções de 1 g/L.

3- De cada tubo (1 a 21) pipetar 0,5 mL tomando o cuidado de trocar o ponteiro das pipetas cada vez que trocar de amostra. Fazer cada amostra (1 - 21) em duplicata.

4- Adicionar, com auxílio de dispensete, exatamente 2,5 mL de solução de DNS (etapa x), tampar os tubos.

5- Levar a estante contendo os tubos para um banho de água fervente, cuidando para que o volume de água esteja acima do volume da amostra nos tubos. Acionar o cronômetro e deixar ferver durante 10 minutos.

6- Retirar a estante do banho fervente e colocar em um banho com água equilibrada à temperatura ambiente. Deixar resfriar durante 3 - 5 minutos.

7- Adicionar, com auxílio de dispensete, exatamente 3 mL de água destilada. A cor é estável durante 30 minutos.

8- Agitar em agitador "vortex" e ler a absorvância a 600 nm, zerando o aparelho com o branco da amostra (tubo nº 1).

Determinação da Glicose + Frutose:

- Tomar 0,5 mL da amostra que contém glicose + frutose, adicionar 2,5 mL do reagente de DNS e proceder como indicado nas etapas procedentes.

- Com o auxílio da curva padrão de glicose + frutose, determinar a quantidade de açúcares redutores, expressos como glicose + frutose presentes na amostra, não esquecendo de levar em consideração a diluição da amostra.

Se os valores divergirem acima de 5% do valor original, preparar nova solução de glicose + frutose e obter uma nova curva padrão.