

ISADIL GONÇALVES DE CARVALHO

LIMITES MÍNIMOS DE SENSIBILIDADE E CARACTERIZAÇÃO
DA QUALIDADE DE GOSTO PARA 21 AMINOÁCIDOS

Tese apresentada ao Departamento de Ciências da Faculdade de Tecnologia de Alimentos da Uniuversidade Estadual de Campinas para obtenção do grau de Mesustre em Ciências de Alimentos.

ORIENTADOR:

Prof. Valdemiro Carlos Sgarbieri

Campinas
São Paulo - Brasil
1975

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Trabalho realizado no Setor de Análise Sensorial da Faculdade de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, com auxílio do Centro de Pesquisas e Desenvolvimento da Bahia (CEPED) e Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq).

À menória de meu pai,
ã minha mãe e
a meus irmãos

AGRADECIMENTOS

À Professora Ruth dos Santos Garruti, exemplo de pesquisadora, pelos ensinamentos, orientação, apoio e amizade sincera durante a permanência no Instituto de Tecnologia de Alimentos (I.T.A.L.) e na Faculdade de Tecnologia de Alimentos (F.T.A.).

Ao Professor Valdemiro Carlos Sgarbieri, pelas valiosas sugestões na redação da tese e pela amizade sincera.

Ao Professor Leopold Hartman, pela versão e pelo apoio amigo.

À Faculdade de Tecnologia de Alimentos, na pessoa do seu Diretor, Professor André Tosello, pelas facilidades concedidas na realização deste trabalho e pela convivência amigável.

Ao Centro de Pesquisas e Desenvolvimento da Bahia (CEPED) e ao Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos, em diferentes etapas deste trabalho.

Ao Professor Aldo Focesi Júnior e Dr. Anibal Eugênio Vercesi, do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas pela colaboração prestada.

À equipe de provadores, representada por Jaime Franklin de Oliveira, José Gilberto Jardine, Kil Jin Park, Márcia Paisano, Paulo Teruo Matsura, Roger Marcel Soler e

Sérgio Mosca Miranda da Cruz, pelo interesse, apoio, compreensão e pela valiosa participação nos testes.

Ao Sr. José Mendes Coutinho pela colaboração na realização dos testes e pela amizade sincera.

Ao Franz Setina Filho e Maria Lúcia Soares da Silva, pela computação dos dados.

À Angelina Franco de Godoy, pela bibliografia, Maria do Carmo Biajoni, pela datilografia e aos funcionários dos laboratórios de Análise Sensorial e de Bioquímica, da Faculdade de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, pela colaboração.

À Maria Amélia Chaib de Moraes, Salvador Massaguer Róig, Pilar de Lourdes Rodrigues e Urara Kawazoe, pelo apoio, incentivos sinceros e pela amizade em todos os momentos.

A todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram neste trabalho.

a gratidão da autora

RESUMO

A determinação dos limites mínimos de sensibilidade ("thresholds") de diferença e de gosto para 21 L-aminoácidos, foi realizada empregando-se a técnica de diluição com cinco concentrações em porcentagens decrescentes, em escala logarítmica, e tomando-se a água destilada como controle. Nas três séries de experimentos foram empregadas concentrações de 0,5 a 0,0312%; 0,125 a 0,0078% e de 0,0078 a 0,0004%, respectivamente. Para os testes de sensibilidade utilizou-se uma equipe de oito alunos universitários (seis homens e duas mulheres) sem experiência anterior, cuja idade variou entre 20-25 anos. O delineamento empregado foi em Blocos ao Acaso, através do método psicofísico da Ordenação. "Thresholds" de diferença e de gosto foram determinados aplicando-se Análise de Variância aos dados obtidos e teste de significância de Duncan para determinar diferenças entre médias. Foram considerados "Thresholds" de diferença aqueles obtidos nas três séries de experimentos, sem ajuste de pH, porque na primeira série de experimentos, não foi observada influência significativa do ajuste de pH 5,5-6,0. Os "thresholds" de diferença obtidos para os diferentes aminoácidos foram os seguintes: L-leucina 0,125%; L-alanina e L-tirosina 0,0625%; L-asparagina e L-glutamina 0,0468%; L-glicina, L-valina, L-serina, L-treonina, L-fenilalanina, L-prolina e L-hidroxiprolina 0,0312%; L-lisina e L-histidina 0,0156%; L-isoleucina, L-metionina, L-triptofânio e L-arginina 0,0078%; ácido L-glutâmico 0,0039%; ácido L-aspártico 0,0009% e L-cistina 0,0004%.

Quanto à qualidade de gosto, os aminoácidos foram assim caracterizados: doces: L-alanina, L-serina, L-proli

na; amargos: L-leucina, L-isoleucina, L-fenilalanina; L-tirosina, L-triptofânio e L-histidina; ácidos: L-valina, ácido L-aspártico e ácido L-glutâmico, L-asparagina; amargo-doce: L-arginina, L-lisina e L-hidroxiprolina; doce-ácido: L-glicina e L-treonina; amargo-ácido: L-metionina e L-glutamina.

SUMMARY

A determination of thresholds of difference and taste for 21 L-amino acids was carried out employing five concentrations with decreasing percentages in a logarithmic scale and using distilled water as control. Three series of experiments were conducted using concentration ranges of 0.5 - 0.0312%; 0.125 - 0.0078% and 0.0078 - 0.0004%, respectively. The tasting panel consisted of eight university students (six men and two women) without previous experience, with an age range from 20-25 years. A randomized block design was employed following the psychophysics ranking method. Thresholds of difference and taste were determined applying variance analysis to the results obtained and using Duncan's significance test in determining the difference between the averages. As thresholds of difference were designated threshold values obtained in the three series of experiments, without pH adjustment because in the first series of experiments no significant influence of the pH adjustment 5.5 - 6.0 could be observed. Difference thresholds obtained for various amino acids were as follows: L-leucine 0.125%, L-alanine and L-tyrosine 0.0625%, L-asparagine and L-glutamine 0.0468%, L-glycine, L-valine, L-serine, L-threonine, L-phenylalanine, L-proline and L-hydroxyproline 0.0312%; L-lysine and L-histidine 0.0156%; L-isoleucine, L-methionine, L-tryptophan and L-arginine 0.0078%; L-glutamic acid 0.0039%; L-aspartic acid 0.0009% and L-cystine 0.0004%.

The taste qualities of the amino acids examined were: sweet L-alanine, L-serine, L-proline; bitter L-leucine, L-isoleucine, L-phenylalanine, L-tyrosine, L-tryptophan and

L-histidine; acid L-valine, L-aspartic acid, L-glutamic acid and L-asparagine; bitter-sweet L-arginine, L-lysine and L-hydroxyproline; sweet-acid L-glycine and L-threonine; bitter-acid L-methionine and L-glutamine.

1 - INTRODUÇÃO

A importância desse estudo se deve ao fato de que os aminoácidos ocorrem, praticamente, em todos os alimentos, contribuindo não só para o valor nutricional desses alimentos (certos aminoácidos são essenciais ao organismo humano e devem estar presentes na dieta), mas também, contribuem decisivamente para o sabor (gosto e odor) dos mesmos.

Os aminoácidos constituem as proteínas e, por esse motivo, são de alto valor nutritivo representando uma deficiência proteica problema alimentar dos mais importantes existente em muitos países sub-desenvolvidos no mundo atual.

O conhecimento dos limites mínimos de sensibilidade de diferença e de gosto ("thresholds" de diferença e de gosto) bem como a caracterização do sabor de aminoácidos, em condições controladas, parece indispensável para a interpretação de sabores encontrados em produtos naturais, principalmente os de natureza proteica. É também importante para os problemas de síntese ou composição de sabores artificiais para a indústria alimentar.

O presente trabalho teve como objetivo o estudo da determinação dos limites mínimos de sensibilidade ("thresholds") de diferença e de gosto para 21 aminoácidos em soluções aquosas, com e sem ajuste de pH bem como a caracterização do gosto dos mesmos, individualmente. Os aminoácidos estudados foram aqueles que ocorrem normalmente na composição das proteínas.

Estudos sobre a determinação dos limites mínimos de sensibilidade bem como caracterização do sabor de ami-

noácidos, sob variáveis controladas, são bastante escassos.

Revisão da literatura indicou ausência de trabalho sobre determinação de limites mínimos de sensibilidade de diferença ("thresholds" de diferença) e pouca pesquisa sobre determinação de limites mínimos de sensibilidade de gosto ("thresholds" de gosto) e caracterização da qualidade de gosto para aminoácidos.

A caracterização da qualidade de gosto para aminoácidos mereceu, por parte dos pesquisadores, maior atenção.

A determinação dos limites mínimos de sensibilidade de diferença e de gosto é realizada pelo emprego de uma metodologia específica, baseada no preparo de soluções, geralmente aquosas ou de outra natureza, contendo quantidades crescentes da substância em estudo.

Desde que somente dois trabalhos foram realizados sobre "thresholds" de gosto e para caracterizar qualidade de gosto os autores não indicaram métodos sensoriais nem procedimento dos testes realizados, pode-se notar a importância da contribuição do presente trabalho, onde foram determinados limites mínimos de sensibilidade de diferença e de gosto bem como caracterização da qualidade de gosto para 21 aminoácidos, em soluções aquosas, concentrações variáveis e pH controlado.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - Natureza do gosto

O sentido do gosto é de grande interesse devido a sua contribuição no reconhecimento dos alimentos, sendo bastante importante na seleção e aceitação dos mesmos. Os gostos não são devido somente a sensações gustativas, porém relacionam-se também com sensações olfativas, além das sensações sensoriais de tato, temperatura, pressão, dor e outros. O gosto é originado por estímulos químicos altamente diferenciados que atuam de maneira determinante sobre as papilas gustativas decorrendo desta reação as características que determinam sua aceitabilidade ou não.

2.2 - Classificação do gosto

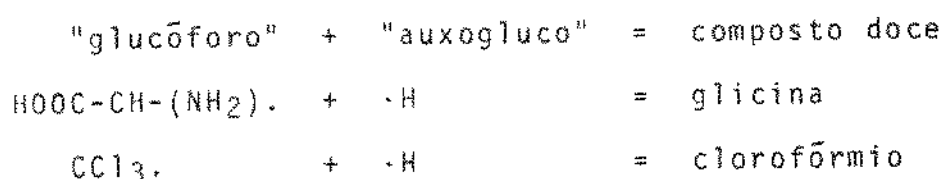
As qualidades de gosto propostas por vários autores desde o século XVI variam em número de classes.

Amerine, Pangborn e Roessler (2) reportaram diferentes qualidades de gosto classificadas por diversos autores. Bravo, em 1592, considerou nove qualidades de gosto, ou sejam, doce, ácido, picante, pungente, áspero, gorduroso, amargo, insípido e salgado. Dois séculos depois, Linnaeus registrou classificação constituída por 11 qualidades de gosto onde não foram considerados pungente e áspero, mas adstringente, viscoso, aquoso e nauseante, além daquelas consideradas por Bravo. No mesmo ano, Haller classifica os gostos em 12 tipos diferentes: doce, espirituoso, aromático, ácido, picante, pungente, áspero, amargo, insípido, salgado, urinoso e pútrido, reclassificando-

os alguns anos mais tarde, em somente seis tipos, a saber: doce, espirituoso, ácido, picante, amargo e salgado. No início do nosso século, Wundt apresenta a seguinte classificação: doce, ácido, amargo, salgado, alcalino (?) e metálico (?). Embora o número de gostos sugeridos seja grande, muitos acreditam que eles são combinações dos quatro gostos básicos primários: DOCE, AMARGO, ÁCIDO e SALGADO proposto por Henning, citado por Geldard (31).

A origem das quatro qualidades de gosto foi estudada por alguns autores e diversas teorias foram sugeridas estando o assunto, contudo, ainda hoje, parcialmente obscuro.

A origem do gosto doce parece ter sido estudada, primeiramente, por Oertly e Myers, citado por Cameron (23) que relacionaram o gosto doce somente a compostos alifáticos denominados "glucóforo"-capazes de formar compostos doces pela união a átomos ou radicais sem gosto denominados "auxogluco", assim exemplificados:



Amerine e colab. (6) atribuíram o gosto doce, também, a compostos alifáticos porém que fossem hidroxilados, não ionizados, particularmente álcoois, glicóis, açúcares e derivados. Para Moncrieff (58) a não ionização constituía fator indispensável para produção do gosto doce numa variedade de compostos orgânicos.

Os estímulos representativos do gosto amargo são alcalóides como quinino, estriquinina e cafeína, decorrendo desse fato a associação do gosto amargo com compostos

prejudiciais ao homem (1). Os sais de amônio e magnésio foram relatados (1,23,54) serem amargos e a efetividade desse gosto atribuída aos cations dos respectivos sais.

O gosto ácido tem sido atribuído ao íon hidrogênio (23,51,57) e a intensidade desse gosto é proporcional à concentração do íon hidrogênio, de acordo com Moncrieff (57) e Cameron (23).

O cloreto de sódio é o representante mais característico do gosto salgado. São considerados salgados cloretos, brometos e iodetos de sódio, sais inorgânicos (efetividade devida aos ânions) e alguns sais orgânicos, dependendo o gosto salgado do tipo e concentração do sal utilizado (5,55). A combinação dos gostos amargo-salgado para o iodeto de potássio foi, também relatada (54).

2.3 - Qualidade de gosto dos aminoácidos

Parece ter sido Kaneko (41) o primeiro a estudar qualidade de gosto de vários aminoácidos, caracterizando as formas L da seguinte maneira: alanina - forma L mais doce que a D; serina - fracamente doce, desagradável; valina - fracamente doce, pouco amarga; leucina - pouquíssimo amarga, desagradável; isoleucina - amarga, desagradável; metionina, fenilalanina, histidina e triptofânio caracterizados pouco amargos.

Mais tarde, Moncrieff (58) classificou muitos dos alfa aminoácidos como um grupo de substâncias orgânicas de gosto adocicado e, muito tempo depois, Amerine e colab. (6) reportaram como substâncias frequentemente doces, embora as formas β e, particularmente, a γ não o sejam.

Galvin (29) estudando o glutamato monossódico e a

minoácidos investigou o gosto de 20 aminoácidos diferentes, nas formas DL ou L, empregando soluções de NaCl a 1,0% e pH 7,0, concluindo ser a maioria de gosto doce não desagradável, como se observa no Quadro 1.

Os aminoácidos também foram estudados por Lawrence e Ferguson, citados por Amerine e colab. (7) que observaram sabor doce para leucina, isoleucina, valina, histidina, triptofânio e asparagina nas formas D mas não nas formas L.

Posteriormente, Solms, citado por Beets (13) estudou o gosto dos enantiômeros de 18 aminoácidos em soluções aquosas e pH 6,0 caracterizando tres grupos: 1) sem gosto; 2) com gosto complexo; 3) gostos doce e amargo, que constam do Quadro 2.

A importância dos aminoácidos no enriquecimento nutricional dos alimentos, foi evidenciada por Hac, Long e Blish (37) quando estudaram muitos aminoácidos na forma de sais encontrando gosto fracamente doce ou amargo, enquanto o sal do ácido glutâmico não apresentou gosto, agindo porém como um agente intensificador do sabor de carnes, alimentos marítimos, vegetais ou produtos lácticos.

2.4 - Tipos e definições de limites mínimos de sensibilidade ("Thresholds")

Observou-se na literatura ausência de concordância entre vários autores ao definirem limite mínimo de sensibilidade.

Guilford (33) pesquisando "thresholds" considerou tres tipos: a) limite do estímulo ou "threshold" absoluto; b) estímulo terminal e c) limite de diferença. Richter

QUADRO 1. QUALIDADES DE GOSTO PARA DIVERSOS AMINOÁCIDOS,
EM SOLUÇÕES SALINAS 1,0% E pH 7,0.

Aminoácidos	Qualidade de gosto
L (+) arginina	doce (ligeiramente)
L (+) ácido aspártico	doce
L (-) cistina	doce
L (+) histidina	doce e ácida
L (-) hidroxiprolina	doce
L (-) leucina	doce e "after taste" fracamente amargo
L (+) lisina	doce suave
L (+) prolina	doce
L (+) tirosina	doce

Fonte: Galvin, S.L. The taste of monosodium glutamate and other amino acid salts in dilute solutions. In: "Flavor and acceptability of monosodium glutamate; symposium on monosodium glutamate. Chicago, Food and Container Inst., 1948, p. 39-44.

QUADRO 2. QUALIDADES DE GOSTO PARA DIVERSOS AMINOÁCIDOS CLASSIFICADOS EM TRES GRUPOS.

Grupos de aminoácidos				
1. Sem gosto				
arginina, ácido aspártico, isoleucina, lisina, prolina, serina, valina e treonina.				
2. Gosto complexo				
cisteina, ácido glutâmico e metionina.				
3. Amargo e doce				
		L	D	
alanina	doce	0,54 %	insípido	-
histidina	insípido	-	doce	2,23%
leucina	amargo	0,011%	doce	1,30%
φ-alanina	amargo	0,069%	doce	2,20%
triptofânio	amargo	0,133%	doce	11,00%
tirosina	amargo	0,017%	doce	1,65%
glicina	doce	0,45 %	doce	0,45%

As porcentagens expressam a concentração da solução de sacarose ou cafeina com intensidade de gosto comparável a das soluções aquosas dos aminoácidos 0,3%, ajustadas a pH 6,0.

Fonte: Beets, M.G.J. In: SOS/70 proceedings of the third international congress of food science and technology, Washington, D.C., August 9-14, 1970. Chicago, Institute of Food Technologists, 1971.

e Mac Lean (62) estudando esses limites denominaram de sublimite e "threshold" de sensação. Fabian e Blum (27) também registraram tres tipos: a) "threshold" de sensibilidade; b) sub-"threshold" de gosto e c) "threshold" de gosto, enquanto que Moncrieff (56) denominou limite mínimo de sensibilidade ou estímulo mínimo para "threshold" de diferença. Dawson, Brogdon e McManus (26) consideraram "threshold" de diferença e "threshold" de gosto e Amerine e colab. (3) relataram quatro tipos: a) "threshold" absoluto, de sensação, detecção ou estímulo; b) "threshold" de diferença; c) "threshold" de reconhecimento ou identificação; d) "threshold" terminal.

2.4.1 - Limite mínimo de sensibilidade absoluta. O conceito de um limite mínimo de sensibilidade absoluta ou o menor limite de sensibilidade foi sugerido por Herbart, citado por Guilford (35) ao definir a psicofísica como "uma ciência exata de relações funcionais dependentes entre o corpo e a mente", incluindo não somente medidas de magnitude sensorial mas também a quantificação de percepção, sentido, ação e atenção correlacionando qualquer processo fisiológico com estímulo. Fechner, também citado por Guilford (35) investigou a relação quantitativa entre estímulo e resposta obtida, assumindo que a um pequeno incremento do estímulo (S) corresponde um pequeno incremento na resposta (R). Titchener, citado por Fabian e Blum (27) considerou o valor de "threshold" como "aquela magnitude do estímulo que evoca justamente uma sensação consciente" e Brown, também citado por Fabian e Blum (27) definiu como "a intensidade mediana situada entre aquela intensidade justa e suficientemente forte para produzir uma sensação e a intensidade que sempre a produz". Guilford (33) definiu como sendo o grau mais baixo da escala R. Definição

semelhante à de Brown foi apresentada por Moncrieff (56): "a exata quantidade de substância que evoca sensação" e Amerine e colab. (3) definiram como: "aquela magnitude do estímulo em que uma sensação ocorre desde a não sensação à sensação".

2.4.2 - Limite mínimo de sensibilidade de diferença. O conceito básico do limite mínimo de sensibilidade de diferença parece ter sido introduzido por Guilford (33) quando chamou limite de diferença "uma diferença do estímulo notada 50% das vezes". Richter e Campbell, citados por Fabian e Blum (27) consideraram "o ponto onde os provadores poderiam diferenciar entre uma solução salina e a água destilada". Kirkpatrick, Lamb, Dawsom e Eisen (43) registraram a seguinte definição: "concentração mínima de um produto, na qual é possível detectar diferença entre uma amostra considerada referência e outra teste, em diferentes concentrações". Para Pangborn (61) vem a ser: "a menor concentração distinguível quando comparada com a água destilada". Dawson e colab. (26) usando uma série de concentrações crescentes em escala logarítmica, realizaram pesquisas para determinação do limite mínimo de sensibilidade e definiram: "limite mínimo de sensibilidade de diferença corresponde à menor concentração distinguível da água destilada sem identificação do gosto". "Limite mínimo de sensibilidade de diferença é a menor quantidade de um dado estímulo necessário à produção de uma mudança na sensação" assim definido por Amerine e colab. (3), assemelhando-se à definição apresentada por Guilford (33) apesar do espaço de tempo existente entre os dois autores. Denominado pela ASTM como limite mínimo de detecção, foi definido "aquele limite mínimo em que o provador deve distinguir somente a diferença entre qualquer estímulo

neutro (11).

2.4.3 - Limite mínimo de reconhecimento. Esse limite foi estudado por diversos pesquisadores (3,11,26,27, 51) que reportaram diferentes definições.

Richter e Campbell, citados por Fabian e Blum (27) definiram como: "a concentração mínima na qual o provador pode reconhecer o gosto", e para Meyer (51) seria: "medida da sensibilidade para um determinado gosto em função da concentração detectável". Dawson e colab. (26) definiram: "concentração em que o provador pode reconhecer e identificar o gosto", correspondendo este limite à concentração molar mais elevada que a concentração molar do limite mínimo de sensibilidade de diferença. Pouco tempo depois, Amerine e colab. (3) definiram como sendo: "a concentração mínima em que uma substância é identificada corretamente". Definição semelhante à de Dawson e colab. (26) foi apresentada pela ASTM: "aquele limite onde o provador deve nomear o estímulo específico, por exemplo, salgado, doce" (11).

2.5. - Fatores importantes na avaliação de limites mínimos de sensibilidade.

Estudando a determinação dos limites mínimos de sensibilidade diversos autores observaram e relataram os efeitos de alguns fatores que influíram nos resultados obtidos, devendo-se dar maior importância aos seguintes: técnica de provar, concentração, temperatura, pureza da substância, preparo da amostra e outros.

2.5.1 - Técnica de provar. Um dos fatores mais importantes para determinação do limite mínimo de sensibilidade é a escolha da técnica mais precisa de provar.

A aplicação do estímulo varia com a técnica usada e esta depende do método empregado, havendo grande diferença entre a colocação de algumas gotas de substância na língua (somente determinada região da língua é estimulada) ou a apresentação de duas ou mais amostras de 10 ml permitindo o contato das soluções com toda a região bucal possibilitando maior estimulação e, conseqüentemente, resultados diferentes para ambas as técnicas utilizadas (62).

2.5.2 - Concentração. Knowles e Johnson (44) pesquisando o limite mínimo de sensibilidade de gosto para sacarose, ácido tartárico, ácido glutâmico, cloreto de sódio e cafeína empregaram concentrações de 0,001 a 0,05M; 0,00004 a 0,003M; 0,0001 a 0,003M; 0,001 a 0,2M e 0,0002 a 0,05M, respectivamente e encontraram os valores que podem ser observados no Quadro 3

Knowles e Johnson (44) empregando o ácido glutâmico como estímulo representativo do gosto ácido, através do método de diluição, obtiveram valores médios de "thresholds" de gosto de 0,00153M para os homens e 0,00093M para as mulheres. Os dados do Quadro 1 representam resultados de 12 provadores, sem repetição, não avaliados por métodos estatísticos e, portanto, não podem ser considerados como finais.

Schutz e Pilgrim (65) pesquisando sensibilidade diferencial na gustação usaram cinco níveis de concentrações variando de 0,775 a 1,075% e encontraram valores de "thresholds" absoluto de 0,089%, 0,004%, 0,35% e 0,022% para clo

QUADRO 3. VALORES DE LIMITES MÍNIMOS DE SENSIBILIDADE PARA DIFERENTES ESTÍMULOS, EM MOLARIDADE.

Soluções	Concentrações molares		
	Menor	Média	Maior
Cloreto de sódio	0,001	0,0217	0,08
Sacarose	0,003	0,0224	0,05
Ácido tartárico	0,00012	0,00045	0,003
Ácido glutâmico	0,0001	0,0015	0,003
Cafeína	0,0002	0,0015	0,005

Fonte: Knowles, D. & Johnson, P.E. Journal Food Research, 6(2): 207-216, March/April, 1941.

reto de sódio, ácido cítrico, sacarose e cafeína, respectivamente.

Fabian e Blum (27) estudando o gosto e ação "competitiva" e "compensatória" em misturas, determinaram os limites mínimos de sensibilidade de diferença e de gosto para alguns estímulos, cujos valores estão registrados no Quadro 4.

King (42), Knowles e Johnson (44), Hopkins, citado Amerine e colab.(10), Pangborn (59) e Dawson e colab. (26) selecionando equipe de provadores para testar diferenças, gosto primário e preferências alimentares, determinaram os valores dos limites mínimos de sensibilidade usando estímulos representativos dos quatro gostos básicos primários em concentrações variando de 0,00005M a 0,2M, que podem ser observados no Quadro 5.

QUADRO 4. LIMITES MÍNIMOS DE SENSIBILIDADE DE DIFERENÇA E DE GOSTO PARA DIVERSAS SUBSTÂNCIAS, EM PORCENTAGEM E MOLARIDADE.

Estímulos	Limites mínimos de sensibilidade			
	diferença		gosto	
	%	M	%	M
Sacarose	0,56	0,016	1,30	0,037
Ácido cítrico	0,008	0,00042	0,013	0,00070
Ácido tartárico	0,006	0,00041	0,011	0,00070
Cloreto de sódio	0,064	0,011	0,288	0,039

Fonte: Fabian, F.W. & Blum, H.B. Journal of Food Research, 8(3): 179-192, May/June, 1948.

QUADRO 5. LIMITES MÍNIMOS DE SENSIBILIDADE DE GOSTO PARA DIVERSAS SUBSTÂNCIAS, SEGUNDO VÁRIOS AUTORES, EM MOLARIDADE

Soluções	King (1937)	Knowles e Johnson (1941)	Hopkins (1946)	Pangborn (1959)
	M	M	M	M
Sacarose	0,0128	0,0192	0,0195	0,008
Cafeína	0,0032	0,0088	0,0018	0,0004
Ácido glutâmico	-	0,0010	0,0008	-
Ácido tartárico	-	0,00026	0,00020	-
Ácido cítrico	-	-	-	0,00005
Cloreto de sódio	0,0128 0,0256	0,0199	0,0192	0,008

Dawson e colab. (26) determinaram os "thresholds" de diferença e de gosto mas não citaram os valores obtidos, apenas informaram que foram semelhantes para as tres primeiras substâncias (sacarose, ácido tartárico e cloreto de sódio), diferindo com relação à cafeína e que os valores de "thresholds" de gosto foram sensivelmente mais elevados que os de diferença.

Linker, Moore e Galanter (48) estudando o efeito de detecções corretas e falsas na determinação de "thresholds" de gosto utilizaram sacarose nas concentrações de 0,200% (0,00584M) e 0,225% (0,00658M) alternadas com a água destilada, através do método do estímulo único modificado, encontraram o valor de 0,200% como "threshold" para doce.

Berg, Filipello, Hinreiner e Webb (15) com o objetivo de determinar diferenças no gosto para a maioria das substâncias constituintes do vinho de uva, empregaram estímulos puros em soluções aquosas e consideraram o nível de 0,30% como "threshold" para sacarose.

Determinando "threshold" de gosto para quatro laboratórios, Johansson e Drake (39) empregaram nove níveis de concentração variando de 0,26 a 0,34% e 0,72 a 0,88% de cloreto de sódio para duas séries de experimentos, não encontrando diferença significativa ($p > 5\%$) para os tres laboratórios enquanto que para o quarto foi encontrado valor altamente significativo ($p < 1\%$).

Gregson (32) determinando limites mínimos de sensibilidade de gosto para doce e salgado, realizou um estudo do método escala de valores utilizando concentrações de $2^{-1,45}$ a $2^{-5,15}$ e encontrou "thresholds" para sacarose e ácido cítrico com valores de 0,00183 p/p e 0,000647 p/p, respectivamente.

Maga (50) demonstrou a influência da cor na determinação de "thresholds" de gosto utilizando soluções aquosas de sacarose, cafeína, ácido cítrico e cloreto de sódio em concentrações crescentes (escala logarítmica) e observou efeito psicológico na associação de alimentos com cores específicas respectivas.

O efeito do aumento ou diminuição da concentração foi reportado por Engel, citado por Amerine e colab. (8) que encontrou solução de sacarose mais agradável com aumento de concentração, uma vez que 100% dos provadores indicaram sacarose a 9% (0,263M) como agradável, havendo, entretanto, diminuição da sensação agradável a uma concentração muito elevada. Para soluções de cloreto de sódio, ácido tartárico e sulfato de quinino o efeito da concentração foi detectado pela equipe nos valores de 2% (0,342M) 0,28% (0,0186M) e 0,0007% (0,0000093M) e considerados agradáveis por 54, 66 e 24% das respostas, respectivamente.

Fenômeno idêntico ao observado por Engel foi reportado, muito tempo depois, por Halpern, Bernard e Kare (38) quando observaram, experimentalmente, um aumento na atividade neural de ratos utilizando soluções de aminoácidos a 0,01M ou em concentrações mais elevadas. As soluções passadas sobre a língua dos animais, nas séries ascendentes, permitiu selecionar DL, L-alanina e glicina em baixas concentrações; aceitação do triptofânio nas formas DL, D e L e DL-metionina, esta quando em baixa concentração (0,08M). Nas séries descendentes foram selecionados DL-alanina e glicina e rejeitados D e L-triptofânio e DL-metionina, sendo que DL-valina foi rejeitada nas duas séries.

2.5.3 - Temperatura. Hahn, citado por Cameron (24)

considerou a temperatura uma das mais importantes variáveis em estudos de sensibilidade de gosto e declara que nem todas as substâncias quando testadas a diferentes temperaturas são alteradas. O mesmo autor estudando sensibilidade de gosto encontrou que o limite mínimo para o salgado (NaCl) cresce com o aumento de temperatura da solução teste de 17°C a 42°C. Para o gosto doce (dulcin) o limite é aproximadamente 35°C aumentando quando soluções mais quentes ou mais frias são usadas. Para o estímulo amargo (sulfato de quinino) obteve uma tendência semelhante, mas a função entre o limite mínimo de percepção e temperatura não é linear, mas uma curva acelerada. Para o gosto ácido (ácido clorídrico) nas condições testadas, a mudança de temperatura não alterou a sensibilidade.

Diversos pesquisadores (20,60,63) estudaram o efeito de diferentes temperaturas sobre soluções aquosas para várias substâncias, encontrando resultados bastante diferentes.

Salmon e Blakeslee (63) empregando soluções em diferentes temperaturas (8°C, ambiente e 55°C) não observaram qualquer influência sobre limites mínimos de sensibilidade.

A necessidade de apresentar amostras à mesma temperatura (considerada ótima) para a discriminação das amostras nos testes de diferença foi evidenciada por Boggs e Hanson (20).

Resultados antagônicos aos de Salmon e Blakeslee (63) são registrados por Pangborn (60) trabalhando com diferentes temperaturas (0°C, 22°C, 37°C, 55°C) encontrou maior porcentagem de respostas corretas para soluções salinas de cloreto de sódio, testadas a 22°C, nas concentrações de 0,04 a 0,64%, não observando o mesmo para as de-

mais temperaturas.

2.5.4 - Pureza das substâncias. A pureza dos compostos é considerada fator de relevante importância na determinação dos limites mínimos de sensibilidade e a falta de observação desse fator contribue para a obtenção de resultados duvidosos.

King (42), Knowles e Johnson (44), Fabian e Blum (27), Schutz e Pilgrim (65), Pangborn (58) e Dawson e colaboradores (26) consideraram essa variável e em seus experimentos utilizaram soluções quimicamente puras. Schutz e Pilgrim (65) ao pesquisarem a sensibilidade diferencial de gosto, consideraram a pureza das substâncias empregadas responsáveis pelas diferenças nos resultados obtidos.

2.5.5 - Outros fatores. Além dos já citados devem ser considerados outros fatores já reportados na literatura como responsáveis pela introdução de variáveis durante o desenvolvimento dos testes de diferença: horário de provas, número de repetições, número e treinamento de provadores, saúde, idade, sexo, hábito de fumar, água destilada x água não destilada (água de torneira), barulho externo, fluxo de saliva, pH, bem como solução tampão x solução tamponada.

Parece haver uma íntima relação entre fome e horário de prova tendo Yensen (71), ao estudar o efeito do horário sobre a sensibilidade do gosto, observado ter sido a fome responsável por uma maior sensibilidade no horário das 11:30 h, havendo diminuição significativa no intervalo de uma hora após a refeição seguida por um aumento nas três a quatro horas subsequentes, parecendo estar o grau

de diminuição relacionado com o valor calórico da refeição. Limites mínimos de sensibilidade de gosto relatados por Pangborn (59) foram mais baixos antes do almoço que após; ao contrário, para odor os referidos limites não foram alterados. A mesma autora observou que a acuidade sensorial de provadores de bebidas alcoólicas foi mais elevada meia hora antes e meia hora imediatamente após o almoço. Mitchell (53) estudou a variabilidade do provador nos diferentes horários e dias da semana e considerou uma escala norária de oito horas, onde a quarta hora incluía meia hora antes e meia hora após o almoço, encontrando como melhores horários os intermediários, quando usou bebidas alcoólicas.

O número de repetições de um experimento depende do delineamento empregado, da precisão exigida e da quantidade de amostra, sendo ainda considerados o grau de diferença entre as amostras e a equipe empregada (19,30,40).

O número de provadores depende da metodologia empregada bem como da habilidade e treinamento da equipe devendo ser observado o decálogo citado por Garruti (30) durante a seleção de uma equipe de provadores, recomendando-se de 5 a 12 provadores. Krum (45) atribuiu a obtenção de melhores resultados através de uma equipe selecionada, e treinada. Muitos trabalhos têm sido apresentados sobre seleção (22,44) mas nem sempre implicando em treinamento da equipe, observando-se que quando equipes treinadas foram empregadas conferiram resultados mais sensíveis (26, 61,65).

A saúde dos provadores foi reportada (26, 45, 67) ressaltando a necessidade de apresentarem inteligência, compreensão, interesse e motivação para testes sensoriais. A saúde e fatores emocionais foram considerados (9, 18, 26) como possíveis causas para variação de gosto en

divíduos podendo afetar a sensibilidade do provador. Yensen (72,73) estudando a influência da perda de água e sal corpóreos sobre sensibilidade gustativa humana, demonstrou a importância do controle desses dois fatores. Reportou que para perda de sal e água do corpo houve aumento e diminuição significantes da sensibilidade humana, respectivamente. A variabilidade dos limites mínimos de sensibilidade de gosto e odor variam de provador a provador podendo variar em um mesmo provador de tempo a tempo (18,26, 44, 63). Cameron (22) selecionando provadores, reportou que uma grande porcentagem não apresentou sensibilidade para doçura, enquanto que Baker, Mrak e Amerine (12) empregando ácido tartárico encontraram uma linearidade de respostas apenas para alguns provadores.

A influência da idade sobre acuidade sensorial dos provadores não foi evidenciada por Knowles e Johnson (44), entretanto, Dawson e colab. (26) em estudos de "thresholds" de gosto, afirmaram que estes diminuem com a idade. Tilgner e Barylko-Pikielna (68) determinando "thresholds" para estímulos doce e ácido, encontraram maior sensibilidade para os jovens, não detectando diferenças para estímulos salgado e amargo entre jovens, adultos e velhos. Venstrom e Amore (70) pesquisando limite mínimo de sensibilidade para odor observaram decréscimo significativo na sensibilidade, considerando 22 anos a idade média para uma perda de 50% da sensibilidade. Krum (45) aconselha a faixa etária de 20 a 50 anos.

O efeito do sexo foi estudado por Johansson e Drake (39) que concluíram não haver diferença ao nível de significância maior que 5%. Não foram observadas influências do sexo quanto ao gosto, por Taylor (66), e gosto e odor por Krum (45), entretanto Pangborn (59) pesquisando limites mínimos de sensibilidade de gosto observou que as mulhe-

res apresentaram maior sensibilidade que os homens. Tilgner e Barylko-Pikielna (68) encontraram maior sensibilidade para as mulheres quanto à doçura e salinidade não encontrando diferença significativa entre ambos os sexos para acidez.

Qualquer influência do sexo ou fumo na determinação dos limites mínimos de sensibilidade de odor foi considerada desprezível (63) e Krum (45) também relatou a falta de provas contra a não influência do fumo.

Crocker e Sjöstiön (25) estudando a palatabilidade da água numa planta de purificação, ressaltaram a importância da detecção dos limites mínimos de sensibilidade ("thresholds") nos testes sensoriais, que permitem determinar mudanças de gosto e odor na água, possibilitando desta forma o uso de medidas preventivas.

Bennett, Spahr e Dodds (14) e Mitchell (52) reportaram interferência do barulho sobre a sensibilidade do provador.

A possível influência da saliva foi pesquisada por Salmon e Blakeslee (63) estudando variações de "thresholds" para PTC não notaram aumento da sensibilidade dos "thresholds", embora Pangborn (60) empregando estímulo físico tenha observado pequeno efeito do fluxo salivar sobre soluções doce e salgada, aumentando grandemente para substâncias ácidas e irritantes.

O efeito do pH sobre as diferenças mínimas de concentração para vários constituintes de vinhos foi estudado por Berg e colab. (16) não sendo notado efeito entre soluções água-ácido representadas pela água destilada e os ácidos láctico, succínico, málico, tartárico, bem como,

o tartarato ácido de potássio em concentrações variáveis e diferentes faixas de pH. Soluções de glicina a 5% e pH entre 6,3 e 7,1 (adição de NaOH) foram detectadas como fracamente ácidas por 12 provadores de um total de 29 (21). Galvin (29) investigou o gosto de 20 aminoácidos diferentes, nas formas L ou DL, empregando soluções de cloreto de sódio a 1,0% e pH 7,0 e concluiu ser a maioria de gosto doce não desagradável, como se observa no Quadro 1. Solms, citado por Beets (13) estudou o gosto dos enantiômeros de 18 aminoácidos em soluções aquosas e pH 6,0 caracterizando tres grupos: 1) sem gosto; 2) com gosto complexo e 3) gostos doce e amargo, que constam do Quadro 2.

2.6. - Métodos de avaliação

A determinação de valores dos limites mínimos de sensibilidade de diferença e de gosto tem sido realizada através de métodos psicofísicos, mas nem sempre com aplicação de uma metodologia estatística.

2.6.1 - Sensoriais. Todas as determinações de limites mínimos de sensibilidade de diferença e de gosto feitas por diferentes autores, foram realizadas através da técnica de diluição. Esta técnica determina a menor quantidade de uma substância que pode ser detectada quando em mistura com um material padrão, geralmente a água destilada (17) e consiste em preparar uma série de diluições, níveis de concentrações crescentes ou decrescentes em escala logarítmica ou não, de cada substância a ser estudada. As diferentes concentrações são testadas contra padrão por uma equipe de provadores.

Dos métodos psicofísicos mais comumente emprega-

dos pelos pesquisadores estão incluídos: estímulo único (26), estímulo constante (39,65), método dos limites (27, 71), pareado (12,26,59), triangular (15,26) variando os resultados de acordo com a metodologia empregada e condições dos testes.

Pangborn (61) estudou o efeito da metodologia empregada através de dois métodos psicofísicos: estímulo único e estímulo pareado e observou que a apresentação única ou em uma série de quatro (dois pares) não alterou significativamente as respostas, embora tenha encontrado ser o método pareado levemente mais sensível que o estímulo único, no estudo do efeito do ácido cítrico sobre a doçura da sacarose. Ainda a mesma autora estudando metodologia reportou (60) o emprego dos métodos psicofísicos: "threshold", escala de valores e escala hedônica obtendo resultados inteiramente diferentes para cada método.

Estudos foram realizados por Richter e MacLean (62) sobre o efeito da metodologia empregada, através de quatro métodos: método de gota, de goles e pareado nºs 1 e 2. O método de gota consistiu na aplicação de tres gotas na lingua do provador, tornando-se difícil em todas as provas a colocação da amostra na mesma área, advindo disso uma desvantagem. No método de goles o provador engole toda a amostra (10 ml) facilitando o contacto da solução com todas as partes da lingua e da boca, não permitindo comparação com a água destilada, tornando difícil perceber uma variação no gosto. Isto foi eliminado pela aplicação do método pareado nº 1, pelo qual a comparação das soluções salinas com água destilada foi possível. No método pareado nº 2 os provadores provaram as soluções quantas vezes necessárias para identificação do gosto de cada solução, tendo alcançado resultados mais sensíveis, cujos valores de "thresholds" podem ser observados no Quadro 6.

QUADRO 6. LIMITES MÍNIMOS DE SENSIBILIDADE DE DIFERENÇA E DE GOSTO PARA CLORETO DE SÓDIO ATRAVÉS DE DIFERENTES MÉTODOS (VALORES EM PORCENTAGEM).

Métodos	Dif. de gosto	Faixa de variação	Gosto salgado	Faixa de variação
Gota	0,135	0,045-0,225	0,192	0,120-0,350
Goles	0,047	0,015-0,150	0,167	0,040-0,400
Pareado nº 1	0,037	0,007-0,080	0,080	0,030-0,300
Pareado nº 2				
Média	0,016	0,007-0,060	0,087	0,020-0,250
Mediano	0,010		0,065	

Fonte: Richter, C.P. e MacLean, A. American J. Physiology 126(1): 1-6, May, 1939.

Linker, Moore e Galanter (48) apresentaram um quadro onde diversos autores obtiveram diferentes valores médios de "thresholds" para sacarose através do emprego de vários métodos, registrados no Quadro 7, comprovando assim o efeito da metodologia sobre os diferentes resultados obtidos.

2.6.2 - Estatísticos. Constatou-se através da revisão dos diversos trabalhos consultados que o delineamento estatístico mais empregado foi Blocos ao Acaso (26,39, 61,65). Os resultados de modo geral, tratados pelas análises: J.N.D. (Justa diferença notada) (32,39); H.S.D. (Diferença estatística honesta) (50) e Variância (50,65,71).

QUADRO 7. RESUMO DE MÉTODOS E RESULTADOS DE ESTUDOS DE "THRESHOLDS" ABSOLUTO DA SACAROSE, PARA PESSOAS

Investigadores	Apresentação do estímulo	Métodos	"Thresholds" médios	
			Mols . 10 ³	%
Richter e Campbell (1940)	Não quantificado	Método de Limites. Soluções pareadas de sacarose-água destilada. Ascendendo ao ponto onde o provador reporta "diferente". Descendendo ao ponto mais baixo onde o provador reporta "diferente".	4,97	0,17
Fabian e Blum (1943)	Goles de 5 ml	Métodos de Limites. Duas soluções (uma água destilada). Duas séries ascendentes. Média dos primeiros testes em que o provador reportou "diferente".	16,1	0,55
Janowitz e Grossman (1949)	Não quantificado	Método Estímulo Constante. Se o par julgado "diferente" o provador indicava o gosto percebido.	14,9 (antes do almoço)	0,51
Schutz e Pilgrim (1957)	Goles de 6 ml	Método Estímulo Constante	10,2	0,35
Yensen (1959)	Goles de 8 ml	Método de Limites. Quatro séries ascendentes. Uma solução. Provador reportava ausência ou presença de sacarose. Duas respostas sucessivas positivas. O "threshold" foi no ponto médio entre a mínima e mais próxima concentração	8,2 (teste ± às 11:30h)	0,28
Furchtgott e Friedman (1960)	Goles de 1 ml	Método de Limites. Três séries ascendentes. Escolha forçada da sacarose de uma das quatro soluções (três de água de torneira ou destilada). Duas identificações corretas de soluções sucessivas.	8,2 (antes do almoço)	0,28

Fonte: Linker, E.; Moore, M.E. & Galanter, E. J.Experimental Psychology, 67(1): 59-66, 1964.

Berg e colab. (15) avaliando a diferença de intensidade pelo método triangular, determinaram como "threshold" o nível de 0,3% de sacarose, através da porcentagem de respostas corretas (50% ou mais), baseando também em sistemas binomiais de acordo com Lockhart (49) assumiram $P_c = k (P_o - P_e)$ onde k é uma constante e depende do tipo de teste binomial usado; P_o = porcentagem de respostas corretas observadas no teste; P_e = porcentagem de respostas obtidas ao acaso e P_c = porcentagem de respostas totais. No teste triangular, $k = 3/2$ e $P_e = 33,3\%$, nas seguintes condições: quando P_c é zero $P_o = P_e$ e quando $P_c = 100\%$, $P_o = 100\%$. Substituindo na equação: $P_c = 3/2 (P_o - 33,3)$ foi adotado como "threshold" $P_c = 50\%$.

Yensen (71) aplicou análise de variância e teste t encontrando diferença ao nível de significância de 0,01 entre os horários para as quatro qualidades de gosto.

Schutz e Pilgrim (65) determinaram sensibilidade diferencial obtendo a relação de Weber de 0,17 (doce), 0,30 (amargo), 0,24 (ácido) e 0,15 (salgado).

Gregson (32) considerou o J.N.D. como um bom método para avaliação de "thresholds" ressaltando, porém, a introdução de erros pela escala de valores e observados na análise de variância.

Johansson e Drake (39) consideraram a relação de Weber na faixa de 0,070-0,103 para concentração 0,30% e 0,053-0,121 para concentração 0,80%, encontrando variação total de 1,11 para os quatro laboratórios, usando NaCl.

Maga (50) através da análise de variância e H.S.D. encontrou diferenças significativas, quando associou sabor-cor, para intervalos não sobrepostos do H.S.D.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos para determinação dos limites mínimos de sensibilidade ("thresholds") de diferença e de gosto, bem como da qualidade de gosto para 21 aminoácidos em estudo, foram conduzidos no laboratório de Análise Sensorial da Faculdade de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas.

3.1 - Material e preparo das soluções

O material empregado nos testes sensoriais foram 21 L-aminoácidos com grau de pureza 90-100%, importados dos Estados Unidos através das firmas Sigma Chemical Company e Koch-Light Laboratories, Ltd. assim denominados: L-glicina, L-alanina, L-valina, L-leucina, L-isoleucina, L-serina, L-treonina, L-cistina, L-metionina, L-fenilalanina, L-tirosina, L-triptofânio, ácido L-aspártico, ácido L-glutâmico, L-asparagina, L-glutamina, L-lisina, L-arginina, L-histidina, L-prolina e L-hidroxiprolina.

Na primeira série de experimentos as soluções foram preparadas com água destilada não deionizada, empregando-se a técnica de diluição em concentrações crescentes (escala logarítmica): 0,5000 - 0,2500 - 0,1250 - 0,0625 e 0,0312 (g/100 ml) representando uma série inicial além da água destilada, tomada como controle, correspondendo aos tratamentos 2,3,4,5,6 e 1, respectivamente, perfazendo um total de 12 tratamentos para as soluções com e sem ajuste de pH (CApH e SApH). As cinco soluções de concentrações diferentes de cada aminoácido foram colocadas em bêqueres numerados de 1 a 5, contendo cada um 320 ml de

água destilada, representando assim as cinco soluções aquosas do aminoácido a ser testado juntamente com a água destilada.

Para ajuste de pH empregaram-se soluções 0,1N de HCl e NaOH consistindo de uma técnica padronizada: adição do ácido ou da base até obtenção de pH entre 5,5-6,0 uma vez que o pH dos alimentos proteicos situa-se nessa faixa.

Entretanto, devido a natureza dos aminoácidos L-asparagina, L-glutamina, L-cistina e ácido L-glutâmico, houve necessidade de aumentar ou diminuir as concentrações para os dois primeiros, ao passo que para os dois últimos foi preciso diminuí-las.

Pelo fato de que L-asparagina e L-glutamina não apresentaram diferenças de intensidade de gosto quando testadas nas concentrações escolhidas foram aumentadas para 0,7500 - 0,3750 - 0,1875 - 0,0937 e 0,0468 (g/100 ml).

Em virtude da L-cistina somente apresentar a característica de dissolução em meio alcalino a quente foi aquecida em banho-maria (98°C) e adicionado NaOH 1N, até completa dissolução. Com ajuste de pH a 5,5 a solução 0,5000% tornou-se bastante leitosa precipitando-se, o mesmo acontecendo com 0,2500%. Esse fato foi determinante para que esses dois níveis fossem desprezados, sendo tomada a concentração 0,1250% como inicial.

Pelo fato do ácido L-glutâmico apresentar a característica de gosto ácido bastante acentuado houve necessidade de diminuir as concentrações da série inicial para 0,2500 - 0,1250 - 0,0625 - 0,0312 - 0,0156%.

Na segunda série de experimentos todos os aminoácidos excetuando L-alanina, L-leucina, L-tirosina, L-asparagina e L-glutamina, foram também testados em cinco concentrações onde o nível de maior concentração correspondeu

ao nível mediano da série inicial 0,1250 - 0,0625 - 0,0312 0,0156 e 0,0078% embora, para os ácido L-glutâmico e L-cistina tenham sido empregadas duas séries diferentes de concentrações: 0,0625 - 0,0312 - 0,0156 - 0,0078 - 0,0039% e 0,0312 - 0,0156 - 0,0078 - 0,0039 e 0,0019%, respectivamente.

Na terceira série de experimentos os aminoácidos L-isoleucina, L-cistina, L-metionina, L-triptofânio, ácido L-aspártico, ácido L-glutâmico e L-arginina foram testados em cinco concentrações, onde o nível de maior concentração correspondeu ao nível de menor concentração da segunda série de experimentos 0,0078 - 0,0039 - 0,0019 - 0,0009 e 0,0004%, embora, para L-cistina e ácido L-glutâmico tenham sido empregadas duas séries diferentes de concentrações: 0,0019 - 0,0009 - 0,0004 - 0,0002 - 0,0001% e 0,0039 - 0,0019 - 0,0009 - 0,0004 e 0,0002, respectivamente.

3.2 - Fatores considerados importantes nos testes realizados.

3.2.1 - Equipe. Testes preliminares foram realizados com a finalidade de selecionar a equipe de provadores que foi constituída de 18 indivíduos da Faculdade de Tecnologia de Alimentos, dos quais 8 foram selecionados, considerando a acuidade sensorial através da porcentagem de respostas corretas (50% ou mais), nas mesmas concentrações da série inicial para os seguintes aminoácidos: L-alanina, L-cistina, L-metionina, L-fenilalanina, ácidos L-aspártico e L-glutâmico, L-asparagina e L-histidina.

A seleção foi baseada não somente nos testes sensoriais, mas consideraram-se outros fatores como consistência nos julgamentos, memória sensorial, idade, sexo, in

terêsse por parte dos provadores e outros que Garruti (30) chamou de decálogo seletivo.

Não foi possível obter-se igual número de provadores representantes dos sexos masculino e feminino, sendo a equipe constituída por seis homens e duas mulheres.

A faixa etária dos membros da equipe situou-se entre 20-25 anos de idade.

Foi notado grande interêsse por parte dos provadores durante a realização dos testes sensoriais. Foram realizadas reuniões no início de cada série de aminoácidos estudados com a equipe, para esclarecimento de dúvidas surgidas, instruções e explicações sobre a importância do estudo e da colaboração de cada indivíduo.

Após os testes os provadores recebiam bolacha, ou suco, ou cafezinho com duas finalidades: manter o interesse e eliminar o sabor remanescente na língua ("after taste") quando uma das soluções apresentava sabor desagradável.

3.2.2 - Posição das amostras (sorteio). Para cada teste sensorial foi seguido o sorteio do delineamento em Blocos ao Acaso pré-estabelecido, determinando a posição das amostras na bandeja a ser servida ao provador. A finalidade do sorteio é evitar o vício de posição das amostras proporcionando memorização por parte do provador, introduzindo erros e prejudicando os resultados obtidos.

Dificultou-se ao provador a ordenação das amostras pelo fato da amostra controle 1 (água destilada) não ter sido apresentada em uma posição constante e conhecida.

3.2.3 - Horário. Os testes foram realizados nos períodos de 10:00 às 12:00 horas e 13:00 às 15:00 horas, durante a semana, excetuando-se as segundas-feiras porque a experiência tem demonstrado não ser aconselhável devido a fatores psicológicos que influem na diminuição da sensibilidade (53).

3.3 - Métodos

3.3.1 - Método sensorial. Dos métodos psicométricos um dos mais conhecidos e práticos é o método de ordenação, permitindo de maneira fácil a avaliação de um grande número de estímulos pela comparação de um com outro. A ordenação exige do provador o máximo de discriminação, como o método pareado, e assim fornece toda informação discriminativa que se pode obter dos provadores. Qualquer estímulo que possa ser ordenado em série pode ser avaliado. De certa forma, de um lado assemelha-se ao método de categorias sucessivas e de outro ao método pareado desde que cada estímulo seja comparado com todos os outros, diferenciando, no entretanto, por apresentar o método de ordenação a possibilidade de comparação múltipla, não ocorrendo o mesmo na comparação pareada. Os provadores devem ordenar os estímulos (as amostras) em ordem crescente ou decrescente de intensidade de um determinado parâmetro sensorial (34).

O método é simples e permite a apresentação de várias amostras de uma vez, cujo número depende da natureza do produto e da equipe. O método apresenta maior eficiência com a introdução de amostra controle, influenciando a posição desta sobre os resultados obtidos. A principal desvantagem do método é não medir o grau de diferença entre as amostras forçando o provador a se decidir por uma das

amostras, ainda que não consiga detectar nenhuma diferença entre elas, obtendo-se excelentes resultados quando existe grande diferença entre as amostras (4).

Estudos comparativos realizados por Tompkins e Pratt (69) indicaram maior sensibilidade de julgamentos para ordenação que para escala hedônica (nove pontos) e escala descritiva (cinco pontos), na avaliação da qualidade de sucos cítricos.

No presente trabalho a avaliação de "thresholds" de diferença e de gosto bem como a caracterização da qualidade de gosto para 21 aminoácidos foi realizada empregando-se o método de ordenação através da técnica de diluição que determina a menor quantidade de uma substância que pode ser detectada quando misturada com um material padrão (17).

A escolha do método foi devida a tres fatores limitantes, a saber: 1) o material empregado foi representado por aminoácidos de preço elevado e de difícil aquisição; 2) o tempo e material gastos para realização dos testes seriam menores do que em outros testes sensoriais para medir diferenças e 3) o método permitiu a apresentação das seis soluções de uma só vez.

A técnica de diluição consistiu na apresentação de seis soluções correspondentes à água destilada e mais cinco concentrações crescentes em escala logarítmica, - preparadas duas horas antes de cada teste com água destilada, a frio, à temperatura ambiente variando entre 22 a 25°C.

O teste sensorial consistiu na apresentação de 15 a 20 ml da solução, contidos em 12 bêqueres de pyrex, representando seis níveis de concentração, codificados com números e dispostos em duas bandejas de acordo com sorteio

pré-estabelecido, apresentando cada bandeja a mesma numeração da ficha correspondente. O modelo de ficha empregado nos experimentos para soluções aquosas de aminoácidos, com e sem ajuste de pH pode ser observado na Figura 1.

Utilizou-se o delineamento em Blocos ao Acaso com duas repetições de seis amostras cada, apresentadas diariamente a cada provador da equipe que após o término da primeira bandeja (primeira repetição) recebia a segunda bandeja (segunda repetição), seguindo sorteio respectivo e totalizando 16 determinações uma vez que oito provadores, foram tomados como repetição. As provas foram realizadas em cabines individuais, com luz controlada (filtro vermelho para mascarar diferenças de coloração entre soluções), não havendo fixação de tempo para a duração de cada teste.

No método proposto as medidas de intensidade e caracterização da qualidade de gosto dos aminoácidos foram realizadas pelos provadores ordenando as soluções em ordem decrescente, bem como indicando a qualidade de gosto para cada aminoácido nas diferentes concentrações, tendo a ordenação correta a seguinte sequência: 1, 2, 3, 4, 5 e 6. A inovação do método consistiu no fato de ser a água destilada servida ao provador juntamente com as demais soluções em lugar de ser servida separadamente, como uma amostra controle, não sendo também dito aos provadores estarem provando a água destilada. Esses dois fatores contribuíram para dificultar a ordenação das soluções.

3.3.2 - Método estatístico. As ordenações obtidas por cada provador foram transformadas em valores da Tabela XX de Fischer e Yates (28) e a transformação efetuada obedeceu o seguinte critério: as amostras que receberam a primeira, segunda, terceira, quarta, quinta e sexta or

Nome: _____ Data: __/__/____

Série: _____

Prove, por favor, as amostras apresentadas e indique o gosto percebido e a intensidade do gosto em ordem decrescente usando a ordenação abaixo:

<u>Nº da</u> <u>Amostra</u>	<u>Sabor Percebido</u>	<u>Intensidade</u> <u>do Sabor</u> <u>Nº da Amostra</u>
_____	_____	+ intenso _____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	- intenso _____
_____	_____	_____

FIGURA 1. Ficha utilizada nos experimentos com soluções a quosas de aminoácidos com e sem ajuste de pH.

denação foram transformadas nos valores: +1,27; +0,64; +0,20; -0,20; -0,64 e -1,27, respectivamente.

Análise de variância (46,47) foi aplicada onde testou-se a hipótese nula (H_0) de não diferença entre soluções e a hipótese alternativa (H_1) de haver diferença entre soluções. Desde que a hipótese alternativa (H_1) foi aceita o teste de significância de Duncan (36) foi empregado entre as médias obtidas.

A determinação dos valores de "thresholds" de diferença e de gosto foi assim obtida: a) a menor concentração que diferisse da água destilada, ao nível de significância de 5% através do valor crítico de Duncan, considerou-se "threshold" de diferença; b) a menor concentração que diferisse daquela do "threshold" de diferença, ao nível de significância de 5% através do valor crítico de Duncan, seria "threshold" de gosto. As médias de cada solução foram ordenadas em escala crescente de intensidade (1, 2, 3, 4, 5, 6) e comparadas com a ordenação indicada pelos provadores como ponto de partida para aplicação do teste de Duncan, cujo procedimento foi o seguinte: definiu-se

$$\theta = \bar{y}_1 - \bar{y}_i \quad \text{e} \quad \Delta_i = \frac{Z_i \cdot S}{\sqrt{r}} \quad \text{onde } \theta = \text{diferen-}$$

ças de médias; $\bar{y}_1$ = média do tratamento 1 (água destilada); $\bar{y}_i$ = médias dos tratamentos 2, 3, 4, 5, 6 (diferentes níveis de concentração para cada aminoácido); Δ_i = variâncias do número de médias ordenadas no contraste; Z_i = valores críticos obtidos na Tabela de Duncan, com 90 graus de liberdade para o resíduo; S = desvio padrão (análise de variância); r = número de repetições. Comparou-se θ_i com Δ_i e adotou-se que: a) $\theta_i > \Delta_i$ o teste era significativo, indicando a existência de diferença

entre as amostras; b) quando $\theta_i < \Delta_i$ o teste não era significativo, indicando a ausência de diferença entre as amostras.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Primeira série de experimentos

Os resultados obtidos na primeira série de experimentos são apresentados em seguida.

a - Valores médios e variâncias

No Quadro 8 estão registrados os valores médios e variâncias para seis níveis de concentração dos 21 aminoácidos, em soluções aquosas sem e com ajuste de pH.

Para facilitar a análise dos dados, as médias obtidas para cada concentração foram ordenadas em escala crescente de intensidade (1, 2, 3, 4, 5, 6) e quando comparadas com a ordenação indicada pelos provadores foram sempre semelhantes, com exceção da L-glutamina que obteve a seguinte ordenação: 1, 3, 5, 2, 4, 6.

b - Medida e efeito do pH

Os valores de pH das soluções aquosas para 21 aminoácidos, sem ajuste de pH são apresentados no Quadro 9. As soluções aquosas sofreram ajuste de pH cuja faixa de variação compreendeu 5,50 - 6,00.

A influência do ajuste de pH sobre os valores de "thresholds" foi estudada através da comparação entre as variâncias das soluções sem e com ajuste de pH que podem ser observadas através do Quadro 8. De modo geral não foi observada influência do pH, com raras exceções: para L-glicina e L-histidina as variações obtidas com ajuste de pH foram menores que as obtidas sem ajuste de pH; en-

QUADRO 8. VALORES E VARIÂNCIAS DAS SOLUÇÕES AQUOSAS SEM E COM AJUSTE DE pH PARA 21 AMINOÁCIDOS (1ª SÉRIE)

A M I N O Á C I D O S										
Concentrações	L-glicina		L-alanina		L-valina		L-leucina		L-isoleucina	
%	SApH	CAPh	SApH	CAPh	SApH	CAPh	SApH	CAPh	SApH	CAPh
água	-0,872	-1,191	-0,874	-1,060	-1,002	-0,954	-0,728	-0,849	-0,899	-0,911
0,0312	-0,227	-0,462	-0,648	-0,596	-0,240	-0,474	-0,582	-0,568	-0,502	-0,341
0,0625	-0,659	-0,329	-0,369	-0,260	-0,236	-0,395	-0,594	-0,314	-0,316	-0,174
0,1250	0,103	0,128	-0,019	0,189	-0,124	0,073	0,103	-0,044	-0,110	-0,241
0,2500	0,477	0,585	0,640	0,614	0,333	0,586	0,532	0,505	0,557	0,398
0,5000	1,178	1,270	1,270	1,112	1,270	1,164	1,270	1,270	1,270	1,270
Variâncias	0,222	0,073	0,139	0,165	0,225	0,201	0,176	0,197	0,182	0,234

A M I N O Á C I D O S										
Concentrações	L-serina		L-treonina		L-metionina		L-fenilalanina		L-tirosina	
%	SApH	CAPh	SApH	CAPh	SApH	CAPh	SApH	CAPh	SApH	CAPh
água	-0,926	-0,993	-1,191	-1,178	-1,191	-0,951	-1,099	-0,939	-0,821	-1,058
0,0312	-0,516	-0,277	-0,544	-0,492	-0,547	-0,596	-0,556	-0,373	-0,690	-0,504
0,0625	-0,538	-0,319	-0,114	-0,207	-0,175	-0,378	-0,299	-0,408	-0,169	-0,021
0,1250	0,125	-0,239	0,299	0,268	0,294	0,297	0,125	-0,163	0,050	0,125
0,2500	0,624	0,557	0,598	0,446	0,388	0,398	0,560	0,652	0,598	0,715
0,5000	1,231	1,270	0,952	1,164	1,231	1,231	1,270	1,231	1,032	0,742
Variâncias	0,140	0,174	0,185	0,147	0,111	0,170	0,102	0,172	0,270	0,297

A M I N O Á C I D O S										
Concentrações	L-triptofânio		Ác.L-aspartico		L-lisina		L-arginina		L-histidina	
%	SApH	CApH	SApH	CApH	SApH	CApH	SApH	CApH	SApH	CApH
água	-1,152	-1,191	-1,270	-0,398	-1,191	-1,085	-1,032	-0,942	-1,006	-1,112
0,0312	-0,636	-0,556	-0,585	-0,742	-0,664	-0,715	-0,611	-0,821	-0,394	-0,639
0,0625	-0,272	-0,337	-0,230	-0,353	-0,152	-0,232	-0,389	-0,048	-0,369	-0,334
0,1250	0,150	0,175	0,175	0,061	0,125	0,233	0,379	0,008	0,125	0,230
0,2500	0,640	0,679	0,719	1,148	0,876	0,609	0,462	0,532	0,492	0,585
0,5000	1,270	1,231	1,191	0,966	1,006	1,191	1,191	1,270	1,152	1,270
Variâncias	0,048	0,049	0,026	0,414	0,079	0,095		0,118	0,219	0,063

A M I N O Á C I D O S									
Concentrações	L-prolina		L-hidroxiprolina		L-cistina		Concentrações	AMINOÁCIDO L-cistina	
%	SApH	CApH	SApH	CApH	SApH		%	CApH	
água	-1,270	-1,270	-0,914	-1,113	-1,231		água	-0,951	
0,0312	-0,428	-0,532	-0,674	-0,605	-0,240		0,0078	-0,581	
0,0625	-0,235	-0,183	-0,419	-0,290	-0,158		0,0156	-0,380	
0,1250	0,103	0,158	0,098	0,125	0,142		0,0312	0,297	
0,2500	0,599	0,664	0,679	0,612	0,665		0,0625	0,490	
0,5000	1,231	1,164	1,231	1,270	0,794		0,1250	1,191	
Variâncias	0,069	0,066	0,119	0,077	0,259			0,113	

Cont. QUADRO 8.

AMINOÁCIDO		A M I N O Á C I D O S							
Concentrações		Ác. L-glutâmico		Concentrações		L-asparagina		L-glutamina	
%	SAPh	CAPh		%	SAPh	CAPh	SAPh	CAPh	
água	-1,231	-1,072		água	-0,770	-0,731	-1,085	-1,231	
0,0156	-0,679	-0,400		0,0468	-0,304	-0,104	-0,466	0,159	
0,0312	-0,150	-0,153		0,0937	-0,433	-0,370	0,024	-0,130	
0,0625	0,244	0,100		0,1875	-0,017	-0,063	0,148	0,291	
0,1250	0,691	0,492		0,3750	0,452	0,262	0,307	-0,110	
0,2500	1,124	1,032		0,7500	1,072	1,005	1,072	1,021	
Variações	0,057	0,262			0,337	0,419	0,260	0,254	

QUADRO 9. VALORES DE pH DAS SOLUÇÕES AQUOSAS PARA 21 AMINOÁCIDOS NOS CINCO NÍVEIS DE CONCENTRAÇÃO, SEM AJUSTE DE pH.

Aminoácidos	Níveis de concentração (%)				
	0,0312	0,0625	0,1250	0,2500	0,5000
L-glicina	5,30	5,35	5,35	5,35	5,40
L-alanina	5,90	5,90	6,00	6,10	6,40
L-valina	4,90	4,70	4,65	4,65	4,50
L-leucina	5,70	5,75	5,80	5,80	5,85
L-isoleucina	5,80	6,00	6,00	6,10	6,40
L-serina	5,50	5,55	5,60	5,60	5,60
L-treonina	5,25	5,19	5,12	5,01	5,00
L-cistina	12,00	12,00	12,30	12,50	13,00
L-metionina	5,32	5,40	5,50	5,50	5,60
L-fenilalanina	5,10	5,10	5,30	5,40	5,40
L-tirosina	5,35	5,35	5,35	5,35	5,40
L-triptofânio	5,90	5,80	5,79	5,75	5,61
Ácido L-aspartico	3,30	3,01	2,99	2,81	2,75
Ácido L-glutâmico	4,00	3,85	3,63	3,20	3,15
L-asparagina	5,20	5,00	4,60	4,40	4,00
L-glutamina	5,20	5,15	4,87	4,78	4,15
L-lisina	9,80	9,85	9,85	9,90	9,90
L-arginina	10,40	10,50	10,55	10,80	11,00
L-histidina	7,40	7,50	7,71	7,91	8,00
L-prolina	5,39	5,40	5,45	5,50	5,58
L-hidroxiprolina	5,30	5,35	5,40	5,50	5,70

pH médio da água 6,00

tretanto, o inverso foi verificado com ácido L-glutâmico que apresentou variância menor em relação ao sem ajuste de pH. Os demais aminoácidos não apresentaram diferenças entre as variâncias que pudessem indicar a existência de efeito do ajuste de pH sobre os valores de "thresholds" obtidos.

c - Concentrações mínimas de diferença detectadas

No Quadro 10 (1ª série de experimentos) podem ser observados os valores das concentrações mínimas de diferença detectadas para os 21 aminoácidos, sem e com ajuste de pH, em porcentagem e molaridade, obtidos pela comparação da média de cada concentração com a da água destilada, através do valor crítico de Duncan ($Z_i = 2,73$), ao nível de significância de 5%.

Esses valores revelaram que as concentrações mínimas para sensibilidade de diferença corresponderam à concentração de 0,0312% na maioria dos aminoácidos, excetuando-se L-alanina e L-tirosina que alcançaram o valor 0,0625% e L-leucina 0,1250%, os quais corresponderam ao dobro e quádruplo da concentração mínima inicial 0,0312%.

Desde que os "thresholds" variam de substância para substância, era natural que os níveis de concentração, variassem entre os aminoácidos. No nosso estudo esse fato foi comprovado pela L-cistina e ácido L-glutâmico, cujas concentrações mínimas detectadas foram as menores da série, isto é, 0,0078% (CApH) e 0,0156% (SApH e CApH), respectivamente. No caso de L-asparagina e L-glutamina observou-se o inverso e as concentrações mínimas detectadas aumentaram, correspondendo ao valor de 0,0468% (menor nível de concentração da série).

QUADRO 10. CONCENTRAÇÕES MÍNIMAS DE DIFERENÇA DETECTADAS PARA 21 AMINOÁCIDOS SEM E COM AJUSTE DE pH EM PORCENTAGEM E MOLARIDADE. (1ª SÉRIE)

Aminoácidos	Valores			
	SApH		CApH	
	%	$M \times 10^{-2}$	%	$M \times 10^{-2}$
L-glicina	0,0312	0,4161	0,0312	0,4161
L-alanina	0,0625	0,7014	0,0312	0,3507
L-valina	0,0312	0,2666	0,0312	0,2666
L-leucina	0,1250	0,9529	0,0625	0,4764
L-isoleucina	0,0312	0,2381	0,0312	0,2381
L-serina	0,0312	0,2969	0,0312	0,2969
L-treonina	0,0312	0,2624	0,0312	0,2624
L-cistina(*)	0,0312	0,1298	0,0078	0,0325
L-metionina	0,0312	0,2094	0,0312	0,2094
L-fenilalanina	0,0312	0,1892	0,0312	0,1892
L-tirosina	0,0625	0,3449	0,0312	0,1725
L-triptofânio	0,0312	0,1530	0,0312	0,1530
L-ácido aspártico	0,0312	0,2348	0,2500	1,8781
L-ácido glutâmico	0,0156	0,1062	0,0156	0,1062
L-asparagina	0,0468	0,3122	0,0468	0,3122
L-glutamina	0,0468	0,3207	0,0468	0,3207
L-lisina	0,0312	0,2137	0,0312	0,2137
L-arginina	0,0312	0,1794	0,0625	0,3588
L-histidina	0,0312	0,2014	0,0312	0,2014
L-prolina	0,0312	0,2715	0,0312	0,2715
L-hidroxiprolina	0,0312	0,2383	0,0312	0,2383

(*) sem total dissolução.

d - Concentrações mínimas de gosto detectadas

No Quadro 11 encontram-se os valores das concentrações mínimas de gosto detectadas para os 21 aminoácidos, sem e com ajuste de pH, em porcentagem e molaridade. Esses valores foram obtidos pela comparação da média de cada concentração com aquela correspondente à concentração mínima de diferença detectada, através do valor crítico de Duncan ($Z_1 = 2,73$), ao nível de significância de 5%.

As concentrações mínimas de gosto foram detectadas em concentrações imediatamente acima daquelas mínimas de diferença ou em níveis ainda mais elevados.

4.2 - Segunda série de experimentos

Pelo fato das concentrações mínimas de diferença serem detectadas, em geral, ao nível mais baixo da primeira série - 0,0312% - houve necessidade de realizar uma segunda série de experimentos sensoriais para 16 aminoácidos, empregando níveis de concentração menores que 0,0312% e que, provavelmente, forneceriam valores de "thresholds" mais baixos, cujos resultados incluímos nesta segunda série.

a - Valores médios e variâncias

No Quadro 12 (2ª série de experimentos) estão registrados os valores médios e variâncias das soluções aquosas para 16 aminoácidos em cinco níveis de concentração, apenas sem ajuste de pH uma vez que, de modo geral, não foi observada influência do pH sobre as concentrações mínimas detectadas.

QUADRO 11. CONCENTRAÇÃO MÍNIMAS DE GOSTO DETECTADAS PARA 21 AMINOÁCIDOS SEM E COM AJUSTE DE pH, EM PORCENTAGEM E MOLARIDADE. (1ª SÉRIE)

Aminoácidos	Valores			
	SApH		CApH	
	%	$M \times 10^{-2}$	%	$M \times 10^{-2}$
L-glicina	0,0625	0,8332	0,1250	1,6644
L-alanina	0,1250	1,4030	0,0625	0,7014
L-valina	0,5000	4,2662	0,1250	1,0665
L-leucina	0,2500	1,9057	0,5000	3,8115
L-isoleucina	0,1250	0,9527	0,5000	3,8109
L-serina	0,1250	1,1893	0,5000	4,7557
L-treonina	0,0625	0,5248	0,0625	0,5248
L-cistina	0,0625	0,2601	0,0312	0,1299
L-metionina	0,0625	0,4189	0,1250	0,8378
L-fenilalanina	0,0625	0,3783	0,5000	3,0266
L-tirosina	0,2500	1,3798	0,0625	0,3449
L-triptofânio	0,0625	0,3060	0,0625	0,3060
Ácido L-aspartico	0,0625	0,4695	0,0625	0,4695
Ácido L-glutâmico	0,0312	0,2121	0,5000	3,3990
L-asparagina	0,7500	4,9957	0,7500	4,9957
L-glutamina	0,0937	0,6411	0,5000	3,4211
L-lisina	0,0625	0,4275	0,0625	0,4275
L-arginina	0,5000	2,8703	0,2500	1,4351
L-histidina	0,5000	3,2225	0,0625	0,4028
L-prolina	0,0625	0,5430	0,0625	0,5430
L-hidroxiprolina	0,0625	0,4766	0,0625	0,4766

QUADRO 12. VALORES MÉDIOS E VARIÂNCIAS DAS SOLUÇÕES AQUOSAS, SEM AJUSTE DE pH, PARA 16 AMINOÁCIDOS
(2ª SÉRIE)

Concentrações	A M I N O Á C I D O S						
	L-glicina	L-valina	L-isoleucina	L-serina	L-treonina	L-metionina	L-fenilalanina
%							
água	-0,079	-0,211	-0,621	0,211	-0,281	-0,819	-0,450
0,0078	-0,039	-0,209	-0,030	0,052	0,027	0,106	-0,239
0,0156	0,185	-0,265	-0,025	-0,450	0,278	0,294	-0,122
0,0312	0,132	0,345	0,159	-0,144	-0,079	-0,158	0,119
0,0625	-0,147	-0,215	0,186	0,174	0,064	0,171	0,199
0,1250	-0,053	0,555	0,331	0,156	0,011	0,406	0,492
Variâncias	0,718	0,621	0,635	0,675	0,704	0,558	0,632

Concentrações	A M I N O Á C I D O S					
	L-triptofânio	Ácido L-aspartico	L-lisina	L-arginina	L-histidina	L-prolina
%						
água	-0,820	-0,398	-0,833	-1,124	-0,756	0,052
0,0078	-0,214	-0,742	-0,635	-0,544	-0,411	-0,092
0,0156	-0,094	-0,328	-0,291	-0,391	-0,025	-0,080
0,0312	-0,356	0,036	-0,151	0,337	0,105	0,119
0,0625	0,598	0,387	0,640	0,584	0,597	-0,000
0,1250	0,886	1,046	1,270	1,139	0,489	-0,000
Variâncias	0,379	0,058	0,160	0,117	0,494	0,728

Cont. QUADRO 12.

Concentrações	AMINOÁCIDO L-hidroxiprolina	Concentrações	AMINOÁCIDO L-cistina	Concentrações	AMINOÁCIDO Ácido L-glutâmico
%		%		%	
água	-0,248	água	-1,231	água	-1,085
0,0078	0,171	0,0019	-0,240	0,0039	-0,518
0,0156	-0,425	0,0039	-0,158	0,0078	-0,354
0,0312	-0,131	0,0078	0,142	0,0156	0,207
0,0625	-0,081	0,0156	0,665	0,0312	0,519
0,1250	0,715	0,0312	0,794	0,0625	1,231
Variâncias	0,590		0,259		0,129

As médias obtidas para cada concentração foram ordenadas e quando comparadas com a ordenação indicada pelos provadores não foram semelhantes, constatando-se dificuldade por parte dos provadores em detectarem os "thresholds" para alguns aminoácidos estudados, o mesmo não ocorrendo, todavia, para a maioria deles.

b - Concentrações mínimas de diferença detectadas

Dos 16 aminoácidos estudados nesta série, foram obtidas concentrações mínimas de sensibilidade para 11 aminoácidos sem ajuste de pH, em porcentagem e molaridade, seguindo critério idêntico ao da primeira série de experimentos e podem ser observadas no Quadro 13.

Através dos resultados dessa segunda série de experimentos comprovou-se a hipótese da possibilidade de obtenção de valores mínimos mais baixos que foram obtidos para L-isoleucina, L-cistina, L-metionina, L-triptofânio, ácidos L-aspartico e L-glutâmico, L-lisina, L-arginina e L-histidina. Entretanto, valores mais elevados foram observados para L-fenilalanina e L-hidroxiprolina, ou seja, 0,0625 e 0,1250%, respectivamente. Em relação a L-glicina L-valina, L-serina, L-treonina e L-prolina não foram obtidos resultados significativos em relação ao controle (água destilada).

c - Concentrações mínimas de gosto detectadas

Os valores das concentrações mínimas de gosto detectadas para os 11 aminoácidos sem ajuste de pH, em porcentagem e molaridade, foram obtidas seguindo o mesmo critério empregado na primeira série de experimentos e constam do Quadro 13.

QUADRO 13. CONCENTRAÇÕES MÍNIMAS DE DIFERENÇA E DE GOSTO DETECTADAS PARA 16 AMINOÁCIDOS SEM AJUSTE DE pH, EM PORCENTAGEM E MOLARIDADE (2ª SÉRIE).

Aminoácidos	Valores			
	Diferença		Gosto	
	%	$M \times 10^{-2}$	%	$M \times 10^{-2}$
L-glicina	-	-	-	-
L-valina	-	-	-	-
L-isoleucina	0,0078	0,0594	-	-
L-serina	-	-	-	-
L-treonina	-	-	-	-
L-cistina	0,0019	0,0079	0,0156	0,0649
L-metionina	0,0078	0,0522	-	-
L-fenilalanina	0,0625	0,3783	-	-
L-triptofânio	0,0078	0,0381	0,1250	0,6121
Ácido L-aspártico	0,0078	0,0582	0,0312	0,2344
Ácido L-glutâmico	0,0039	0,0265	0,0156	0,1060
L-lisina	0,0156	0,1067	0,0625	0,4460
L-arginina	0,0078	0,0447	0,1250	0,0717
L-histidina	0,0156	0,1005	0,0625	0,4028
L-prolina	-	-	-	-
L-hidroxiprolina	0,1250	0,9532	-	-

As concentrações m̃nimas de gosto foram detectadas nas concentrações mais elevadas que aquelas de diferença para L-cistina, L-triptofãnio, ácidos L-aspãrtico e L-glutâmico, L-lisina, L-arginina e L-histidina, não sendo obtidos valores significativos (em relação à concentração m̃nima de diferença) para L-isoleucina, L-metionina, L-fenilalanina e L-hidroxiprolina.

4.3 - Terceira s̃rie de experimentos

Pelo fato das concentrações m̃nimas de diferença serem ainda detectadas no ñvel mais baixo de concentração, realizou-se uma terceira s̃rie de experimentos com apenas sete aminoácidos cujos resultados s̃o abaixo apresentados.

a - Valores m̃dios e variâncias

No Quadro 14 est̃o registrados os valores m̃dios e variâncias para seis ñveis de concentração dos sete aminoácidos, em soluções aquosas sem ajuste de pH.

As m̃dias foram obtidas seguindo crit̃rio idêntico ao utilizado nos experimentos anteriores e quando comparadas com a ordenação indicada pelos provadores não foram semelhantes indicando que as concentrações usadas nessa terceira s̃rie de experimentos estavam abaixo do "threshold" uma vez que os provadores não conseguiram ordenã-las corretamente, com exceção dos aminoácidos L-cistina, ácido L-aspãrtico e L-arginina.

b - Concentrações m̃nimas de diferença detectadas

Dos sete aminoácidos analisados nesta s̃rie foram

QUADRO 14. VALORES MÉDIOS E VARIÂNCIAS DAS SOLUÇÕES AQUOSAS SEM AJUSTE DE pH PARA 7 AMINOÁCIDOS
(3ª SÉRIE)

Concentrações	A M I N O Á C I D O S						
	L-isoleucina	L-cistina	L-metionina	L-triptofânio	Ác.L-aspártico	Ác.L-glutâmico	L-arginina
%							
água	0,052	-0,028	-0,094	-0,333	-0,357	-0,223	-0,053
0,0078	-0,093	-0,439	-0,156	0,345	-0,503	-0,333	-0,395
0,0039	-0,119	-0,067	-0,013	-0,196	-0,210	-0,106	-0,105
0,0019	-0,331	0,715	0,038	0,264	-0,188	0,146	0,039
0,0009	0,293	-0,119	0,306	-0,068	0,304	0,185	-0,106
0,0004	0,198	-0,062	0,080	-0,012	0,952	0,332	0,698
Variâncias	0,687	0,604	0,709	0,672	0,474	0,673	0,614

obtidas concentrações mínimas de sensibilidade para tres aminoácidos sem ajuste de pH, em porcentagem e molaridade seguindo critério idêntico ao das séries anteriores, cujos resultados podem ser observados no Quadro 15.

QUADRO 15. CONCENTRAÇÕES MÍNIMAS DE DIFERENÇA E DE GOSTO DETECTADAS PARA 7 AMINOÁCIDOS, SEM AJUSTE DE pH, EM PORCENTAGEM E MOLARIDADE (3ª série)

Aminoácidos	Valores			
	Diferença		Gosto	
	%	$M \times 10^{-2}$	%	$M \times 10^{-2}$
L-isoleucina	-	-	-	-
L-cistina	0,0004	0,0017	-	-
L-metionina	-	-	-	-
L-triptofânio	-	-	-	-
Ácido L-aspartico	0,0009	0,0068	0,0019	0,0143
Ácido L-glutâmico	-	-	-	-
L-arginina	0,0078	0,0448	-	-

Comprovou-se a hipótese da possibilidade de obtenção de valores mínimos mais baixos obtidos para L-cistina e ácido L-aspartico tendo L-arginina, obtido valor idêntico àquele da segunda série, não sendo obtidos valores significativos, ou seja, valores que não diferiram da água, para L-isoleucina, L-metionina, L-triptofânio e ácido L-glutâmico.

c - Concentração mínima de gosto detectada

No quadro 15 está registrado o valor da concentração mínima de gosto detectada para o ácido L-aspártico, sem ajuste de pH, em porcentagem e molaridade, obtido pela comparação da média de cada concentração com aquela correspondente à concentração mínima de diferença detectada, através do valor crítico de Duncan ($Z_1 = 2,73$), ao nível de significância de 5%.

L-cistina e L-arginina apresentaram valores que não diferiram significativamente da água destilada.

4.4.- Limites mínimos de sensibilidade de diferença ("thresholds" de diferença)

A avaliação dos "thresholds" de diferença para cada aminoácido foi realizada considerando a menor concentração que diferiu da água destilada, ao nível de significância de 5%, através do valor crítico de Duncan.

Os valores dos limites mínimos de sensibilidade de diferença ("thresholds" de diferença) obtidos nas três séries de experimentos, sem ajuste de pH, (pelo fato de não ter sido observada influência do referido ajuste sobre as concentrações mínimas detectadas na primeira série) constam do Quadro 16.

Apesar da água destilada ter sido apresentada em posição não fixa e não conhecida dificultando os testes, as menores concentrações utilizadas foram detectadas, para a maioria dos aminoácidos. Os aminoácidos L-glicina, L-alanina, L-valina, L-leucina, L-serina, L-treonina, L-fenilalanina, L-tirosina, L-asparagina, L-glutamina, L-

QUADRO 16. LIMITES MÍNIMOS DE SENSIBILIDADE DE DIFERENÇA E DE GOSTO ("THRESHOLDS" DE DIFERENÇA E DE GOSTO) SEM AJUSTE DE pH, EM PORCENTAGEM E MOLARIDADE (1ª, 2ª e 3ª SÉRIES)

Aminoácidos	"Thresholds"			
	Diferença		Gosto	
	%	Mx10 ⁻²	%	Mx10 ⁻²
L-glicina	0,0312	0,4161	0,0625	0,8332
L-alanina	0,0625	0,7014	0,1250	1,4030
L-valina	0,0312	0,2666	0,5000	4,2662
L-leucina	0,1250	0,9529	0,2500	1,9057
L-isoleucina	0,0078	0,0594	0,1250	0,9527
L-serina	0,0312	0,2969	0,1250	1,1893
L-treonina	0,0312	0,2624	0,0625	0,5248
L-cistina	0,0004	0,0017	-	-
L-metionina	0,0078	0,0522	0,0625	0,4189
L-fenilalanina	0,0312	0,1892	0,0625	0,3783
L-tirosina	0,0625	0,3449	0,2500	1,3798
L-triptofânio	0,0078	0,0381	0,0625	0,3060
Ácido L-aspártico	0,0009	0,0068	0,0019	0,0143
Ácido L-glutâmico	0,0039	0,0265	0,0156	0,1060
L-asparagina	0,0468	0,3122	0,7500	4,9957
L-glutamina	0,0468	0,3207	0,0937	0,6411
L-lisina	0,0156	0,1067	0,0625	0,4275
L-arginina	0,0078	0,0448	0,1250	0,7156
L-histidina	0,0156	0,1005	0,0625	0,4028
L-prolina	0,0312	0,2715	0,0625	0,5430
L-hidroxiprolina	0,0312	0,2383	0,0625	0,4766

prolina e L-hidroxiprolina, tiveram seus "thresholds" determinados na primeira série de experimentos.

Na segunda série, L-isoleucina, L-metionina, L-triptofânio, ácido L-glutâmico, tiveram os seus "thresholds" de diferença determinados também na menor concentração utilizada para L-lisina e L-histidina os valores de "thresholds" foram obtidos em concentrações mais elevadas. Isto vem comprovar a boa acuidade sensorial da equipe de provadores. Já na terceira série não foram obtidos "thresholds" nas concentrações mais baixas da série empregada, sendo detectados valores de "thresholds" para L-cistina, ácido L-aspártico e L-arginina.

4.5 - Limites mínimos de sensibilidade de gosto ("thresholds" de gosto)

Os limites mínimos de sensibilidade de gosto ou "thresholds" de gosto constam do Quadro 16 e foram obtidos considerando a menor concentração que diferiu do "threshold" de diferença, ao nível de significância de 5%, através do valor crítico de Duncan.

Os valores de "thresholds" de gosto para os aminoácidos, foram obtidos na primeira série de concentração, excetuando L-triptofânio, ácido L-glutâmico, L-lisina, L-arginina e L-histidina obtidos na segunda série de experimentos e ácido L-aspártico obtido na terceira série de experimento, sendo que para L-cistina não foi detectado valor significativo em relação ao "threshold" de diferença.

4.6 - Caracterização da qualidade de gosto

A caracterização da qualidade de gosto foi obtida através das frequências em porcentagem para cada aminoácido

do nas soluções aquosas sem e com ajuste de pH.

Nas Figuras 2, 3 e 4 estão representadas qualidades de gosto das soluções aquosas dos aminoácidos estudados nas tres séries de experimentos obtidas através das porcentagens das frequências.

Os aminoácidos tiveram suas qualidades de gosto individuais e combinadas caracterizadas, através das porcentagens das frequências mais representativas, que podem ser observadas nos Quadros 17, 18 e 19.

Observando as Figuras 2, 3 e 4 verificamos que os 21 aminoácidos estudados apresentaram variações na qualidade de gosto quando em soluções com e sem ajuste de pH, constatando-se a presença dos quatro gostos básicos primários: doce, amargo, ácido e salgado, encontrando-se além destes, outros gostos para os seguintes aminoácidos:

1ª Série

			%
Ácido L-aspartico	CAPh	gosto sabão	(21,25)
L-valina	"	gosto podre	(12,50)
L-metionina	"	gosto podre	(7,50)
L-arginina	"	gosto estranho	(1,25)
L-tirosina	SAPh	gosto não identificado	(12,50)
L-lisina	"	gosto não identificado	(1,25)
L-histidina	"	gosto sabão	(1,25)

2ª Série

		%
L-treonina	Gosto ligeiramente metálico	(2,50)
L-fenilalanina	Gosto salgado	(1,25)
	Gosto remédio	(12,50)
L-metionina	Gosto não identificado	(12,50)
	Gosto pútrido	(46,25)

Cont. 2ª Série

		%
L-triptofânio	Gosto pútrido	(6,25)
L-lisina	Gosto pútrico	(2,50)
L-prolina	Gosto ligeiramente metálico	(12,50)

3ª Série

		%
L-cistina	Gosto pútrido e salgado	(6,25)
	Gosto remédio	(8,75)
L-metionina	Gosto pútrido	(36,25)
L-triptofânio	Gosto pútrido	(6,25)
Ácido L-glutâmico	Gosto pútrido	(6,25)

Encontrou-se qualidade de gosto doce para L-alanina, amargo para L-leucina, L-isoleucina, L-fenilalanina e L-histidina. Apresentaram mudanças de qualidade de gosto L-glicina e L-treonina de doce-ácidos passaram a amargo, L-valina e L-serina de doces passaram a amargo, L-metionina de amargo-ácido passou a pútrido e L-triptofânio de amargo passou a ácido, após ajuste de pH.

Caracterizadas com qualidade de gosto doce L-alanina e L-glicina (pH 5,5-6,0). Entretanto Cameron (21) reportou resultados semelhantes ao nosso, para o primeiro, diferindo para L-glicina cuja qualidade de gosto foi reportada como ácida (pH 7,1).

Comparando as qualidades de gosto obtidas por Galvin (29) com os nossos resultados verifica-se que somente prolina e hidroxiprolina foram caracterizados como doces nos dois trabalhos. L (+) arginina, ácido L (+) aspártico L (-) cistina, L (+) histidina, L (-) leucina, L (+) lisina e L (-) tirosina foram fracamente doces (Galvin), enquanto em nosso trabalho foram assim caracterizados: amar

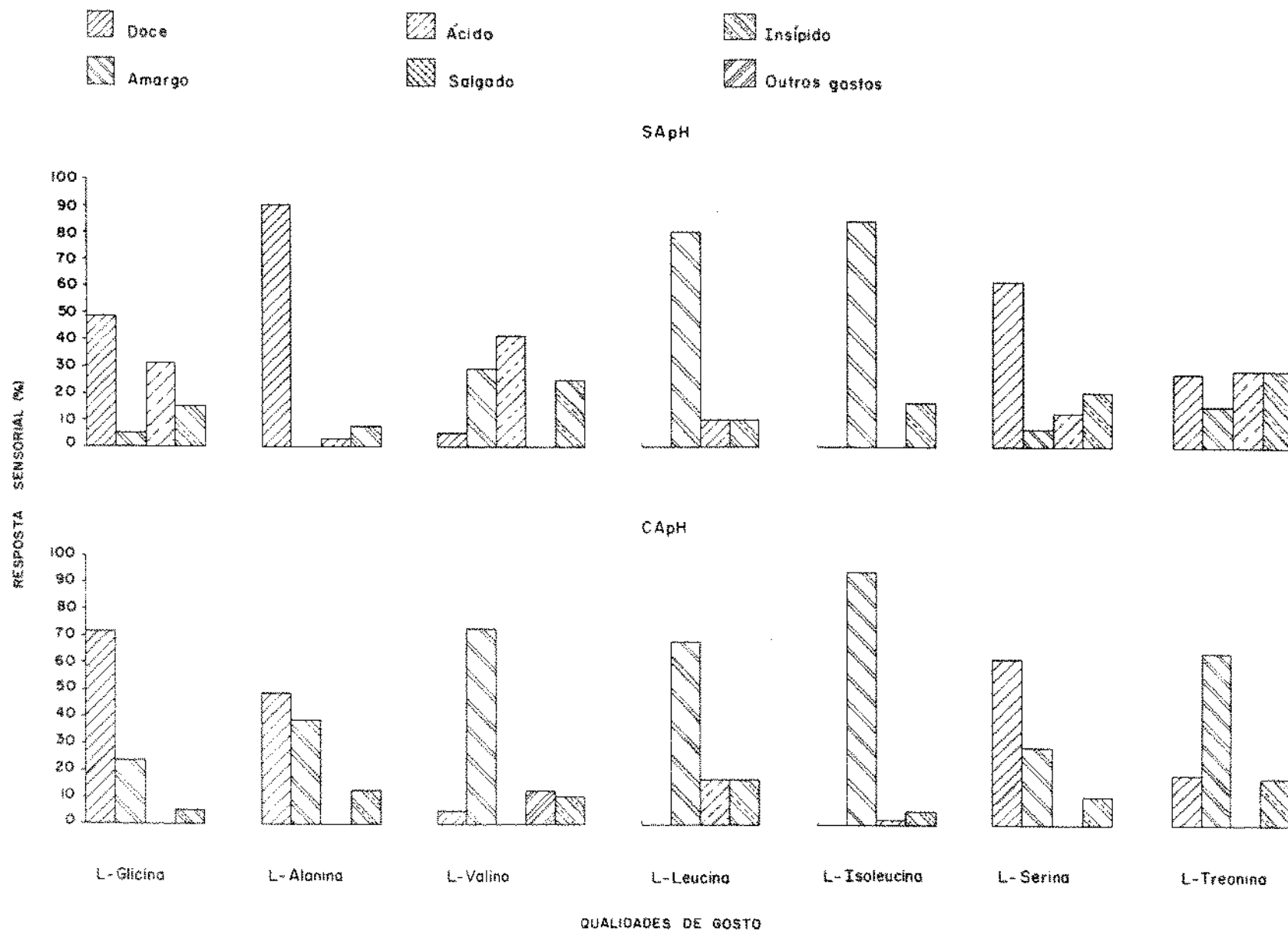
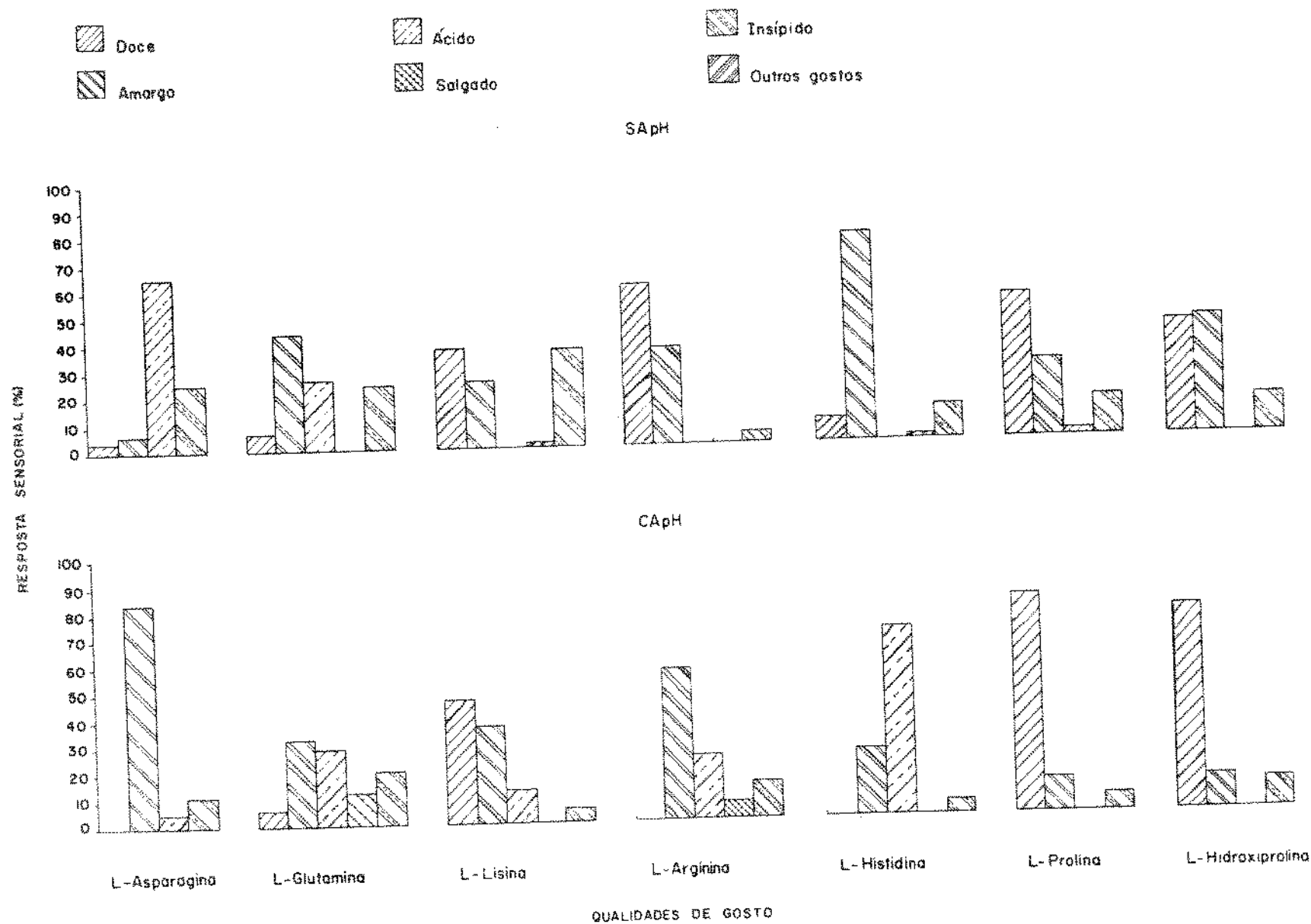
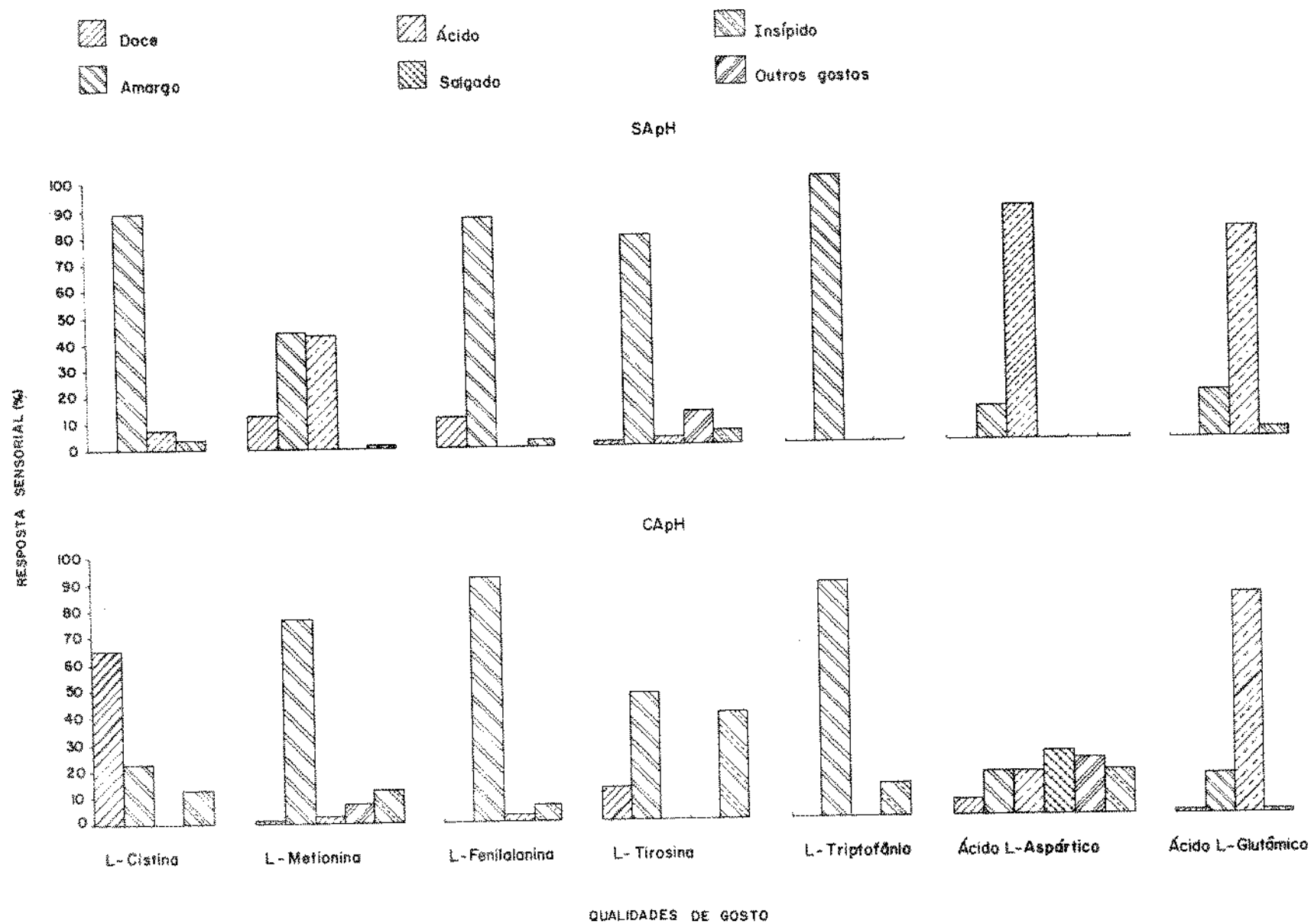


FIGURA 2. Qualidades de gosto das soluções aquosas para 21 aminoácidos, sem e com ajuste de pH, obtidas através da porcentagem da frequência. (1ª Série)



Cont. FIGURA 2.



Cont. FIGURA 2.

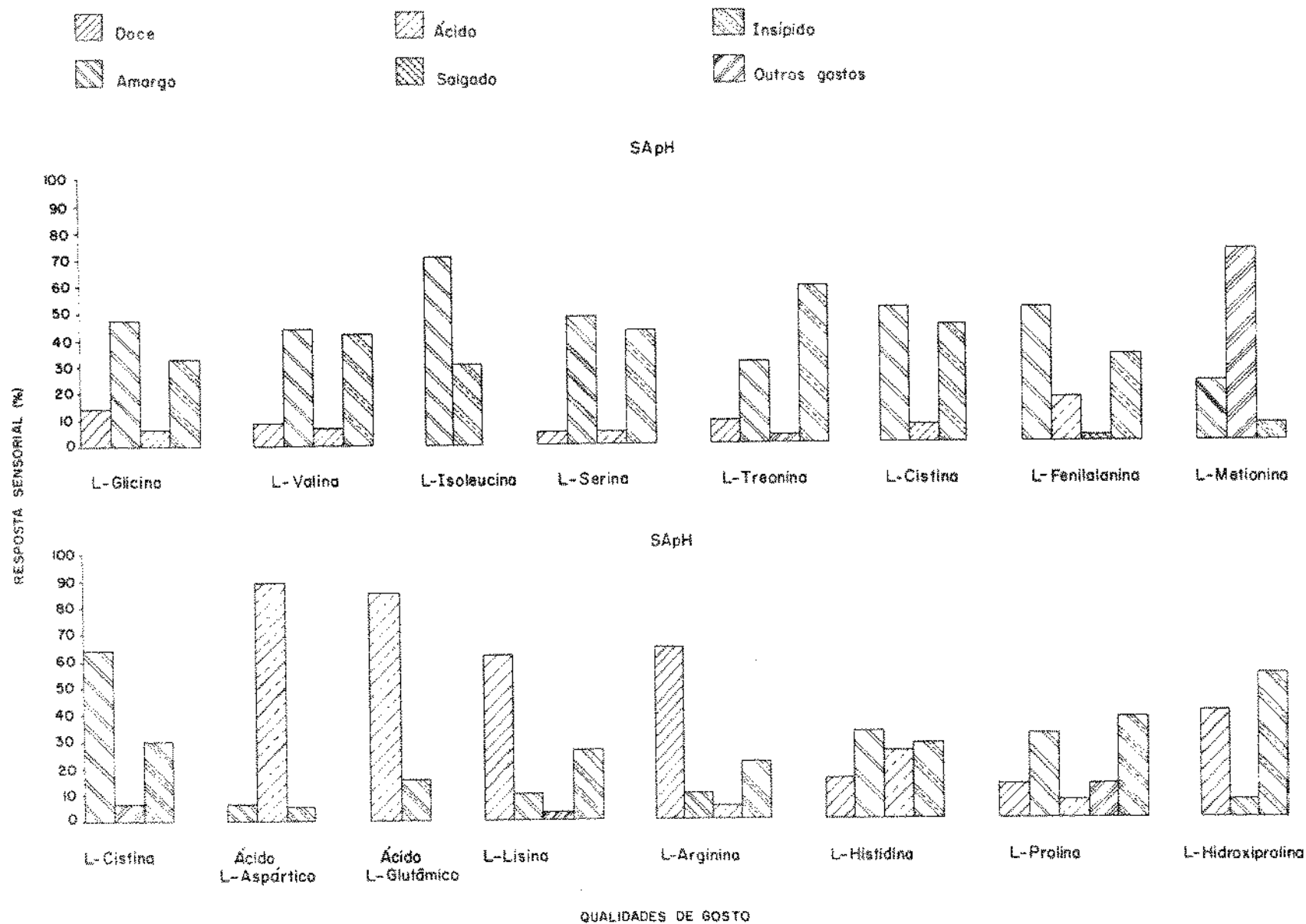


FIGURA 3. Qualidades de gosto das soluções aquosas para 16 aminoácidos, sem ajuste de pH, obtidas através da porcentagem da frequência. (2ª Série)

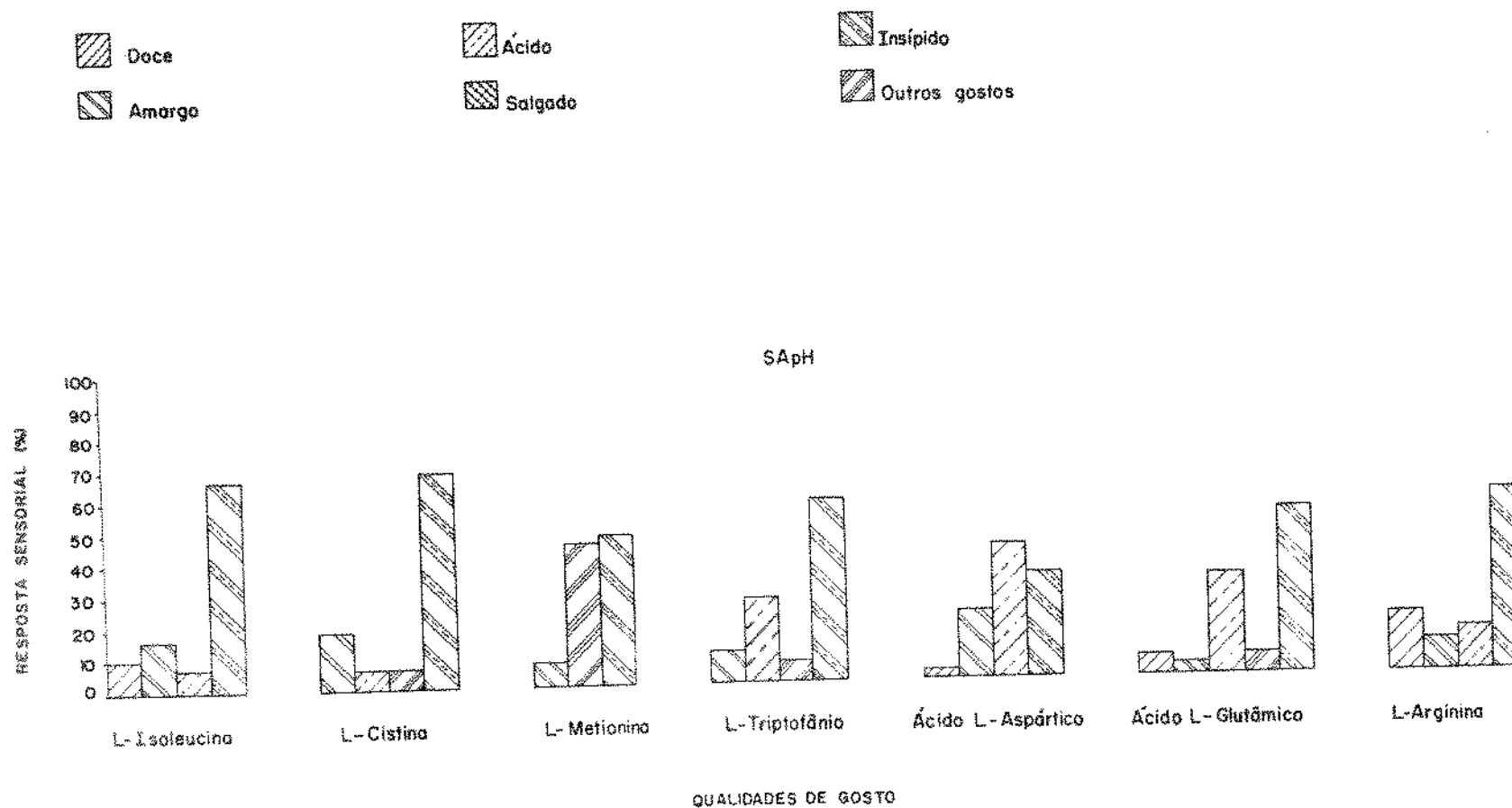


FIGURA 4.- Qualidades de gosto das soluções aquosas para 7 aminoácidos, sem ajuste de pH, obtidas através da porcentagem da frequência. (3ª série)

QUADRO 17. QUALIDADES DE GOSTO INDIVIDUALMENTE E COMBINADAS PARA CADA AMINO
 ÁCIDO, SEM E COM AJUSTE DE pH, EM PORCENTAGEM DA FREQUÊNCIA.
 (1ª SÉRIE)

Aminoácidos	SAPh		CAPh	
	Gosto	%	Gosto	%
L-glicina	doce-ácido	48,75-31,25	doce	71,25
L-alanina	doce	90,00	doce-amargo	48,75-38,75
L-valina	ácido-amargo	41,25-28,75	amargo	72,50
L-leucina	amargo	80,00	amargo	67,50
L-isoleucina	amargo	83,75	amargo	93,75
L-serina	doce	61,25	doce	61,25
L-treonina	ácido-doce	28,75-27,50	amargo	63,75
L-cistina	amargo	88,75	salgado	65,00
L-metionina	amargo-ácido	43,75-42,50	amargo	76,25
L-fenilalanina	amargo	86,25	amargo	91,25
L-tirosina	amargo	78,75	amargo	47,50
L-triptofânio	amargo	100,00	amargo	87,50
Ácido L-aspártico	ácido	87,50	salgado-sabão	23,75-21,25
Ácido L-glutâmico	ácido	78,75	ácido	82,25
L-asparagina	ácido	65,00	amargo	83,75
L-glutamina	amargo-ácido	43,75-26,25	amargo-ácido	32,50-28,75
L-lisina	doce-amargo	37,50-25,00	doce-amargo	46,25-36,25
L-arginina	doce-amargo	60,00-36,25	amargo	56,25
L-histidina	amargo	77,50	ácido	70,00
L-prolina	doce-amargo	53,75-28,75	doce	81,25
L-hidroxiprolina	amargo-doce	43,75-42,50	doce	76,25

QUADRO 18. QUALIDADES DE GOSTO PARA 16 AMINOÁCIDOS, SEM AJUSTE DE pH, EM PORCENTAGEM DA FREQUÊNCIA (2ª SÉRIE)

Aminoácidos	SAPh	
	Gosto	%
L-glicina	amargo	47,50
L-valina	amargo	43,75
L-isoleucina	amargo	70,00
L-serina	amargo	47,50
L-treonina	amargo	30,00
L-cistina	amargo	50,00
L-metionina	pútrido	46,50
L-fenilalanina	amargo	50,00
L-triptofânio	amargo	63,75
Ácido L-aspartico	ácido	88,75
Ácido L-glutâmico	ácido	85,00
L-lisina	doce	61,25
L-arginina	doce	63,75
L-histidina	amargo	32,50
L-prolina	amargo	31,25
L-hidroxiprolina	doce	40,00

QUADRO 19. QUALIDADES DE GOSTO INDIVIDUALMENTE E COMBINA
DAS PARA 7 AMINOÁCIDOS, SEM AJUSTE DE pH,
EM PORCENTAGEM DA FREQUÊNCIA (3ª SÉRIE)

Aminoácidos		SAPh
	Gosto	%
L-isoleucina	amargo-doce	16,25-10,00
L-cistina	amargo	18,75
L-metionina	pútrido	36,25
L-triptofânio	ácido	26,25
Ácido L-aspartico	ácido	42,50
Ácido L-glutâmico	ácido	31,25
L-arginina	doce-ácido	18,75-13,75

7
gos, L-leucina, L-tirosina e L-arginina; doce-amargo, L-lisina; salgado, L-cistina; ácido, L-histidina e estranho ácido L-aspartico.

As qualidades de gosto reportadas por Solms, citado por Beets (13) e as apresentadas neste trabalho, diferiram para a maioria dos aminoácidos excetuando-se L-leucina, L-tirosina e L-triptofânio caracterizados como amargos e L-glicina como doce.

Observando os Quadros 10, 11 e 16 e Figuras 2, 3 e 4 verifica-se que os 21 aminoácidos apresentam valores distintos de concentrações mínimas de gosto, "thresholds" de diferença, ocorrendo, também, mudanças nas qualidades de gosto quando em soluções aquosas com e sem ajuste de pH. Essas variações dos referidos aminoácidos, podem ser atribuídas às seguintes variáveis: 1) concentração - responsável pelas diferentes sensações de gosto e comprovamos isso quando para alguns tivemos que aumentar ou diminuir a concentração maior da série inicial; 2) estrutura química - Pangborn (59), Meyer (51) e Beets (13) relataram que as qualidades de gosto dependem da configuração química das substâncias. Kaneko (41) encontrou para os compostos derivados da D-tirosina qualidade de gosto doce sendo os compostos na forma L amargos ou desagradáveis relacionando o gosto não com a rotação ótica mas sim com a configuração espacial. Shallenberger (64) estudando o gosto doce em açúcares sugeriu que quando grupos hidroxilas que conferem doçura, estão ligados por pontes de hidrogênio, a habilidade em conferir o gosto doce parece ser restrita e que a intensidade do gosto depende da sua configuração; 3) pH - houve variações das qualidades de gosto pela adição do ácido e da base. A adição do HCl determinou o aparecimento do gosto amargo para L-alanina, L-treonina; doce para L-hidroxiprolina; salgado para L-cistina e aci-

do para L-histidina. A adição de NaOH determinou o aparecimento do gosto amargo para L-asparagina. O nosso conhecimento sobre o comportamento dos íons presentes nas soluções é bastante limitado para discussão de sua relação com os diferentes gostos; 4) pureza das substâncias - possível causa de variação nos resultados obtidos pode ser devida ao grau de pureza das substâncias empregadas.

Embora os diversos autores tenham apresentado diferentes definições para "thresholds" de diferença e de gosto, não foi apresentada definição baseada na análise estatística. A experiência e os resultados obtidos neste estudo sugeriram as seguintes definições:

1) Limite mínimo de sensibilidade de diferença ("threshold" de diferença) é a concentração mínima percebida de uma substância que difere de uma amostra controle, (geralmente a água destilada) ao nível de significância igual ou menor que 5%.

2) Limite mínimo de sensibilidade de gosto ("threshold" de gosto) é a concentração mínima que difere do "threshold" de diferença ao nível de significância igual ou menor que 5%

5 - CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Estudos detalhados dos 21 aminoácidos nas tres séries de experimentos levaram às seguintes conclusões:

- 1) Os "thresholds" de diferença para os aminoácidos em soluções aquosas, sem ajuste de pH, variaram de 0,0004 a 0,1250%.
- 2) A série de concentração inicial (0,5000%) mostrou-se mais adequada para detecção dos "thresholds" para L-alanina, L-leucina e L-tirosina.
- 3) A elevação de concentração da série inicial para L-asparagina e L-glutamina permitiu a detecção dos valores de "thresholds" de diferença, consequentemente, de gosto.
- 4) Os "thresholds" de gosto para os aminoácidos em soluções aquosas, sem ajuste de pH, variaram de 0,0019 a 0,7500%.
- 5) A posição variável da água destilada não influenciou de maneira desfavorável sobre os resultados obtidos nos testes realizados.
- 6) Não houve influência do ajuste de pH sobre os valores de "thresholds" de diferença e de gosto, porém, o mesmo não aconteceu sobre a caracterização do gosto.
- 7) Os aminoácidos estudados apresentaram as quatro qualidades de gosto primárias individualmente e combinadas.

Recomendamos que sejam considerados os "thresholds" de diferença obtidos sem ajuste de pH para todos os aminoácidos estudados, uma vez que ao sofrerem ajuste alguns aminoácidos mudaram completamente o gosto como é o caso da L-treonina que de ácido-doce passou a amargo; L-cistina de amargo passou a salgado; L-asparagina de ácido passou a amargo e L-histidina de amargo passou a ácido.

Partindo da suposição de que a água destilada poderá introduzir variação sobre os resultados dos "thresholds", recomendamos o uso de água bidestilada e deionizada, em trabalhos futuros da mesma natureza.

6 - BIBLIOGRAFIA

1. AMERINE, M.A.; PANGBORN, R.M. & ROESSLER, E.B.
Bitter. In: "Principles of sensory evaluation of food". New York, Academic Press, 1965, cap. 2, p. 103-105.
2. _____. Classification. In: "Principles of sensory evaluation of food". New York, Academic Press, 1965. cap. 2, p. 39.
3. _____. Glossary of terms. In: "Principles of sensory evaluation of food". New York, Academic Press, 1965. p. 563.
4. _____. Ranking. In: "Principles of sensory evaluation of food". New York, Academic Press, 1965. cap. 8, p. 351-352.
5. _____. Salty. In: "Principles of sensory evaluation of food". New York, Academic Press, 1965. cap. 2, p. 82.
6. _____. Sweet. In: "Principles of sensory evaluation of food". New York, Academic Press, 1965. cap. 2, p. 86.
7. _____. Taste and chemical configuration. In: "Principles of sensory evaluation of food". New York, Academic Press, 1965. cap. 2, p. 66-67.
8. _____. Taste qualities. In: "Principles of sensory evaluation of food". New York, Academic Press, 1965. cap. 2, p. 45.

9. _____. Taste thresholds. In: "Principles of sensory evaluation of food". New York, Academic Press, 1965. cap. 2, p. 53-54.
10. _____. Typical values. In: "Principles of sensory evaluation of food". New York, Academic Press, 1965. cap. 2, p. 62.
11. American Society for Testing and Materials. Manual on sensory testing methods; sponsored by Committee E-18 on Sensory Evaluation of Materials and Products ASTM. Philadelphia/1969/. vi, p. 29, 23 cm. (ASTM special technical publication, 434).
12. BAKER, G.A.; MRAK, V. & AMERINE, M.A. Errors of the second kind in an acid threshold test. Food Research, 23 (2): 150-154, 1968.
13. BEETS, M.G.J. Relationship of chemical structure to odor and taste. In: SOS/70 Proceedings of the third international congress of food science & technology, Washington, D.C., August 9-14, 1970. Chicago, Institute of Food Technologists, 1971.
14. BENNETT, G.; SPAHR, B.M. & DODDS, M.L. The value of training a sensory test panel. Food Technol. 21 (4): 205-208, 1956.
15. BERG, H.W.; FILLIPELLO, F.; HINREINER, E. & WEBB, A.D. Evaluation of thresholds and minimum difference concentrations for various constituents of wines. I. water solutions of pure substances. Food Technology, 9(1): 23-26, 1955.

16. _____. Evaluation of thresholds and minimum difference concentrations for various constituents of wines. II. Sweetness: the effect of ethyl alcohol, organic acids and tannin. Food Technol. 9 (3): 138-140, 1955.
17. BOGGS, M.M. & HANSON, H.L. Dilution test. In: Advances in food research. New York, Academic Press, 1949. v.2. p. 224.
18. _____. Judges. In: Advances in food research. New York, Academic Press, 1949. v. 2, p. 234.
19. _____. Replications. In: Advances in food research. New York, Academic Press, 1949. v. 2, p. 232.
20. _____. Sample temperature. In: Advances in food research. New York, Academic Press, 1949. v. 2, p. 246.
21. CAMERON, A.T. Additional tastes of sweet substances. In: The taste sense and the relative sweetness of sugars and others sweet substances. New York, Sugar Research Foundation, 1947. cap. 10, p. 52.
22. _____. Method of selection of tasters. In: The taste sense and the relative sweetness of sugars and other sweet substances. New York, Sugar Research Foundation, 1947. cap. 10, p. 39.

23. _____. Relationship between the chemical constitution and tastes of organic compounds. In: The taste sense and the relative sweetness of sugars and other sweet substances. New York, Sugar Research Foundation, 1947. cap. 6, p. 27-29.
24. _____. The anatomy and physiology of the sensation of taste. In: the taste sense and the relative sweetness of sugars and other sweet substances. New York, Sugar Research Foundation, 1947. cap. 3, p. 20-21.
25. CROCKER, E.C. & SJÖSTRÖM, L.B. Odor detection and thresholds. Chemical and Engineering News, 27(4): 1922-1925, July, 1949.
26. DAWSON, E.H.; BROGDON, J.L. & McMANUS, S. Sensory testing of differences in taste. II. Selection of panel members. Food Technol., 17(10): 1251-1256, 1963.
27. FABIAN, F.W. & BLUM, H.B. Relative taste potency of some basic food constituents and their competitive and compensatory action. J. Food Research, 8(3): 179-193, May-June, 1943.
28. FISCHER, R.A. & YATES, F. Tabelas estatísticas; para pesquisa em biologia, medicina e agricultura; trad. de Salvator Licco Haim. São Paulo, Polígono, Ed. da Universidade de São Paulo / 1971 /

29. GALVIN, S.L. The taste of monosodium glutamate and other amino acid salts in dilute solutions. In: Flavor and acceptability of monosodium glutamate; symposium on monosodium glutamate. Chicago, Food and Container Inst., 1948. p. 39-44.
30. GARRUTI, R.S. Equipes experimentais para classificação organoléptica da bebida do café. Boletim do Instituto Agrônomo, Campinas nº 145, junho 1965.
31. GELDARD, F.A. The taste qualities. In: The human senses. New York, Wiley, 1962. cap. 15, p. 313.
32. GREGSON, R.A. A rating-scale method for determining absolute taste thresholds. J.Food Sci. 27 (4): 376-380, 1962.
33. GUILFORD, J.P. Psychophysical theory. In: Psychometric methods. New York, Mc Graw-Hill, 1954. cap. 2, p. 22.
34. _____. The method of rank order. In: Psychometric methods. New York, Mc Graw-Hill, 1954. cap. 8, p. 178.
35. _____. The psychophysical tradition. In: Psychometric methods. New York, Mc Graw-Hill, 1954, cap. 1, p. 3-4.
36. GOMES, F.P. O teste de Duncan. Curso de estatística experimental. Piracicaba, 1960. v. 2, cap. 3, p. 27-29.

37. HAC, L.R.; LONG, M.L. & BLISH, M.J. The occurrence of free L-glutamic acid in various foods. Food Technol., 3 (10): 351-354, 1949.
38. HALPERN, B.P.; BERNARD, R.A. & KARE, M.R. Amino acids as gustatory stimuli in the rat. J.Gen.Physiol. 45 (4): 681-701, March, 1962.
39. JOHANSSON, B. & DRAKE, B. Difference taste thresholds for sodium chloride among young adults: an interlaboratory study. J.Food Sci., 38 : 524-527, 1973.
40. JORGE, J.P.N. Métodos estatísticos aplicados à análise sensorial de alimentos e bebidas. Boletim do Instituto Agronômico, Campinas, nº 137, abril, 1964.
41. KANEKO, T. Relation between taste and constitution of alpha amino acid on the derivatives of tyrosine. J.Chem.Soc.Japan, 59 (3): 433-439, 1938.
42. KING, F.B. Obtaining a panel for judging flavor in foods. Food Research, 2 (3): 207-219, 1937.
43. KIRKPATRICK, M.E.; LAMB, J.C.; DAWSON, E.H. & EISEN, J.N. Selection of a taste panel for evaluation the quality of processed milk. Food Technol. 11 (9): 3-8, 1957.
44. KNOWLES, D. & JOHNSON, P.E. A study of the sensitiveness of prospective food judges to the primary tastes. Food Research, 6 (2): 207-216, March-April, 1941.

45. KRUM, J.K. Truest evaluations in sensory panel testing. Food Engeneering, 27 (7): 74-83, 1955.
46. LI, C.C. Multiple comparisons. In: Introduction of experimental statistics. New York, Mc Graw-Hill, 1964. cap. 10, p. 418.
47. _____. Radomized blocks. In: Introduction of experimental statistics. New York, Mc Graw-Hill, 1964. cap. 6, p. 174-188.
48. LINKER, E.; MOORE, M.E. & GALANTER, E. Taste thresholds, detection models, and disparate results. J.Exptl.Psychol., 67 (1): 59-66, 1964.
49. LOCKART, E.E. Binomial systems and organoleptic analysis. Food Technol., 5 (10): 428-431, 1951.
50. MAGA, J.A. Influence of color on taste thresholds. Chemical Senses and Flavor, 1 : 115-119, 1974.
51. MEYER, L.H. The flavor and aroma of food. In: Food Chemistry. New York, Reinhold, 1960, cap. 5, p. 148-152.
52. MITCHELL, J.W. Problems in taste difference testing. I. Test environment. Food Technol., 11 (9):479, 1957.
53. _____. Problems in taste difference testing. II. Subject variability due to time of the day and day of the week. Food Technol. 11 (9): 479-481, 1957.

54. MONCRIEFF, R.W. The bitter stimulus. In: The chemical senses. London, Leonard Hill, 1967. cap. 6, p. 266.
55. _____. The salt stimulus. In: The chemical senses. London, Leonard Hill, 1967. cap. 6, p. 251-252.
56. _____. Sensation. In: the chemical senses. London, Leonard Hill, 1967. cap. 6, p. 71-76.
57. _____. The sour stimulus. In: The chemical senses. London, Leonard Hill, 1967. cap. 6, p. 247.
58. _____. The sweet stimulus. In: The chemical senses. London, Leonard Hill, 1967. cap. 6, p. 256-257.
59. PANGBORN, R.M. Influence of hunger on sweetness preferences and taste thresholds. Am.J.Clin. Nutrition, 7 : 280-287, May-June, 1959.
60. _____. Interrelationship of odor, taste, and flavor. Food Product Development, August-September, p. 1-3, 1968.
61. _____. Taste interrelationships. II. Suprathreshold solutions of sucrose and citric acid. J.Food Sci., 26 (6): 648-655, 1961.
62. RICHTER, C.P. & MACLEAN, A. Salt taste threshold of humans. Am.J.Physiol., 26 (1): 1-6, May, 1939.
63. SALMON, T.N. & BLAKESLEE, A.F. Genetics of sensory thresholds: variations within single individuals in taste sensitivity for PTC. Proceedings of the National Academy of Sciences, 21 (2): 78-90, 1935.

64. SHALLENBERGER, R.S. Hydrogen bonding and the varying sweetness of the sugars. *J.Food Sci.*, 28 : 584-589, 1963.
65. SCHUTZ, H.G. & PILGRIM, F.J. Differential sensitivity in gustation. *J.Exp.Psychol.*, 54 (1): 41-48, July, 1957.
66. TAYLOR, C.W. A note on differential taste responses to P.T.C. (phenyl-thio-carbamide). *Human Biology*, 33 (3): 220-221. September, 1961.
67. TILGNER, D.J. Dilution tests for odor and flavor analysis. *Food Technol.*, 2 : 26-29, 1962.
68. TILGNER, D.J. & BARYLKO-PIKIELNA, N. Threshold and minimum sensitivity of the taste sense. *Acta Physiol.Polon.*, 10 : 741-754, 1959.
69. TOMPKINS, M.D. & PRATT, G.B. Comparison of flavor evaluation methods for frozen citrus concentrates. *Food Technol.*, 13 : 149-152, 1959.
70. VENSTROM, D. & AMOORE, J.E. Olfactory threshold in relation to age, sex or smoking. *J.Food Sci.*, 33 (3): 264-265, May-June, 1968.
71. YENSEN, R. Some factors affecting taste sensitivity in man. I. Food intake and time of day. *Quart.J. Exptl.Psychol.* 11 : 221-229, 1959.
72. _____. Some factors affecting taste sensitivity in man. II. Depletion of body salt. *Quart.J.Exptl. Psychol.* 11 : 230-238, 1959.

73. _____. Some factors affecting taste sensitivity
in man. III. Water deprivation. Quart.J.Exptl.
Psychol., 11 : 239-248, 1959.