



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

UNICAMP

BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

**EFEITO DA ADIÇÃO DE PECTINA E
FRUTOOLIGOSSACARÍDEO COMO INGREDIENTES
FUNCIONAIS NO SUCO MISTO DE CENOURA E LARANJA**

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

Daniela De Grandi Castro Freitas
Engenheira de Alimentos

Profa. Dra. Marisa de Nazaré Hoelz Jackix

Orientadora

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por Daniela De Grandi Castro Freitas, aprovada pela Comissão Julgadora em 25 de outubro de 2000.

Campinas
2000

Campinas, 25 de outubro de 2000

Prof. Dra. Marisa de Nazaré H. Jackix
Presidente da Banca

i

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

8700102352

IDADE	BC
CHAMADA :	Unicamp
	F884e
Ex.	
MBO BC/	43826
OC.	16-392101
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
EC	R\$ 1100
TA	20102101
CPD	

CM-00153689-1

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

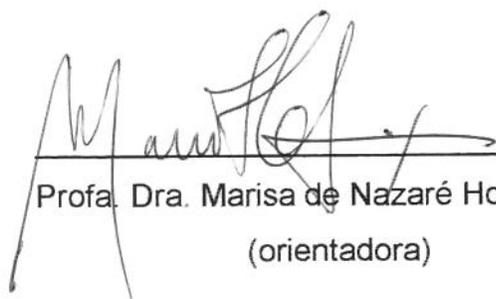
F884e Freitas, Daniela De Grandi Castro
Efeito da adição de pectina e frutooligossacarídeo como
ingredientes funcionais no suco misto de cenoura e laranja /
Daniela De Grandi Castro Freitas. – Campinas, SP: [s.n.], 2000.

Orientador: Marisa de Nazaré Hoelz Jackix
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Pectina. 2.Oligosaccharides. 3.Cenoura. 4.Laranja.
I.Jackix, Marisa de Nazaré Hoelz. II.Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

Membros da Banca Examinadora

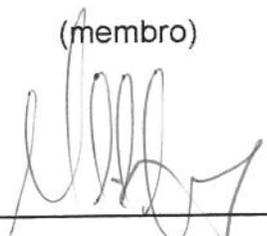
UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE



Profa. Dra. Marisa de Nazaré Hoelz Jackix
(orientadora)



Profa. Dra. Hillary Castle de Menezes
(membro)



Prof. Dr. Miguel Arcanjo Areas
(membro)

Prof. Dr. Roberto Hermínio Moretti
(membro)

*Nossa Senhora, com o menino Jesus nos braços,
desceu à Terra para visitar um mosteiro.
Orgulhosos, os padres fizeram fila para homenageá-la; um declarou poemas,
outro mostrou iluminuras para a Bíblia, outro recitou o nome dos santos.
No final da fila estava um padre humilde,
que não tivera a chance de aprender com os sábios da época.
Quando chegou sua vez, os monges quiseram encerrar as homenagens,
com medo que ele compromettesse a imagem do mosteiro.
Mas também ele queria mostrar seu amor pela Virgem.
Envergonhado, sentindo o olhar reprovador dos irmãos, tirou umas laranjas
do bolso e começou a atirá-las para o ar – fazendo malabarismos
que seus pais lhe haviam ensinado no circo.
Foi só então que o menino Jesus sorriu, e só para ele a Virgem
estendeu os braços, deixando que segurasse um pouco seu filho.*

Graças te dou, ó Pai,
porque ocultastes estas coisas
dos sábios e entendidos, e as
revelastes aos pequeninos.

LUCAS, 10,21

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SERVIÇO DE ACERVO

Meus especiais agradecimentos:
Aos meus pais, José Francisco e Neuza,
pelo amor, dedicação, confiança
e estímulos durante toda a minha vida;
Aos meus irmãos, Rogério e Gustavo,
pelo carinho sem jeito mas especial;
À toda minha família, pelo apoio e incentivo,
mostrando-me sempre a cada sorriso
que a vida vale muito a pena!

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Marisa de Nazaré Hoelz Jackix pela orientação, dedicação, paciência, bom senso e objetividade, imprescindíveis para a realização deste trabalho.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

A todos os membros da banca examinadora pelas sugestões dadas na ocasião do exame de qualificação e/ou correção dos bonecos.

Ao Dong Koo Yim, Ph.D. pelas sugestões e orientações no início e todo o desenrolar do trabalho. Pela doação de frutooligossacarídeo e empréstimo da coluna cromatográfica.

Aos meus amigos Prof. Dr. Miguel e Wagner, do Instituto de Biologia, por terem me acolhido gentilmente e tornado possível a realização do estudo biológico, com dedicação e companheirismo.

À InterCitrus Agroindustrial e Comercial S.A., pelo empréstimo da extratora de suco de laranja Deli Juicer.

Aos funcionários Waldeci e Adalto, da planta piloto; e às amigas Priscila e Aninha, do Laboratório de Frutas, que sempre me atenderam com dedicação e presteza.

À Ana Lurdes, do Laboratório de Microbiologia, por ter me ensinado os encantos da microbiologia.

A todos os amigos da Tecnologia, os quais alegraram, tantas vezes, os meus dias de trabalho. MUITO OBRIGADA!

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABELAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVO.....	04
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	05
3.1. Alimentos Funcionais.....	05
3.2. Componentes dos Alimentos com Propriedades Salutares.....	07
3.3. Propriedades Fisiológicas das Fibras Dietéticas.....	09
3.3.1. Propriedades Fisiológicas da Pectina.....	11
3.3.1.1. Efeito Hipocolesterolêmico.....	12
3.3.1.2. Estudos Clínicos com Pectina como Ingrediente Funcional.....	14
3.4. Propriedades Fisiológicas dos Oligossacarídeos.....	15
3.4.1. Propriedades Fisiológicas dos Frutooligossacarídeos.....	17
3.4.1.1. Efeito na Biomassa e Volume Fecal.....	21
3.4.1.2. Produção de Ácidos Graxos de Cadeia Curta.....	21
3.4.1.3. Efeito Prebiótico.....	22
3.4.2. Estabilidade dos Frutooligossacarídeos.....	23
3.4.3. Análises para Determinação de Frutooligossacarídeos.....	24
3.5. Suco de Cenoura.....	25
3.6. Suco de Laranja.....	27

3.7. Propriedades Nutricionais de Alimentos Ricos em Vitaminas e Carotenóides.....	29
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
4.1. Material.....	31
4.1.1. Matéria Prima.....	31
4.1.2. Equipamentos.....	32
4.1.3. Reagentes.....	33
4.2. Métodos.....	33
4.2.1. Metodologia Experimental.....	33
4.2.1.1. Extração dos Sucos.....	33
4.2.1.2. Tratamento Térmico.....	36
4.2.1.3. Planejamento Experimental.....	36
4.2.1.4. Ensaio Biológico.....	39
4.2.2. Metodologia Analítica.....	44
4.2.2.1. Análises Físico-químicas para a Caracterização do Suco Misto de Cenoura e Laranja Padronizado.....	44
4.2.2.2. Efeito da Adição de Fruto-oligossacarídeo e Pectina nas Propriedades Físico-químicas do Suco Misto de Cenoura e Laranja.....	44
4.2.2.3. Efeito da Adição de Fruto-oligossacarídeo e Pectina nas Propriedades Sensoriais do Suco Misto de Cenoura e Laranja (AVALIAÇÃO SENSORIAL).....	45
4.2.2.4. Efeito da Adição de Fruto-oligossacarídeo e Pectina quanto a Qualidade Nutricional do Suco Misto de Cenoura e Laranja.....	46
4.2.2.5. Efeito do Tratamento Térmico e estocagem sobre os Fruto-	

oligossacarídeos.....	48
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
5.1. Caracterização do Suco Misto de Cenoura e Laranja.....	49
5.2. Efeito da Adição de Fruto-oligossacarídeo e Pectina nas Propriedades Físico-químicas do Suco Misto de Cenoura e Laranja.....	52
5.2.1. Acidez.....	54
5.2.2. pH.....	56
5.2.3. Teor de Sólidos Solúveis (°Brix).....	59
5.2.4. Viscosidade.....	62
5.2.5. Análise de Cor.....	65
5.3. Efeito da Adição de Frutooligossacarídeo e Pectina nas Propriedades Sensoriais do Suco Misto de Cenoura e Laranja.....	68
5.3.1. Sabor.....	69
5.3.2. Consistência.....	72
5.3.3. Aparência.....	76
5.3.4. Avaliação Global.....	79
5.4. Efeito da Adição de Frutooligossacarídeo e Pectina quanto a Funcionalidade Nutricional do Suco Misto de Cenoura e Laranja.....	83
5.4.1. Redução de Colesterol no Sangue dos Animais.....	85
5.4.2. Contagem de Bifidobactérias nas Fezes dos Animais.....	88
5.5. Efeito do Tratamento Térmico e Estocagem sobre os Frutooligossacarídeos.....	94
6. CONCLUSÃO.....	98
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	100

ÍNDICE DE TABELAS

1- Componentes dos alimentos com propriedades salutareas	08
2- Efeito hipocolesterolêmico das fibras solúveis em humanos	11
3- Efeito de oligossacarídeos na absorção de cálcio	17
4- Estudos nutricionais em humanos investigando as propriedades prebióticas de frutooligossacarídeos	22
5- características dos frutooligossacarídeos	24
6- Nutrientes componentes da cenoura crua e do suco de cenoura por 100g	26
7- Nutrientes componentes do suco de laranja por 100 ml	28
8- Avaliação físico-química do suco de cenoura e do suco de laranja	28
9- Caracterização físico-química do suco misto de cenoura e laranja	29
10- Teores de vitamina A e vitamina C em frutas	30
11- Níveis de carotenóides na cenoura e no suco de cenoura	30
12- Variáveis Independentes no Planejamento Experimental 2 ²	37
13- Planejamento Experimental 2 ²	38
14- Composição das dietas padrão e suplementadas com suco misto de cenoura e laranja para o ensaio biológico	41
15- Composição da mistura mineral	42
16- Composição da mistura vitamínica	43
17- Meio seletivo usado para a enumeração das bifidobactérias fecais	47
18- Características do suco de cenoura	49
19- Características do suco de laranja	50
20- Características do suco misto de cenoura e laranja	51

21- Características físico-químicas do suco funcional	53
22- Efeito estimado, erro puro, grau de significância e coeficiente de regressão para cada fator para a acidez	54
23- Análise de variância do modelo para a acidez	55
24- Efeito estimado, erro puro, grau de significância e coeficiente de regressão para cada fator para o pH	56
25- Análise de variância do modelo ajustado para o pH	57
26- Efeito estimado, erro puro, grau de significância e coeficiente de regressão para cada fator para o °Brix	59
27- Análise de variância do modelo ajustado para o teor de sólidos solúveis (°Brix)	60
28- Efeito estimado, erro puro, grau de significância e coeficiente de regressão para cada fator para a viscosidade	62
29- Análise de variância do modelo ajustado para viscosidade	63
30- Valores médios de L*, a*, b*, DE, (calibração RSIN; iluminante D65/10°; sistema Hunterlab) de suco misto de cenoura e laranja adicionados de pectina e frutooligossacarídeo	66
31- Médias das notas atribuídas ao suco funcional	68
32- Efeito estimado, erro puro, grau de significância e coeficiente de regressão para cada fator no parâmetro sabor	69
33- Análise de variância do modelo ajustado para o sabor	70
34- Efeito estimado, erro puro, grau de significância e coeficiente de regressão para cada fator no parâmetro consistência	73
35- Análise de variância do modelo ajustado para o parâmetro consistência	74

36- Efeito estimado, erro puro, grau de significância e coeficiente de regressão para cada fator no parâmetro aparência	76
37- Análise de variância do modelo ajustado para o parâmetro aparência	77
38- Efeito estimado, erro puro, grau de significância e coeficiente de regressão para cada fator no parâmetro avaliação global	80
39- Análise de variância do modelo ajustado para o parâmetro avaliação global	81
40- Ganho de peso (g) durante o experimento biológico	84
41- Nível de colesterol no sangue dos animais	85
42- Contagem de bifidobactérias nas fezes dos animais	89
43- Estabilidade de frutooligossacarídeos após a pasteurização e estocagem	94
44- Quantificação de açúcares (g/100ml) no suco misto <i>in natura</i> e FOS	95

ÍNDICE DE FIGURAS

1- 1-kestose; nystose; 1 ^F -frutofuranosilnystose	18
2- Processamento do Suco de Cenoura	34
3- Processamento do Suco de Laranja	35
4- Superfícies de resposta e de contorno para o pH	58
5- Superfícies de resposta e de contorno para o °Brix	61
6- Superfícies de resposta e de contorno para a viscosidade	64
7- Superfícies de resposta e de contorno para o sabor	71
8- Superfícies de resposta e de contorno para a consistência	75
9- Superfícies de resposta e de contorno para a aparência	78
10- Superfícies de resposta e de contorno para a avaliação global	82
11- Níveis de Colesterol dos Grupos Controle e Experimentais no Ensaio Biológico	88
12- Contagem de Bifidobactérias nas Fezes dos Grupos Alimentados com FOS durante o Ensaio Biológico	90
13- Bifidobactérias das Fezes de Hamsters	93
14- Bifidobacterium lactis patente Bb-12 Christian Hansen	93
15- Hidrólise de FOS em frutose no suco adicionado de 5% de FOS	96
16- Hidrólise de FOS em frutose no suco adicionado de 10% de FOS	97
17- Hidrólise de FOS em frutose no suco adicionado de 15% de FOS	97

RESUMO

Foram estudados os efeitos da adição de dois ingredientes funcionais, pectina cítrica e frutooligossacarídeos, no suco misto de cenoura e laranja. A pectina vem demonstrando ter efeito hipocolesterolêmico em ampla variedade de experimentos com animais e em humanos. Os frutooligossacarídeos vem demonstrando o efeito “prebiótico”, providenciando benefícios fisiológicos por estimulação seletiva de bifidobactérias no cólon, melhorando em vários aspectos a saúde do hospedeiro, causando melhoria na flora intestinal, supressão na produção de substâncias putrefativas, alívio de constipação e redução de colesterol. Foram avaliadas as propriedades físico-químicas, a aceitação sensorial e sua qualidade nutricional através de um ensaio biológico com hamsters. O suco misto de cenoura e laranja foi adicionado de pectina e frutooligossacarídeo seguindo um planejamento fatorial de 11 ensaios, variando as concentrações de pectina (1 a 3%) e frutooligossacarídeo (5 a 15%). Nos menores níveis de pectina obteve-se produtos de boa aceitação sensorial. O frutooligossacarídeo não apresentou nenhum efeito negativo na aceitação do produto. A redução do colesterol foi de 30% pelo efeito de 3% de pectina no suco, porém sensorialmente o produto teve menor aceitação devido a alta consistência e sabor prejudicado. 15% de frutooligossacarídeo no suco providenciou o aumento de 10 vezes no número de bifidobactérias nas fezes dos animais, e também foi responsável por uma redução de 25% no nível de colesterol. Verificou-se ainda que a pectina prejudicou o crescimento de bifidobactérias nos animais tratados com ambos os ingredientes. Foi verificado ainda a hidrólise de cerca de 50% do frutooligossacarídeo em frutose pelo efeito do tratamento térmico durante o processamento do suco misto.

ABSTRACT

The effects of addition to a carrot-orange blended juice of two functional ingredients, citric pectin and fructo-oligosaccharides, were studied. Pectin has proved to have hypocholesterolemic effect in a wide range of experiments involving animals and humans. The fructo-oligosaccharides has revealed a probiotic effect, providing physiologic benefits by selective stimulation of bifidobacteria in the colon, enhancing the host health under different aspects, improving the intestinal flora, suppressing the production of putrefactive substances, decreasing constipation and reducing cholesterol levels. The physicochemical properties, as well as the sensory acceptance and the nutritional quality, by means of a biological assay with hamsters, were evaluated. The carrot-orange blended juice was added by pectin and fructo-oligosaccharides, according to a factorial design consisted of 11 trials, in which the variables were the pectin concentration (1 to 3%) and fructo-oligosaccharide (5 to 15%). Using lower levels of pectin, products with good sensory acceptance were obtained. The fructo-oligosaccharide did not reveal any negative effect on the acceptance of the product. The cholesterol was reduced in 30% by the addition of 3% pectin to the juice, but this product presented lower acceptance because of the high consistency and impaired flavor. The concentration of 15% of fructo-oligosaccharide in the juice provided a 10-fold increasing in the quantity of bifidobacteria in the animal feces, besides having been responsible by a 25% reduction in the cholesterol level. It was verified that the pectin impaired the bifidobacteria growth in animals that received both the ingredients. Further, it was observed the hydrolysis of about 50% of the fructo-oligosaccharide in fructose, due to the thermal treatment applied during processing of the juice.

1. INTRODUÇÃO

Os cientistas e profissionais da saúde têm discutido por muitos anos o efeito protetor da saúde relacionado a alimentos e nutrientes. Apesar das controvérsias e mecanismos não esclarecidos, tem sido recomendada a ingestão de alimentos ricos em fibras e pobres em gorduras, em predominância de frutas e verduras. Esta alimentação diminuiria o risco de doenças crônicas como artrite, câncer, osteoporose e doenças cardiovasculares.

Em meados dos anos 80 crescia no Japão o interesse em alimentos que além de satisfazer requerimentos sensoriais e nutricionais básicos, desempenhassem uma terceira função com efeitos fisiológicos benéficos, chamados de alimentos funcionais ou, internacionalmente, de “designer foods”, “therapeutic foods”, “nutraceuticals”, “functional foods”, “nutritional foods” e outros.

O interesse nestes alimentos decorre dos altos custos com a saúde, do enfoque internacional na prevenção de doenças, da descoberta de novas tecnologias e da evidência emergente dos benefícios médicos de nutrientes particulares, como carotenóides, licopeno (antioxidantes que protegem contra câncer); catequinas (previnem o câncer e baixam os níveis de colesterol); flavonóides (dificultam a recepção de hormônios que promovem câncer); genisteína (detêm a proliferação de células cancerosas); fibras, e outros. Devido à recentes dados científicos demonstrando a relação entre o consumo de alimentos e a incidência de doenças, os consumidores estão começando a aceitar que, para uma significativa parte, “saúde é uma dádiva controlável”. De uma forma geral, as pessoas estão atentas para o consumo de alimentos saudáveis. Nos últimos anos, cresceu o consumo de produtos contendo substitutos de gordura e açúcares, frutas e verduras, uso de complementos nutricionais e outras formas de alimentação alternativa. Existe uma espaço de mercado que poderia ser preenchido pelos “alimentos funcionais” e a indústria brasileira também deveria

investir em pesquisa e desenvolvimento e colocar à disposição do consumidor produtos cujo potencial protetor fosse consolidado através da pesquisa.

O Japão é o líder mundial no desenvolvimento de alimentos funcionais e os considera como a maior oportunidade de novos produtos. Em 1991, no Japão, 70% do mercado de alimentos funcionais pertencia a bebidas (refrigerantes, liderados pelas bebidas isotônicas para desportistas), e o restante a alimentos. Outros alimentos desenvolvidos incluem bebidas adicionadas de cálcio, vitaminas e fibras solúveis; biscoitos enriquecidos com fibras; cereais isentos de glúten; leite isento de lactose e alimentos contendo microorganismos vivos. A distribuição dos ingredientes em vários potenciais de alimento funcional é estimado ser fibras dietéticas (40%), cálcio (20%), oligossacarídeos (20%), bactérias acidolácteas (10%) e outros (10%) (PA Consulting Group 1990).

Acredita-se que a dieta tem um importante papel nas quatro maiores doenças da nossa sociedade: doenças cardiovasculares, câncer, hipertensão e obesidade. O maior componente alimentar relacionado com doenças cardiovasculares e câncer são as gorduras saturadas, e o baixo consumo de fibras, vegetais e frutas.

Doenças cardiovasculares ainda são responsáveis por 51% das mortes no mundo (DUTHIE & BROWN, 1994). Por ano, no Reino Unido, 170 mil pessoas morrem por enfarto do miocárdio e custam a National Health Service 500 milhões de libras por ano. Os fatores fumo, colesterol no sangue e hipertensão explicam 50% da variância na incidência da doença. No Brasil, o Ministério da Saúde avalia que 300 mil pessoas morrem anualmente de complicações cardíacas, o que representa 34% do índice de mortalidade geral (FRANÇA, 1998).

Entre os efeitos metabólicos e fisiológicos das fibras dietéticas, os efeitos no metabolismo dos lipídios têm sido amplamente investigado. Na maioria dos estudos, as fibras solúveis apresentam propriedades hipocolesterolêmicas,

enquanto que as fibras insolúveis tem pouco ou nenhum efeito sobre o metabolismo do colesterol. As evidências indicam que uma variedade de diferentes fibras solúveis, incluindo guar, pectina, farelo de aveia, fibra de soja e psyllium, reduzem os níveis de colesterol e glicose no sangue.

Outro ingrediente funcional que tem merecido destaque são os oligossacarídeos. Várias pesquisas vem analisando a inclusão de oligossacarídeos resistentes (não digeríveis pelo trato digestivo humano) como fibras. Entre as classes de oligossacarídeos existentes, os fruto-oligossacarídeos são adicionados aos alimentos porque promovem o crescimento de bactérias bífidas (alimentos probióticos). Por seu efeito antagonista, suprimem o crescimento de bactérias putrefativas balanceando a flora intestinal (alimento prebiótico) e reduzindo, desta forma, o acúmulo de metabólitos tóxicos decorrentes de processos fermentativos e a incidência de câncer colônico. O aumento das bifidobactérias também previne a constipação, entre outros efeitos benéficos.

2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é conciliar o efeito fisiológico das fibras solúveis, mais especificamente da pectina cítrica, na redução da colesterolemia; e a habilidade dos frutooligossacarídeos em “purificar” o trato intestinal através do aumento do número de bifidobactérias, desenvolvendo uma bebida funcional de suco natural de cenoura e laranja adicionado destes dois ingredientes. Além disso, sucos de frutas são fontes de vitaminas, minerais, carboidratos, aminoácidos, flavonóides, ácidos polifenólicos, fibras, carotenos, monoterpenos, que são protetores químicos contra vários tipos de câncer, inibidores de produção de colesterol, além de promoverem enzimas protetoras e atuarem como antioxidantes naturais.

O objetivo principal é, portanto, estudar os efeitos da adição destes dois ingredientes funcionais, pectina cítrica e fruto-oligossacarídeos, no suco misto de cenoura e laranja. Foram avaliados a aceitação sensorial; as propriedades físico-químicas; e sua qualidade nutricional através de ensaio biológico em hamsters.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Alimentos Funcionais

É comumente considerado que percepções sobre as propriedades salutares de certos alimentos não privam conhecimentos científicos. Mas, sem dúvida nenhuma, há um crescente corpo de evidências científicas para suportar a confiança de que certos alimentos não só proporcionam nutrientes essenciais à vida mas também podem aumentar a saúde (FUNCTIONAL the technical..., 1995).

Alimentos funcionais, em adição ao seu valor nutritivo básico e natural, atuam diretamente na prevenção e tratamento de indisposições e doenças. Se o alimento pode ser produzido melhor e mais saudável através da remoção de ingredientes, então por que não a presença de certos outros ingredientes adicionados ou substituídos. Certamente isto poderia ter um impacto positivo na saúde de indivíduos, performance física ou estado da mente, como aqueles ingredientes que foram retirados (GOLDBERG, 1994).

Segundo TURNER (1995), no Japão, onde o setor de alimentos funcionais vem se desenvolvendo rapidamente, tais produtos são definidos como “alimentos designados a ser medicalmente benéficos, regulando as funções do corpo de um meio que ajude a proteger contra várias doenças tais como hipertensão, diabetes, câncer, osteoporose e doenças do coração”. TURNER define alimentos funcionais como “aqueles alimentos e bebidas que formam parte da dieta normal e que proporcionam certos benefícios fisiológicos, usualmente atribuídos à inclusão de ingredientes particulares”.

Após um trabalho em conjunto de 9 anos, envolvendo universidades, governo e associações industriais, esta categoria de alimentos foi regulamentada em julho de 1991 no Japão recebendo o nome de “Foods for Specified Health Use” (FOSHU). Devem apresentar propriedades medicinais e salutares, na forma

de alimentos comuns, consumidos em dietas convencionais, mas que demonstrem capacidade de regular funções corporais, de forma a auxiliar na proteção contra doenças como hipertensão, câncer, osteoporose, e cardiopatias. A forma de apresentação e de consumo deve ser diferente da permitida em produtos farmacêuticos (CÂNDIDO & CAMPOS, 1996).

Segundo PSZCZOLA (1992) a expressão “designer foods” foi colocada na imprensa popular nos Estados Unidos, em 1989, pelo Dr. Herbert Pierson Jr., responsável pelo desenvolvimento de projetos de pesquisa nesta área no “National Cancer Institute”. Estes termos foram utilizados para designar uma “substância que pode ser um alimento ou parte de um alimento que proporciona benefícios médicos ou de saúde, incluindo a prevenção e tratamento de doenças”. Outra definição seria: “alimentos selecionados ou formulados para aumentar a ingestão de compostos biologicamente ativos encontrados em vegetais”.

MARCHETTI (1993) definiu alimentos funcionais como sendo “todo alimento ou bebida que, consumido na alimentação quotidiana, pode trazer benefícios fisiológicos específicos, graças a presença de ingredientes fisiologicamente salutares”. O autor diferenciou alimentos salutareis, alimentos funcionais, e alimentos medicinais através dos seguintes exemplos: suco vegetal e infuso de ervas; bebidas de elevado conteúdo de fibras e bebidas protéicas; vitaminas e sais minerais; respectivamente.

De acordo com HUGHSON (1995), um alimento torna-se funcional quando usado como veículo para um nutriente ou um nível de nutriente que não conteria naturalmente.

Na opinião de DOWNER (1994), alimento funcional é um termo poderoso e emotivo, uma vez que todos os alimentos são funcionais, mas aceita o conceito generalizado de que o termo abrange alimentos que proporcionam benefícios adicionais à nutrição.

Para TURNER (1995), todos os alimentos são funcionais, ou melhor, multifuncionais, uma vez que satisfazem necessidades funcionais, fisiológicas, sensoriais e práticas. Para o autor, deveriam ser diferenciados dois conceitos: alimento funcional como aqueles cuja composição foi modificada para alcançar algum benefício para a saúde; e alimento salutar, aquele cuja composição natural o faz apropriado para proporcionar benefícios à saúde.

3.2. Componentes dos Alimentos com Propriedades Salutares

Os benefícios à saúde atribuídos aos alimentos funcionais são dependentes da ação ou funcionalidade de ingredientes nele incorporados (BLENDFORD, 1995).

A Tabela 1 apresenta de forma sucinta os principais componentes alimentares com potencial protetor da saúde e os alimentos que os contêm.

TABELA 1. Componentes dos alimentos com propriedades salutaras. ^a

COMPOSTOS	POSSÍVEL EFEITO SALUTAR	FONTE
TERPENÓIDES		
Carotenóides	Antioxidantes que protegem contra câncer e podem reduzir a placa arterial	Salsa, cenoura abóbora, batata doce, inhame, cantalupo, espinafre, couve, nabo, damasco, frutas cítricas
Limonóides	Promovem enzimas protetoras	Frutas cítricas
Licopeno	Antioxidante, aumenta a resistência ao câncer	Tomate, toronja vermelha
Monoterpenos	Antioxidantes que combatem câncer, inibem a produção de colesterol e promovem enzimas protetoras	Brócolis, salsa, cenoura couve, pepino abóbora, inhame, tomate, beringela, frutas cítricas, hortelã, manjeriço
Esteróides vegetais	Bloqueiam a ação do estrogênio no câncer de mama, ajudam a bloquear a absorção do colesterol	Brócolis, couve, pepino abóbora, inhame, tomate, beringela, soja, cereais integrais
Triterpenóides	Previnem a queda dos dentes e atuam como agentes anti-úlceras. Ligam-se ao estrogênio e inibem o câncer	Frutas cítricas, raiz de alcaçuz, soja
TIOIS		
Sulfetos alifáticos	Promovem enzimas protetoras, inibem a síntese de colesterol e a atividade inflamatória	Cebola, alho
γ-glutamil cisteína	Pode baixar a pressão arterial e elevar a atividade do sistema imune	Alho
Isotiocianatos	Induzem enzimas protetoras	Mostarda, rábano, rabanete
FENÓLICOS		
Catequinas	Previnem o câncer gastrointestinal, podem modificar a resposta imune, baixam os níveis de colesterol	Chá verde, cerejas
Cumarinas	Previnem a coagulação sanguínea e podem atuar como anticancerígenos	Salsa, cenoura, frutas cítricas
Flavonóides	Dificultam a recepção de certo hormônios que promovem câncer	Soja, cenoura, frutas cítricas, brócolis, pepino, abóbora, inhame, tomate, couve, beringela, pimenta, salsa, cerejas
Genisteína	Pode bloquear a disseminação de tumores, detendo a proliferação de células cancerosas	Soja e vegetais da família da couve
Ácidos fenólicos	Podem auxiliar na resistência ao câncer por inibir nitrosamina e afetar atividades enzimáticas	Salsa, cenoura, brócolis, couve, tomate, beringela, pimenta, frutas cítricas, cereais integrais, cerejas
OUTROS		
Fibras	Diluem carcinógenos no cólon e aceleram e aceleram sua passagem pelo sist. digestivo, impedem o crescimento de bactérias nocivas e estimulam o das saudáveis	Cereais integrais, vegetais
Indóis	Promovem enzimas protetoras que inativam o estrogênio	Couve, couve de bruxelas, repolho
Ácido linolênico	Agente antiinflamatório	Vegetais folhosas e sementes
Ftalideos	Estimulam a produção de enzimas que detoxificam carcinógenos	Salsa, cenoura, aipo
Poliacetilenos	Protegem da ação de carcinógenos do tabaco e regulam prostaglandinas	Salsa, cenoura, aipo

^a Adaptado de CAMPOS & CAMPOS (1996).

3.3. Propriedades Fisiológicas das Fibras Dietéticas

Um dos mais importantes ingredientes à nível mundial em alimentos funcionais é a fibra dietética. Em 1994, a Food Expo introduziu uma variedade de novas fibras derivadas de trigo, chicória, ervilha, amido resistente e, ainda, uma combinação de milho, centeio e cevada maltada (SLOAN, 1994).

A fibra não é uma substância uniforme. É uma mistura de muitas substâncias orgânicas complexas, cada uma tendo uma única propriedade física e química. Fibras dietéticas são comumente definidas como “polissacarídeos e ligninas de plantas que são resistentes à hidrólise das enzimas digestivas do homem” (STARK & MADAR, 1994). É não calórica e contribui para as funções vitais do corpo (DUXBURY, 1993).

Uma classificação largamente usada é a de fibras solúveis em água ou fibras viscosas em forma de gel, e fibras insolúveis em água. Esta distinção é conveniente porque muitos dos efeitos fisiológicos das fibras parecem estar baseados nesta propriedade. As fibras solúveis são altamente fermentáveis e estão associadas com o metabolismo de carboidratos e lipídios, enquanto que as insolúveis contribuem para o bulbo fecal e redução do tempo de transição intestinal (STARK & MADAR, 1994).

Os componentes insolúveis são encontrados principalmente na celulose (a menos solúvel de todas as fibras), hemicelulose, lignina, cutina e ceras. Fibras solúveis são basicamente gomas de muitas fontes, nas quais incluem-se guar, goma arábica, carragena, celulosas modificadas, goma ghatti, goma guar, goma karaya, goma de alfarroba, psyllium e goma xantana. Beta-glucanas e pectinas também são fontes de fibras solúveis em muitas plantas. Aveia, cevada e centeio são tipicamente ricos em beta-glucanas. Frutas cítricas e maçã são principalmente fontes de pectina (DUXBURY, 1993).

As fibras solúveis dissolvem em água e passam pelo sistema digestivo mais lentamente. Em conjunto com dietas de baixa gordura, podem diminuir o colesterol no sangue em algumas pessoas. Há evidências científicas que as fibras dietéticas tem um papel protetor contra doenças do coração, câncer, diabetes, diverticulose, hipertensão e pedras na vesícula (KAPICA, 1993).

Fibras solúveis vem sendo amplamente investigadas e, na maioria dos estudos, vem mostrando ter propriedades hipocolesterolêmicas. O mecanismo pelo qual elas afetam o metabolismo de lipídios não está bem compreendido. A mais óbvia explicação é que mudanças físico-químicas no conteúdo gastrointestinal (isto é, aumento da viscosidade) interfere com a formação de micelas e absorção de lipídios. Vem também sendo sugerido que o aumento da excreção de esteróis é responsável pelo efeito da diminuição do colesterol das fibras. Os produtos da fermentação das fibras por bactérias também podem ter uma função no metabolismo, uma vez que ácidos graxos de cadeia curta são produzidos em quantidades relativamente grandes no cólon. Estes ácidos graxos são rapidamente absorvidos e isto vem propor que o propionato produzido inibe a síntese de colesterol hepático (STARK & MADAR, 1994).

Uma outra teoria para explicar como as fibras solúveis agem na absorção ou regulação de nutrientes no plasma, sugere que as fibras solúveis misturam-se com a camada aquosa ao longo da superfície luminal das células mucosas intestinais, aumentando a pegajosidade desta. Uma segunda propõe que as fibras solúveis na camada aquosa muda a composição da barreira de difusão, restringindo a absorção de nutrientes (GORDON, 1990). As duas ações podem agir exclusivamente, ou podem agir sinergeticamente.

Várias revisões documentam o efeito hipocolesterolêmico das fibras solúveis. A Tabela 2 sumariza estes estudos.

TABELA 2. Efeito hipocolesterolêmico das fibras solúveis em humanos. ^a

Referências	Tipo de Fibra	Quantidade (g/dia)	Lipídeos (% de mudança)	
			Colesterol	Triglicerídeos
Aro <i>et al.</i> (1981)	Guar	21	-14*	+11
Kyllastinen and Lahikainen (1981)	Guar	16	-13*	-3
Simons <i>et al.</i> (1982)	Guar	18	-15*	-4
Osilesi <i>et al.</i> (1985)	Goma Xantana	12	-7*	0
Zavoral <i>et al.</i> (1983)	Locust bean	8-30	-5 a -19*	-10
Kay and Truswell (1977)	Pectina	15	-15*	+1
Judd and Truswell (1982)	Pectina	15	-17*	+13
Burton and Manninen (1982)	Psyllium	<25	-16*	0
Lo <i>et al.</i> (1986)	Fibra de Soja	18	-8*	-7
Anderson <i>et al.</i> (1984)	Feijão	19	-19*	-4
Kirby <i>et al.</i> (1981)	Aveia	15	-13*	-5
Anderson <i>et al.</i> (1984)	Aveia	15	-19*	-19*

^a Adaptado de GORDAN (1990).

* Indica valores significativamente menores que os valores controle, P<0,05.

3.3.1. Propriedades Fisiológicas da Pectina

Fontes de fibras solúveis reduzem o colesterol plasmático, enquanto que fibras insolúveis (celulose e farelo de trigo) não têm mostrado efeito direto no metabolismo do colesterol. Em particular, pectina, goma guar e psyllium apresentam um efeito hipocolesterolêmico em uma ampla variedade de experimentos animais e em humanos (TRAUTWEIN *et al.*, 1998; BASU *et al.* 1993).

3.3.1.1. Efeito Hipocolesterolêmico

Pectinas são polímeros de ácido poligalacturônicos, ocorrendo naturalmente na parede celular de plantas e são parte do complexo de fibras dietéticas (JUDD & TRUSWELL, 1982). Os grupos carboxil das moléculas do ácido galacturônico são esterificados em vários graus, usualmente com grupos metoxil, e pectinas podem ser descritas como alta ou baixa metoxil, a última tendo menos que 50% de possíveis grupos carboxil como metil ésteres (JUDD & TRUSWELL, 1985).

Parece que a habilidade da pectina de diminuir o colesterol total no sangue é dependente da dose (REISER, 1987). O autor verificou que pectina de alto peso molecular foi mais efetiva que a de baixo peso molecular na redução do colesterol em ratos, sugerindo que a propriedade hipocolesterolêmica da pectina também depende parcialmente da sua viscosidade. REISER (1987), verificou ainda que a redução chega a ser duas vezes maior quando associada à drogas para tratamento de sujeitos com hipercolesterolemia familiar e o ácido ascórbico parece agir como sinergista.

JUDD & TRUSWELL (1985), reforçam que as propriedades da pectina dependem largamente do seu peso molecular e grau de esterificação. Elas formam soluções viscosas conforme aumenta o peso molecular, mas também são afetadas pelo grau de esterificação e concentração eletrolítica. Segundo o autor, o tipo de pectina mais usado nos estudos de seus efeitos no plasma tem sido a National Formulary (NF) com um grau de esterificação de aproximadamente 70. Vem sendo sugerido que somente pectina com tais graus de metoxilação ($>10,1\% = 63^\circ$) são efetivos agentes hipocolesterolêmicos.

Numerosas hipóteses têm sido propostas para explicar o efeito hipocolesterolêmico das fibras, incluindo a ligação de ácidos biliares, interferência com formação de micelas e síntese do colesterol hepático reduzida pelo

propionato, um produto da fermentação das fibras. No entanto, nenhuma destas hipóteses são totalmente consistentes. É plausível que múltiplos mecanismos estão envolvidos na resposta hipocolesterolêmica e que os mecanismos podem variar consideravelmente ao longo das diferentes fontes de fibras. Uma exatidão das fibras hipocolesterolêmica indica que a maioria delas tem pelo menos um dos dois atributos em comum: elas são viscosas e/ou fermentáveis dentro do trato gastrointestinal. É possível que as que são viscosas e não fermentáveis podem acarretar respostas metabólicas diferentes das fibras hipocolesterolêmicas que são ambas viscosas e fermentáveis (GALLAHER *et al.*, 1993).

Segundo ANDERSON *et al.* (1994), estes e outros mecanismos, trabalhando sozinhos ou em combinação, podem contribuir para o efeito hipocolesterolêmico: modificação na absorção e metabolismo de ácidos biliares; interferência na absorção e metabolismo de lipídeos; produção de ácidos graxos de cadeia curta através da fermentação das fibras no cólon; e alterações nas concentrações de ou sensibilidade à inulina ou outros hormônios.

BAKER (1994) explica que a pectina promove um aumento na excreção dos ácidos biliares que interrompe a circulação enteropática, causando um aumento nas funções do fígado levando à síntese de ácidos biliares do colesterol. Outro mecanismo proposto vem de estudos *in vitro*, que mostram que a pectina reduz a atividade da enzima pancreática, o que poderia aumentar a excreção de gordura.

REISER (1987) reforça que o efeito hipocolesterolêmico é parcialmente devido à intensificação da excreção fecal de esteróis neutros e ácidos biliares. Os ácidos biliares secretados pelo fígado no intestino podem se ligar à pectina, prevenindo sua reabsorção e então aumentando sua perda nas fezes. A inibição da síntese de ácidos biliares do colesterol é então reduzida e o colesterol adicional é utilizado para a síntese. Isto produz um estado metabólico consistente que reduz o nível de colesterol no sangue.

3.3.1.2. Estudos Clínicos com Pectina como Ingrediente Funcional

Várias experiências clínicas em animais e humanos vem demonstrando o efeito hipocolesterolêmico da pectina e outras fibras. TRAUTWEIN *et al.* (1998) estudaram entre outros o efeito de duas variedades de pectina em hamsters: pectina de alta esterificação com DE em 69%; e pectina de baixa esterificação com DE em 34%. Não houve nenhuma diferença significativa no colesterol total do plasma e concentração de triacilglicerol entre as duas pectinas. A pectina de alta esterificação diminuiu em 16% (não significante estatisticamente) o colesterol no plasma, e diminuiu significativamente em 45% o triacilglicerol no plasma. As dietas foram suplementadas com 80g de pectina / kg e o estudo durou 6 semanas.

FERNANDEZ *et al.* (1994) alimentou porcos com pectina cítrica contendo 6,7% de grupos metoxil e 74% de ácido galacturônico, nas concentrações de 0 a 12,5% incorporada na dieta. Dois tipos de dietas foram testadas: uma dieta de alta concentração de colesterol, e outra com baixa concentração de colesterol. As maiores reduções aconteceram no primeiro caso, as quais foram de 29%, 30%, 67% com 7,5%, 10% e 12,5% de pectina, respectivamente.

Já ANDERSON *et al.* (1994) promoveu um estudo em ratos com 10 diferentes tipos de fibras, incluindo a pectina. Para providenciar 60g de fibra / kg na dieta usou-se 100g de pectina / kg de dieta. Os ratos foram alimentados durante 3 semanas. As dietas contendo pectina tiveram o menor nível de colesterol comparado com os outros testes.

Em um estudo com animais e humanos, CERDA (1990) alimentou mini-porcos com pectina de grapefruit. O tratamento foi de 3% de pectina durante 326 dias. Foi concluído que a pectina reduziu significativamente o colesterol no plasma de 30%. Paralelamente, 27 pessoas foram submetidas à um tratamento em que recebiam 15g diárias (em cápsulas) durante 4 semanas. Isto resultou em uma diminuição de 7,6% de colesterol no plasma.

JUDD & TRUSWELL (1982) estudaram os efeitos no sangue e lipídeos fecais da adição de 15g de pectina de alta e baixa metoxilação na dieta habitual de 10 jovens adultos. Foram usadas pectina cítrica de alto e baixo grau de metoxilação (70,7% e 37,2%, respectivamente) com viscosidade inerente de 4,43 e 3,26, respectivamente. As pectinas foram incorporadas em geleias, em porções diárias de 15g de pectina durante 7 semanas. Os níveis de colesterol total foram significativamente reduzidos de 16% para a pectina de baixa metoxilação e 18% para a de alta metoxilação. Não houve diferença significativa entre os dois tipos de pectina.

KAY & TRUSWELL (1977) avaliaram uma pectina cítrica em uma dose diária de 15g, por 3 semanas em 9 indivíduos. A concentração de colesterol no plasma foi reduzido de aproximadamente 13%. A excreção de gordura nas fezes aumentou em 44%, esteróis neutros em 17% e ácidos biliares em 33%.

Um outro estudo em humanos mostra que, em geral, a adição de pectina à dieta em níveis de menos que 6g/dia tem alcançado reduções significantes em colesterol. O limite de efetividade é de 15 a 20g/dia, o que providencia de 11 a 12% de redução no nível de colesterol (BAKER, 1994).

3.4. Propriedades Fisiológicas dos Oligossacarídeos

Oligossacarídeos, maior grupo de ingredientes funcionais estudado no Japão, são carboidratos consistindo de 2 a aproximadamente 10 monômeros que não podem ser digeridos pelas enzimas do intestino humano e então alcançam o cólon onde são fermentados pela flora colonial. Podem derivar de várias fontes sendo as mais importantes: sucrose, lactose, inulina e amido (FOX, 1998).

Segundo CRITTENDEN & PLAYNE (1996), os oligossacarídeos podem ser classificados em grupos, os quais se destacam: Galacto-oligossacarídeos,

Lactulose, Fruto-oligossacarídeos, Palatinose oligossacarídeos, Glicosil sucrose, Malto-oligossacarídeos, Isomalto-oligossacarídeos, Ciclodextrinas, Gentio-oligossacarídeos, Oligossacarídeos de soja e Xylo-oligossacarídeos. Em geral, não são produtos puros, são misturas contendo oligossacarídeos de diferentes graus de polimerização. São solúveis em água e moderadamente doce. Comparado com mono e dissacarídeos, os oligossacarídeos de alto peso molecular providenciam aumento da viscosidade, melhorando corpo e textura. Providenciam alta capacidade de absorção de umidade, prevenindo secagem excessiva e baixa atividade de água, o que é conveniente no controle de contaminação microbiológica.

Os oligossacarídeos alcançam o cólon inalterados e lá são prontamente fermentados pela microflora intestinal. Isto resulta em mudanças nesta flora, pelo aumento do número e potencial de microrganismos benéficos, enquanto reprimem o número de bactérias prejudiciais (Symposium on non-digestible oligosacharides)¹.

Os oligossacarídeos são notados pela habilidade de promover crescimento de culturas bacterianas no intestino, melhorando a digestão. Eles estão agora sendo reconhecidos também por seu potencial anticarcinogênico. Uma faixa de interesse entre os oligossacarídeos é liderada pelos frutooligossacarídeos, os quais são produzidos em grandes quantidades para uso em alimentos funcionais, processados e pet foods (BLENFORD, 1995). Fruto-, galacto-, isomalto-, e xylo-oligossacarídeos mostram crescimento seletivo de *Bifidobacterium* no intestino grosso. Galacto- e fruto-oligossacarídeos também são conhecidos por estimular a absorção de minerais (NAKANO, s.d.).

Segundo MIZOTA (1996), são estáveis ao calor e pH sob condições normais de processamento de alimentos.

¹ VLAG/WIAS Non-Digestible Oligosacharides Healthy Food for the Colon?, Wageningen, 4-5 Dezembro, 1997. [wysiwyg://99/http://www.wau.nl/vlag/ndosymp.html](http://www.wau.nl/vlag/ndosymp.html)

Um número de benefícios à saúde resultam da ingestão de oligossacarídeos: proliferação de Bifidobactérias e redução de bactérias detriminentares; redução de metabólitos tóxicos e enzimas detriminentares; prevenção de diarréia patógena e autógena; prevenção da constipação, através da produção de altos níveis de cadeia curta estimulando o peristaltismo intestinal e aumentando a umidade fecal; proteção das funções do fígado através da redução de metabólitos tóxicos; redução do colesterol devido a mudanças na microflora intestinal, sendo mostrado que 12 espécies de *Lactobacillus acidophilus* de humanos assimilam o colesterol em estudos *in vitro*; redução da pressão sangüínea; efeito anticancerígeno; e produção de nutrientes (TOMATSU, 1994; MIZOTA, 1996).

A absorção de cálcio através de oligossacarídeos foi descrita na Tabela 3:

TABELA 3. Efeito dos oligossacarídeos na absorção de cálcio. ^a

Oligossacarídeo	Absorção (%)
Controle	57,8
Isomalto-oligossacarídeos	55
Galacto-oligossacarídeos	62
Raffinose	68,2
Fruto-oligossacarídeos	70,8

^a Adaptado de NAKANO (s.d.).

3.4.1. Propriedades Fisiológicas dos Frutooligossacarídeos

Frutooligossacarídeos, ou oligofrutose, pertencem ao grupo de carboidratos conhecidos como oligossacarídeos não-digeríveis, encontrados comumente em uma série de alimentos: chicória, aspargos, alho, banana, trigo e outros. Quimicamente, são β -D-frutanas com grau de polimerização variando entre 2 e 20 (GIBSON *et al.*, 1994), ou ainda, 1^F - (1- β -frutofuranosil)_{n-1} oligômeros de frutose, onde n pode variar de 2 a 4. Eles consistem de moléculas de sucrose, as quais

uma, duas ou três unidades de frutose são adicionadas através de uma ligação β -(2-1)- glicosídica (SPIEGEL *et al.*, 1994).

As β -frutanas naturais tem um grau de polimerização variando de 2 a 55, ou mais. Frutanas de menor massa (grau de polimerização de 2 a 20) são chamadas de frutooligossacarídeos (Figura 1), enquanto que polímeros de massa maior são conhecidos como inulina. Frutanas são carboidratos não-redutores hidrosolúveis formadas em plantas compostas de unidades de frutanosil, mas usualmente contendo um terminal glucose por molécula (WANG *et al.*, 1999).

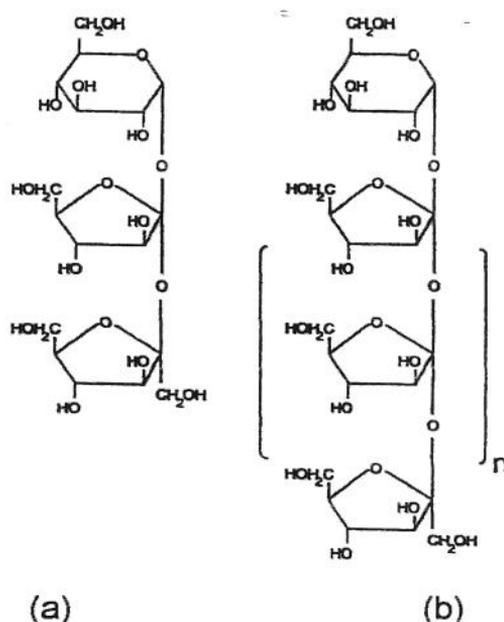


FIGURA 1

(a): 1-kestose

(b): $n = 1$; nystose

$n = 2$; 1^F -frutofuranosilnystose

Este açúcar é muito menos calórico que a sucrose, tem 30% da doçura do açúcar, muito solúvel em água, e é adequado para diabéticos (não influencia os níveis de glicose no sangue nem estimula a secreção de insulina). Também tem propriedades parecidas com fibras dietéticas, causando diminuição no trânsito intestinal, redução de colesterol no sangue e pH das fezes, mas aumenta o volume fecal (GIBSON *et al.*, 1994).

Segundo COUSSEMENT (1995), tem excelente propriedades tecnológicas e sabor e textura. Eles podem ser simplesmente adicionados (quantidades de 2 a 5% são mais comuns) ou usados para substituir outros carboidratos. Porém, KOO (s.n.t.)^{*} alerta que em pH menor que 4,5 sua estrutura é quebrada e suas propriedades funcionais podem ser perdidas.

O conceito de “alimentos probióticos” está agora bem definido na Europa, e muitos produtos lácteos contem estes suplementos alimentares microbianos que podem providenciar benefícios fisiológicos após o consumo, através de um balanço microbiológico no trato gastrointestinal. Um novo conceito que vem ganhando espaço é o de “prebióticos”, definidos como “ingredientes alimentícios não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro por estimulação seletiva do crescimento e/ou atividade de um número limitado de bactérias no cólon, melhorando então a saúde do hospedeiro” (BYRNE, 1997). Há fortes evidências do efeito prebiótico dos oligossacarídeos em humanos, ou seja, o efeito de indução ao aumento no número e/ou atividade predominante de bifidobactérias e bactérias ácido lácticas no intestino (LOO *et al.*, 1999).

Estudos em humanos no Japão revelam que os frutooligossacarídeos são seletivamente utilizados pelas bifidobactérias, atividade que melhora a flora intestinal, aliviando a constipação, melhorando lipídios no sangue, e suprimindo a produção de substâncias putrefativas (SPIEGEL *et al.*, 1994).

Dentre suas propriedades nutricionais, a mais importante é a influência positiva na composição da microflora colônica. GIBSON *et al.* (1994) explica que os carboidratos e proteínas que não são absorvidos no trato gastrointestinal entram no cólon onde podem ser metabolizados pela flora residente. Através do processo de fermentação, as bactérias colônicas são hábeis à produzir uma ampla faixa de compostos que tem efeitos positivos e negativos na fisiologia do intestino. Segundo TOMATSU (1994), um número de conseqüências adversas resultam de

^{*} KOO, DONG (1999). Pós Doc em Tecnologia de Alimentos – Faculdade de Eng. de Alimentos UNICAMP.

metabólitos tóxicos formados durante a fermentação de alimentos no cólon. Estes compostos incluem: amônia (toxina do fígado), aminas (toxinas do fígado), nitrosaminas (carcinogenes), fenóis e cresóis (promotores de câncer), estrogens (carcinogenes suspeito ou promotores de câncer no tórax), ácidos biliares secundários (carcinogenes ou promotores de câncer de cólon), e outros. As bactérias conhecidas por participar na formação destes metabólitos são *Escherichia coli* e *Clostridia* (amônia, aminas, nitrosaminas, fenóis e ácidos biliares secundários), *Bacteroidacea* e *Streptococcus faecalis* (nitrosaminas, agliconas e ácidos biliares secundários), e outros.

Dos 50 diferentes gêneros de bactérias residentes no cólon, as mais importantes são bifidobactérias, clostrídias, eubactérias, lactobacillus, ruminococcus, peptococcus e peptostreptococcus. Alguns podem ser considerados microrganismos corretores com respeito à saúde humana. Em particular, as bifidobactérias exercem um número de propriedades potencialmente benéficas. A estimulação do crescimento destas bactérias e supressão de patógenos, os quais são residentes naturais do cólon ou entram pela dieta e são transientes, seria vantajoso ao hospedeiro. O gênero *Bifidobacterium* consiste de 29 espécies, 10 cuja principal área de colonização é o intestino grosso do homem. Estas bactérias são classificadas como bacillus Gram positivas (GIBSON *et al.*, 1994).

Segundo COUSSEMENT (1995), o mecanismo para este efeito bifidogênico são ainda pesquisa e hipóteses. Pesquisas *in vitro* tem revelado que a diminuição do pH no cólon, devido a fermentação, não pode ser o único mecanismo envolvido. Quase todas as bifidobactérias podem fermentar oligofrutose mais rápido que a glicose, um fato que poderia ser a base do efeito bifidogênico. Ao mesmo tempo, muitas das bactérias menos quistas não podem fermentar a oligofrutose ou fazem mais lentamente que com a glicose. Um mecanismo secundário poderia estar na produção de substâncias inibidoras pelas bifidobactérias.

Além do efeito prebiótico, o potencial promotor de saúde associado com as bifidobactérias são descritas pelas propriedades de: inibir o crescimento de bactérias patogênicas; agir como imunomoduladoras; produzir vitaminas, na maioria do grupo B; reduzir a concentração de amônia no sangue; diminuir o colesterol no sangue; e ajudar na restauração da flora intestinal normal depois de uma terapia antibiótica (GIBSON *et al.*, 1994).

Os frutooligossacarídeos escapam da digestão no intestino delgado humano e são substratos potenciais para hidrólise e fermentação pelas bactérias intestinais. As três maiores conseqüências da fermentação colonial tem sido estudadas segundo LOO *et al.* (1999).

3.4.1.1. Efeito na Biomassa e Volume Fecal

A fermentação de fruto-oligossacarídeos resulta num aumento da biomassa bacteriana que leva à um aumento na freqüência fecal. Em um estudo com 8 voluntários onde foram dados 15g de oligofrutose/dia, GIBSON *et al.* (1995), observou um aumento e peso correspondendo a 1,5 a 2g por grama de oligofrutose ingerida.

E. Den Hond, B. Geypens e Y. Ghos (resultados não publicados) demonstraram um significativo aumento na freqüência intestinal, e daí um alívio da constipação, em um grupo de voluntários com este problema. Juntos, estes efeitos resultam numa estimulação do hábito regular intestinal.

3.4.1.2. Produção de Ácidos Graxos de Cadeia Curta

A micoflora anaeróbica no cólon converte carboidratos em ácidos graxos de cadeia curta. Como diferentes carboidratos parecem estimular o crescimento e

atividade metabólica de diferentes populações do ecossistema colonial, sua fermentação resulta na formação de diferentes proporções de acetato, propionato e butirato. Fermentações *in vitro* com a microflora fecal de humanos e ratos indicam que inulina-tipo frutanas tipicamente aumentam a produção de acetato e butirato (indicando que outras populações que não as bifidobactérias também são benéficas, uma vez que as bifidobactérias não produzem butirato (CAMPBELL *et al.*, 1997; DJOUZI & ANDRIEUX, 1997).

3.4.1.3. Efeito Prebiótico

A Tabela 4 lista estudos publicados e cientificamente idôneos investigando as propriedades bifidogênicas dos fruto-oligossacarídeos.

TABELA 4. Estudos nutricionais em humanos investigando as propriedades prebióticas de frutooligossacarídeos.^a

Referência	Dose (g/d)	Nº Volunt Idade Período	Medida bacteriológica	Amostras	Aumento de Bifidobactéria (Log)	Significância Estatíst.	Indicação de Seletividade
Bouhnik <i>et al.</i> (1996)	12,5	20 (10H/10M) 22-39 12 d	Seletividade Medium	Amostras à 4°C por <12h	1,2	P<0,01	Só Bifidobactéria e anaeróbios totais medidos
Gibson <i>et al.</i> (1995)	15	8 (H) 20-25 2 semanas	Microscopia e fermentação	Amostras fecais frescas	0,7	P<0,01	Diminuição de bacteróides e clostridia
Mitsuoka <i>et al.</i> (1987)	8	23 (H) 50-90 2 semanas	Microscópio tipo Colônico	-	0,9	P<0,05	Diminuição de enterobactérias
Rochat <i>et al.</i> ¹	8	38 (H) Adultos 2 semanas	Seletividade Medium	Amostras fecais frescas	1,35	P<0,01	Diminuição de clostridia
Buddington <i>et al.</i> (1996)	4	12 (6H/6M) 20-34 3 semanas	Seletividade média / tipo colônico	Amostras fecais frescas	0,8	P<0,03	Nenhuma evidência

^a Fonte: LOO *et al.* (1999).

H, Homem; M, Mulher.

1. F. Rochat, N. medjoub, G. Rumo, C. Heer, resultados não publicados.

3.4.2. Estabilidade dos Frutooligossacarídeos

Fruto-oligossacarídeos são polímeros de D-frutose unidos por ligações $\beta(1\rightarrow2)$ com uma molécula de sacarose terminal. Há na natureza três trissacarídeos isômeros identificados como 1-kestose ($1^F\text{-}\beta\text{-frutosilsacarose}$), 6-kestose ($6^F\text{-}\beta\text{-frutosilsacarose}$) e neokestose ($6^G\text{-}\beta\text{-frutosilsacarose}$), que são potencialmente intermediários na síntese de oligo e polifrutanas (HIDAKA *et al.*, 1986).

Os frutooligossacarídeos não são hidrolisados em ratos ou humanos pelas enzimas digestivas da mucosa intestinal e amilases dos homogenatos pancreáticos, mas frutooligossacarídeos de cadeia longa (inulina) parecem sofrer alguma hidrólise (18-26%) e absorção em experimentos com animais (ratos) HIDAKA *et al.* (1986).

HIDAKA *et al.* (1986) constataram que bifidobactérias possuem enzimas hidrolíticas conhecidas como inulases que clivam os frutooligossacarídeos, ao contrário das enzimas digestivas de humanos e animais. As linhagens de bifidobactérias de humanos e animais podem metabolizar prontamente polímeros de cadeia curta (grau de polimerização de 3 a 6); contudo linhagens animais metabolizam inulina mais efetivamente do que as bifidos humanas. Estudos *in vitro* demonstraram que *B. logum* tem dificuldades de metabolizar polímeros de cadeia longa, tais como inulina, mas *B. adolescentis* metabolizaram inulina mais eficazmente.

Algumas características físico-químicas e de estabilidade dos frutooligossacarídeos estão resumidas na Tabela 5.

TABELA 5. Características dos frutooligossacarídeos.

FORTE ¹	CLASSE ¹	MÉTODODO DE OBTENÇÃO ¹	DESCRI- ÇÃO DO PRODUTO ¹	HIGROS- COPICI- DADE ²	VISCO- SI-DADE ^{2 3}	SABOR	ESTABI- LIDADE TÉRMI- CA ²	ESTABI- LIDADE EM PH ²	ESTABI- LIDADE SHELFLIFE ⁴	NO
Inulina (polissa- carídeo natural da chico- ria)	Fruto oligos- sacarídeo	Hidrólise enzimática controlada	Pó 95% oligosacarí- deo	Alta	Maior que solução sacarose	Sem sabor estra- nho	Maior que sol. sacarose e estável a tempera- tura de refrigera- ção	entre - 7,0	Estável 4,0 dias (iogurte)	42

Fontes: 1-PLAYNE & CITTENDEN,

2-YUN, 1996

3-ALEGRET, 1996

4-SPIEGEL et al., 1994

3.4.3. Análises para Determinação de Frutooligossacarídeos

Tradicionalmente, uma série de técnicas vem sendo usadas para determinar frutooligossacarídeos. Cromatografia de permeação em gel tem sido usada, mas a detecção e identificação dos frutooligossacarídeos separadamente requer metodologias adicionais envolvendo hidrólises ácidas e vários procedimentos enzimáticos e colorimétricos para identificar os carboidratos. Matrix-assisted laser desorption/ionization spectrometry de massa (MALDI-MS) também tem sido aplicado em carboidratos. Frutooligossacarídeos ou inulina em algumas plantas tem sido qualitativamente analisados usando MALDI-MS (WANG *et al.*, 1999).

Segundo LOO *et al.* (1995), modernas técnicas analíticas (HPLC, LGC, HPAEC-PAD) são usadas para checar a variedade de dados mencionados na literatura. Métodos para determinar inulina e oligofrutose em alimentos naturais

(cereais, frutas e vegetais) são otimizados e utilizados para determinar a perda de inulina durante a estocagem e preparação dos alimentos.

3.5. Suco de Cenoura

A cenoura é uma hortaliça da família “umbelliferae”. O gênero *Daucus*, o qual a cenoura pertence, contém cerca de 60 espécies (ESKIN, 1989).

Segundo ESKIN (1989), as características físico-químicas da cenoura são geralmente influenciadas pelo teor de umidade e temperatura do solo durante o período de crescimento.

A coloração da cenoura é um atributo que merece atenção. Os pigmentos primariamente responsáveis pela cor são β - caroteno, α - caroteno e as xantofilas. Estes correspondem geralmente a 90% dos carotenóides totais e podem ocorrer em proporções bastante variadas. As cenouras de coloração mais intensa são as mais desejáveis comercialmente devido a aparência e também, principalmente, pelo maior valor nutritivo (BEZERRA, 1990).

Quanto à composição química, as raízes de cenouras apresentam um teor de açúcares totais que varia entre 3 e 9%, dependendo do cultivar, idade da raiz e condições ambientais de crescimento e armazenamento (BEZERRA, 1990).

A cenoura contém quantidades significativas de carotenos (57% sob a forma de β - caroteno), Vitamina B₆, Magnésio e, em menor extensão, Ácido Ascórbico e Vitamina K. O teor de β - caroteno presente no vegetal varia em função do cultivar, condições climáticas e geográficas, estágio de maturação, condições de armazenamento e processamento. Reações enzimáticas podem reduzir drasticamente o teor de carotenóides no vegetal (BEZERRA, 1990).

Segundo GODOY (1995), alimentos ricos em água retêm maior teor de caroteno em seu armazenamento. A hipótese para a proteção exercida pela água seria a formação de possíveis pontes de hidrogênio entre a água e hidroperóxidos, impedindo dessa forma a continuação do processo de oxidação.

A Tabela 6 mostra uma comparação na composição de nutrientes, vitaminas e minerais, da raiz e do suco de cenoura.

TABELA 6. Nutrientes componentes da cenoura crua e do suco de cenoura por 100g.^a

Nutriente/Unid.	Cenoura Crua¹	Suco de Cenoura²
Próximo		
Água (g)	87,8	92,3
Proteínas (g)	1,0	0,5
Lipídeos (g)	0,2	0,1
Carboidratos (g)	10,1	5,7
Fibras (g)	1,0	-
Cinzas (g)	-	-
Minerais		
Cálcio (mg)	27,0	16,0
Fósforo (mg)	36,0	25,0
Ferro (mg)	7,0	2,0
Potássio (mg)	341,0	240,0
Sódio (mg)	47	51,0
Vitaminas		
Ácido Ascórbico (mg)	8,00	6,00
β- Caroteno (µg/g)		4,9
α- Caroteno (µg/g)		2,4
Riboflavina (mg)	0,06	0,07
Niacina (mg)	0,93	0,70
Tianina (mg)	0,10	0,03
Vitamina A (IU)	28.129	13.525

^aFonte: 1- SALUNHKE & BOLIN (1991).

2- QUINTEROS (1995).

3.6. Suco de Laranja

O suco de laranja está entre os sucos mais consumidos e apreciados do mundo e é definido como um suco não fermentado obtido de frutas maduras da espécie *Citrus Sinensis* (DECIO & GHERARDI, 1992).

A laranja Pêra (*Citrus Sinensis Osbeck*) é atualmente a variedade mais importante do país, especialmente no Estado de São Paulo, por possuir condições climáticas favoráveis ao seu cultivo (CHITARRA, 1990). Segundo BUSLIG (1991), a variedade produz um suco de ótima cor, sabor e doçura.

A fruta e produtos cítricos são considerados uma das principais fontes de Vitamina C, suprimindo a porção recomendada para a população. Além da Vitamina C, o suco de laranja pode ser considerado uma fonte significativa de tianina e ácido fólico. Apresenta carotenóides, porém a maioria deles não é precursora da Vitamina A.

A Tabela 7 mostra os componentes nutritivos presentes no suco de laranja.

A Tabela 8 apresenta a avaliação físico-química dos sucos de cenoura e laranja.

TABELA 7. Nutrientes componentes do suco de laranja por 100 ml. ^a

Nutriente/Unid.	Suco de Laranja
Próximo	
Água (ml)	88,40
Proteínas (g)	0,80
Lipídeos (g)	0,27
Carboidratos (g)	10,06
Fibras (g)	-
Cinzas (g)	0,18
Minerais	
Cálcio (mg)	10,20
Ferro (mg)	0,11
Potássio (mg)	151,00
Sódio (mg)	0,40
Vitaminas	
Ácido Ascórbico (mg)	39,5
Vitamina A (RE)	8,0

^a Fonte: BUSLIG (1991)

TABELA 8. Avaliação físico-química dos sucos de cenoura e laranja ^a.

Determinações	Suco de Cenoura	Suco de Laranja
°BRIX (% S.S.T) ¹	8,7	13,5
Acidez Titulável Total (%) ¹	0,86	1,05
PH ¹	4,67	3,68
Ácido Ascórbico (mg/100g) ¹	3,0	34,0
Polpa Suspensa (% v/v) ¹	1,53	13,03
Sólidos Totais (%) ²		11,9
Viscosidade (centistoke) ³	2,91	

^a Fonte: 1- FREITAS (1999)

2- CORREA (1998)

3- ANASTASAKIS *et al.* (1989).

A Tabela 9 mostra a caracterização físico-química do suco misto de cenoura e laranja.

TABELA 9. Caracterização físico-química do suco misto de cenoura e laranja. ^a

Determinações	Suco Misto
°BRIX (% S.S.T) ¹	12,11
Acidez Titulável Total (%)	0,94
PH	4,08
Ácido Ascórbico (mg/100g)	18,10
Polpa Suspensa (% v/v)	6,96

^a Fonte: FREITAS (1999).

3.7. Propriedades Nutricionais de Alimentos Ricos em Vitaminas e Carotenóides

Segundo CÂNDIDO & CAMPOS (1996), os epidemiologistas estão muito interessados em avaliar a relação entre a ingestão de ricos em antioxidantes e a incidência de câncer e doenças cardiovasculares, especialmente no que se refere à vitamina C, vitamina E, β -caroteno e selênio.

BLOCK & LANGSETH (1994) reviram 170 estudos epidemiológicos relativos à incidência de câncer. Em 132 constataram o efeito protetor da ingestão de frutas e verduras, e uma forte correlação com a ingestão de vitamina C e β -caroteno.

SINGH *et al.* (1995) avaliaram o efeito de alimentos ricos em antioxidantes nos níveis plasmáticos de ácido ascórbico, enzimas cardíacas (lactato desidrogenase) e peróxidos de lipídeos em pacientes hospitalizados com enfarte agudo do miocárdio. O estudo mostrou que o consumo de alimentos ricos em vitamina C aumentou em 75% os níveis plasmáticos da vitamina, e reduziu de

16,5% no nível de peróxidos e um pequeno acréscimo nos níveis de lactato desidrogenase. As evidências proporcionadas pelo estudo sugerem que alimentos ricos em ácido ascórbico, e possivelmente em outros antioxidantes (vitamina E e β -caroteno) podem prevenir a produção de radicais livres, a necrose do miocárdio e a mortalidade em indivíduos com enfarte agudo do miocárdio.

Em novembro de 1994, o periódico Food Technology publicou uma revisão referente aos efeitos salutares das frutas cítricas, incluindo temas como presença de vitaminas como β -caroteno, vitamina C, ácido fólico como protetores contra câncer, cardiopatias e defeitos do tubo neural (CÂNDIDO & CAMPOS, 1996).

TABELA 10. Teores de vitamina A e vitamina C em frutas. ^a

Fruta	Vit. A ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	Vit. C ($\text{mg}/100\text{ml}$)
Maracujá amarelo	4210	20
Mamão	2000	80
Manga	4200	15,1
Laranja	646	50,5

^a Fonte: MANICA (1981).

TABELA 11. Níveis de carotenóides na cenoura e no suco de cenoura ^a.

Amostra	β -caroteno ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	α -caroteno ($\mu\text{g}/100\text{g}$)
Cenoura Crua	6,96	2,03
Suco de Cenoura	3,13	4,48

^a Fonte: SIMS *et al.* (1993).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

4.1.1. Matéria Prima

4.1.1.1. Cenoura (*Daucus carota*)

Foi utilizada cenoura da variedade Brasília, adquirida no comércio local. Os vegetais foram previamente selecionados quanto ao tamanho, grau de maturação e ausência de defeitos a fim de se minimizar as variações nas suas características gerais.

4.1.1.2. Laranja (*Citrus sinensis*)

Foi utilizada laranja da variedade Pêra, adquirida no comércio local. As frutas também foram selecionadas quanto ao aspecto geral e principalmente grau de maturação, a fim de se minimizar as variações nas suas características gerais.

4.1.1.3. Pectina

Pectina cítrica de origem comercial Tipo 8104 – Citrus Colloids S/A Alto metoxil-Rapid Set, de alto grau de metoxilação (ATM) e esterificação, Limeira, Brasil.

4.1.1.4. Fruto-oligossacarídeo

Fruto-oligossacarídeo cedido pela empresa ORAFIT Group, Tienen, Bélgica.

4.1.1.5. Sacarose

Açúcar refinado de origem comercial.

4.1.2. Equipamentos

4.1.2.1. Extração dos sucos e processamento do suco misto

- Tanque em aço inox, para lavagem das laranjas
- Descascador Hobart – Dayton do Brasil Mod. B6025
- Extrator de sucos cítricos modelo Deli Juicer
- Finisher Bertuzzi
- Desintegrador Stephan Gliger IGE tipo UMMSK12 para a extração do suco de cenoura
- Prensa hidráulica CHARLOTT N° 5991 cap. 60/ton. para a extração do suco de cenoura
- Freezer para congelamento da polpa
- BUCHI Rotovapor R-114 e BUCHI Waterbat B-480h para mistura e aquecimento do suco misto
- Utensílios e materiais diversos de pequeno porte

4.1.2.2. Avaliações físico-químicas

- pHmetro
- Reômetro Brookfield model DV-III Programable Rheometer
- Refratômetro Carlzeiss Jena
- Colorímetro Color-QUEST Hunter Lab
- Balança analítica
- Equipamentos e utensílios de pequeno porte; vidrarias em geral

4.1.2.3. Avaliação nutricional (ensaio biológico)

- Animais: hamsters de sexo, linhagem, idade, peso e procedência definidos
- Gaiolas, comedouros e bebedouros
- Aparelho Accutrend GCT Boenringer Mannheim
- Equipamentos e utensílios comuns de laboratório

4.1.2.4. Quantificação de frutooligossacarídeo após o tratamento térmico

- HPLC Perkin-Elmer Series 10 Liquid Chromatograph
- Detector HPLC - SICON Analytic Differential Refractometer (CD 20)
- Coluna YMC- Pack Polyamine II, 250x4,6 mm I.D., S-5 μ m, 120 A

4.1.3. Reagentes

4.1.3.1. Análises físico-químicas

Reagentes padrão analítico (p.a.), de diferentes procedências.

4.1.3.2. Avaliação nutricional

- Fitastrips de leitura Accutrend para Colesterol
- Meio seletivo modificado de Petuely's, contendo ácido nalidíxico (MPN), para contagem e identificação microbiológica nas fezes dos animais.

4.1.3.3. Quantificação de frutooligossacarídeo após o tratamento térmico

- Acetonitrila para HPLC

4.2. Métodos

4.2.1. Metodologia Experimental

4.2.1.1. Extração dos Sucos

Suco de Cenoura -

O suco do cenoura foi obtido conforme o processamento descrito na Figura 2. Os vegetais foram selecionados quanto ao tamanho, grau de maturação e cortados para a retirada de partes esverdeadas, descascadas por abrasão e seguiram para o branqueamento. Este se deu em solução fervente de ácido acético 0,05N durante 7 minutos.

A acidificação parece ser um bom método para melhor retenção das características e valor nutritivo, principalmente para a inativação de enzimas, como a peroxidase, segundo FREITAS (1999).

Após a desintegração, o suco foi extraído por prensa hidráulica. O suco extraído foi embalado em sacos de polietileno selados sob parcial extração de ar, congelado e mantido em câmara frigorífica a -20°C , a fim de que suas características químicas e sensoriais fossem preservadas.

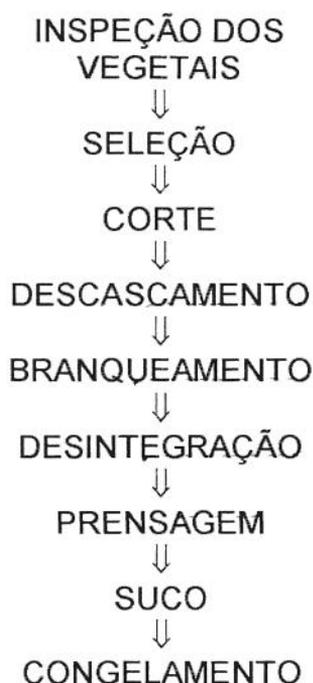


FIGURA 2. Processamento do Suco de Cenoura

Suco de Laranja –

O suco de laranja foi obtido conforme o processamento descrito na Figura 3. As frutas foram imersas em água clorada e depois inseridas inteiras no extrator de sucos cítricos. O suco então, passou pelo finisher com peneira de 1,27 mm para redução do excesso de polpa.

O suco extraído foi imediatamente submetido ao mesmo processo de embalagem, congelamento e armazenamento que o suco de cenoura, a fim de que suas características químicas e sensoriais fossem preservadas.

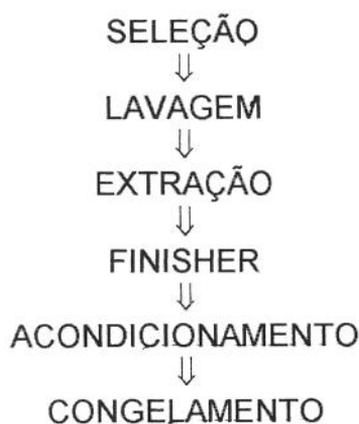


FIGURA 3. Processamento do Suco de Laranja

Suco Misto de Cenoura e Laranja –

Os sucos, após descongelados, foram misturados na proporção 6:4 (laranja:cenoura), conforme as preferências sensoriais obtidos da literatura. O suco misto foi adoçado com sacarose, numa concentração de 6%.

A adição de pectina e frutooligossacarídeo foi realizada sob agitação nas concentrações definidas pelo delineamento experimental.

4.2.1.2. Tratamento Térmico

Após a adição dos ingredientes funcionais ao suco de cenoura e laranja, segue a etapa do tratamento térmico, no qual processo de pasteurização foi empregado para assegurar uma qualidade microbiológica e inativação enzimática, responsável pela perda de turbidez, escurecimento e geleificação.

Sob o ponto de vista tecnológico, o efeito do tratamento térmico sobre os ingredientes funcionais, pectina e fruto-oligossacarídeo, foi avaliado principalmente pelas análises físico-químicas e sensorial.

O processo realizou-se de modo que o suco foi aquecido até 85-90°C , em balão de vidro imerso em água fervente sob rotação no Rotovapor. Após o aquecimento, o suco foi envasado à quente em garrafas de vidro e fechadas através de prensa com tampas metálicas. O processo foi realizado manualmente.

Imediatamente após fechamento, as garrafas foram invertidas por aproximadamente 3 minutos. Em seguida, a pasteurização se deu por imersão em água em ebulição por 10 minutos, seguida de resfriamento em água corrente.

4.2.1.3. Planejamento Experimental

A influência da adição de pectina e oligofrutose como ingredientes funcionais no suco misto de cenoura e laranja foi avaliada através de uma Planejamento Fatorial constituído de 2² experimentos.

A escolha dos fatores e níveis foi baseada na literatura, sendo considerado para este sistema, a influência de duas variáveis de controle:

- Concentração de Pectina Total (PEC), ou seja, o teor de pectina foi completado até os níveis definidos, considerando-se o teor de pectina natural do suco misto;

- Concentração de Fruto-oligossacarídeo adicionada (FOS).

A Tabela 12 mostra as variáveis independentes do planejamento experimental.

TABELA 12. Variáveis Independentes no Planejamento Experimental 2².

Variáveis	Níveis				
	(- α)	(-1)	(0)	(+1)	(+ α)
(PEC) Concentração de Pectina (%)	0,59	1	2	3	3,41
(FOS) Concentração de Frutooligossacarídeo (%)	2,95	5	10	15	17,5

De acordo com as variáveis e níveis descritos, foram definidos os onze experimentos a serem realizados conforme o Planejamento, apresentados na Tabela 13.

TABELA 13. Planejamento Experimental Fatorial 2².

Ensaio	Níveis Codificados		Níveis Reais	
	PEC	FOS	PEC (%)	FOS (%)
1	-1	-1	1	5
2	+1	-1	3	5
3	-1	+1	1	15
4	+1	+1	3	15
5	0	0	2	10
6	0	0	2	10
7	0	0	2	10
8	- α	0	0,59	10
9	+ α	0	3,41	10
10	0	- α	2	2,95
11	0	+ α	2	17,5

PEC - Concentração de pectina

FOS – Concentração de frutooligossacarídeo

4.2.1.4. Ensaio Biológico

O ensaio biológico foi realizado no Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da UNICAMP, com duração prevista para 4 semanas. Teve como objetivo principal verificar a funcionalidade do suco misto (acrescido dos ingredientes fisiologicamente ativos pectina e fruto-oligossacarídeo), sobre os parâmetros nutricionais: redução do nível de colesterol total no plasma, e aumento das bifidobactérias no intestino dos animais, respectivamente.

A. Animais Utilizados:

Para a realização do ensaio biológico foram utilizados hamsters, da linhagem Golden Syriam, todos machos, pesando entre 90 e 100 g. Esses animais foram adquiridos da Faculdade de Medicina Veterinária da USP (São Paulo, SP).

Foram solicitados 32 animais, os quais foram distribuídos em 4 grupos de 8 animais para as 4 dietas empregadas. Os animais permaneceram em gaiolas com 8 animais cada, em ambiente com temperatura entre 22° e 23°C, e iluminação ambiental controlada para 12 horas de luz e 12 horas de obscuridade. Os animais receberam água "ad libitum", e o peso foi registrado a cada 3 dias. Houve um período de 7 dias de adaptação, no qual os animais foram alimentados com ração comercial para roedores.

B. Preparo das Dietas:

Foram preparadas 3 dietas experimentais com o suco misto de cenoura e laranja e uma dieta padrão, todas elas hipercolesterolêmicas. As dietas foram preparadas variando o suco, o qual continha: apenas pectina; apenas fruto-oligossacarídeo; e o terceiro com os dois ingredientes. Foram adicionados ao suco

pectina e fruto-oligossacarídeo em suas maiores concentrações, ou seja, 3% de pectina e 15% de fruto-oligossacarídeo.

O suco misto recebeu então a adição de pectina (S1), de fruto-oligossacarídeo (S2), e de pectina mais fruto-oligossacarídeo (S3), e foi pasteurizado conforme o item 4.2.1.2. Após este procedimento, foram misturados com os outros ingredientes secos da dieta, formando uma dieta em forma de gel.

As dietas foram preparadas de acordo com o American Institute of Nutrition Rodents Diets, AIN – 93 A, utilizando-se a mistura de minerais determinada pela AIN – 76 A. A Tabela 14 mostra a composição dessas dietas, enquanto que as Tabelas 15 e 16 apresentam, respectivamente, a composição das misturas mineral e vitamínica acrescentadas às dietas.

TABELA 14. Composição das dietas padrão e suplementadas com suco misto de cenoura e laranja para o ensaio biológico. (1000g)

COMPONENTE (g)	GRUPO PADRÃO	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C
Amido de milho	342,5	42,5	42,5	42,5
Dextrina	132	132	132	132
Sacarose	100	100	100	100
Caseína	200	200	200	200
Celulose	50	50	50	50
Mistura Mineral	35	35	35	35
Mistura Vitamínica	10	10	10	10
L-Cistina	3	3	3	3
Bitartarato de Colina	2,5	2,5	2,5	2,5
Óleo de soja	50	50	50	50
Colesterol *	5	5	5	5
Gordura de coco	70	70	70	70
Suco	—	300** (S1)	300** (S2)	300** (S3)

* O Colesterol é acrescentado à dieta depois de ser misturado no óleo de soja.

** 300g de suco misturado com os ingredientes da dieta contém: 0,9g de Pectina /100g (S1), 4,5g de Fruto-oligossacarídeo /100g (S2), 0,9g de Pectina /100g e 4,5g de Fruto-oligossacarídeo /100g (S3).

S1 – Suco com 3% de Pectina.

S2 – Suco com 15% de Fruto-oligossacarídeo.

S3 – Suco com 3% de Pectina mais 15% de Fruto-oligossacarídeo.

TABELA 15. Composição da mistura mineral. (1000g)*

Componentes	g/Kg mistura
Fosfato de cálcio dibásico - CaHPO_4	500,00
Cloreto de sódio - NaCl	74,00
Citrato de Potássio - $\text{K}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$	220,00
Sulfato de potássio - K_2SO_4	52,00
Óxido de magnésio - MgO	24,00
Carbonato de manganês - (43-48%Mn) - MnCO_3	3,50
Citrato de ferro - (16-17% Fe)	6,00
Carbonato de zinco - (70% ZnO) - ZnCO_3	1,60
Carbonato de cobre - (53-55% Cu) - CuCO_3	0,30
Iodato de potássio - KIO_3	0,01
Selenito de sódio - $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,01
Sulfato de potássio e cromo - $[\text{CrK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}]$	0,55

* American Institute of Nutrition (1977)

TABELA 16. Composição da mistura vitamínica.*

Componentes	mg/Kg
Tianina – HCl	600,0
Riboflavina	600,0
Piridoxina – HCl	700,0
Ácido Nicotínico	3.000,0
Pantotenato de Cálcio D	1.600,0
Ácido Fólico	200,0
Biotina D	20,0
Cianocobalamina – (vitamina B12)	1,0
Retinil Palmitato ou Acetato – (vitamina A)	#
DI - α - Tocoferol Acetato – (vitamina E)	##
Colecalciferol – (vitamina D3)	2,5
Menaquinona – (vitamina K)	5,0
Sacarose em pó	Para completar 1,0 Kg

* American Institute of Nutrition (1980)

quantidade para proporcionar 400.000UI da atividade da vitamina A ou 120.000 equivalentes de retinol

quantidade para proporcionar 5.000UI da atividade da vitamina E

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

4.2.2. Metodologia Analítica

4.2.2.1. Análises Físico-químicas para a Caracterização do Suco Misto de Cenoura e Laranja Padronizado

Uma caracterização do suco padronizado para basear posteriores avaliações será feita determinando alguns parâmetros importantes como:

- pH: método 13.010 da AOAC-OICC (1984)
- Acidez titulável total: AOAC Official Method 942.15 (1995)
- Sólidos Solúveis (°Brix): AOAC Official Method 983.17 (1995)
- Teor Pectina: de acordo com as NORMAS Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1976)
- Teor de Polpa: AOAC Official Method 953.16 (1995)
- Açúcares Redutores Totais: AOAC Official Method 950.30 (1995)
- Viscosidade: AOAC Official Method 967.16 (1995)
- Determinação Quantitativa de Ácido Ascórbico (vitamina C): AOAC Official Method 43056 (1984)

4.2.2.2. Efeito da Adição de Fruto-oligossacarídeo e Pectina nas Propriedades Físico-químicas do Suco Misto de Cenoura e Laranja

O efeito da adição dos ingredientes funcionais, pectina e oligofrutose, será verificado em suas características físico-químicas:

- pH: método 13.010 da AOAC-OICC (1984)
- Acidez titulável total: AOAC Official Method 942.15 (1995)
- Sólidos Solúveis (°Brix): AOAC Official Method 983.17 (1995)
- Cor
- Viscosidade: AOAC Official Method 967.16 (1995)

As concentrações de pectina e oligofrutose adicionadas, bem como o delineamento experimental utilizado estão no planejamento fatorial completo constituído de 2² experimentos, descrito no item 4.2.1.2.

4.2.2.3. Efeito da Adição de Fruto-oligossacarídeo e Pectina nas Propriedades Sensoriais do Suco Misto de Cenoura e Laranja (AVALIAÇÃO SENSORIAL)

As propriedades sensoriais foram avaliadas conforme a aceitação do consumidor, relacionado aos parâmetros de qualidade: sabor, aparência e consistência.

A aceitabilidade do suco misto de cenoura e laranja formulado com pectina e frutooligossacarídeo foi avaliada pelo Teste de Escala Hedônica de 9 pontos, segundo as recomendações de STONE & SIDEL (1993). Os resultados foram avaliados através do programa StatisticaGraph e da Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey à 5% de significância ($\alpha = 0,05$), com o auxílio do programa SAS.

Os testes sensoriais foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA/UNICAMP), cujas instalações incluem cabines individuais para os testes, controle de iluminação (luz vermelha) e de temperatura ambiente.

Os provadores tinham entre 25 e 40 anos de idade, de ambos os sexos.

As formulações foram apresentadas aos voluntários em copinhos plásticos, devidamente codificadas e à uma temperatura de refrigeração doméstica.

As formulações do suco misto com pectina e fruto-oligossacarídeo foram servidas para 22 indivíduos, em três sessões, sendo a primeira e a segunda constituída de 4, e a terceira de 3 amostras. As amostras, durante as sessões, foram servidas uma a cada vez, para que o provador avaliasse cada uma individualmente.

As formulações com as concentrações de pectina e oligofrutose adicionadas, bem como o delineamento experimental utilizado também segue o planejamento fatorial, descrito no item 4.2.1.2.

4.2.2.4. Efeito da Adição de Fruto-oligossacarídeo e Pectina quanto a Funcionalidade Nutricional do Suco Misto de Cenoura e Laranja

Durante o ensaio biológico os animais foram alimentados com as dietas durante 4 semanas. Amostras das fezes dos animais foram coletadas a fim de se verificar a influencia da dieta na microflora intestinal e, possivelmente, no número de bifidobactérias. No fim do período experimental, coletas de sangue foram realizadas para a determinação do colesterol total.

A. Coleta das Fezes e Contagem Microbiológica

Durante o período experimental, 2 coletas de amostras fecais foram realizadas. Os animais, após 15 dias de tratamento, tiveram suas fezes coletadas e após 30 dias, foi realizada uma segunda coleta.

As amostras foram colocadas em recipientes de vidro e imediatamente armazenadas em condições anaeróbicas à -4°C e analisadas dentro de 12 horas.

O meio seletivo modificado de Petuely's, contendo ácido nalidíxico (MPN), foi empregado para propiciar a seleção e contagem das bifidobactérias. Este meio foi preparado sob condições anaeróbicas estéreis. A Tabela 17 apresenta a composição do meio utilizado.

Os meios inoculados foram incubados à 37°C por 3 dias, para a posterior contagem das colônias, conforme GIBSON *et al.* (1994).

TABELA 17. Meio seletivo usado para a enumeração das bifidobactérias fecais.*

Bactéria	Meio Seletivo	Suplementos (mg/l)
Bifidobactéria	Reinforced Clostridial Agar	Iodoacetato (0,0125) Ácido Nalidíxico (0,02) Kanamicina (0,05) Polimicina (0,009)

* Fonte: GIBSON *et al.* (1994).

B. Coleta de Sangue e Análise de Colesterol Total

Ao término do período experimental, foi realizada a coleta de sangue dos animais para a determinação do nível de colesterol total no plasma.

Os animais, após jejum de 16 horas, foram anestesiados com injeção de pentobarbital e, então, sacrificados para a coleta pelo método de punção cardíaca, obtendo-se assim as amostras de sangue.

As amostras foram imediatamente injetadas em fitas especiais para dosagem de colesterol. A dosagem total foi lida através de um equipamento de

leitura Accutrend GCT, Boenringer Mannheim, gentilmente cedido pelo Instituto de Biologia da UNICAMP.

4.2.2.5. Efeito do Tratamento Térmico e Estocagem sobre os Fruto-oligossacarídeos

Seis formulações foram escolhidas para a quantificação de fruto-oligossacarídeos após o processamento e tratamento térmico, realizado conforme o item 4.2.1.2. Foram coletadas alíquotas das formulações 1, 2, 3, 4, 5 e (adicionadas de pectina e fruto-oligossacarídeo conforme o planejamento experimental descrito no item 4.2.1.3) logo após o processamento e depois de 3 meses de estocagem em câmara de refrigeração. A determinação de frutooligossacarídeos através da análise de cromatografia líquida foi realizada em duplicata, para cada amostra injetada.

Como padrões foram utilizadas soluções de frutose, glicose, sacarose e frutooligossacarídeo, injetadas separadamente no cromatógrafo. Uma solução de acetonitrila 75% em água deionizada devidamente filtrada foi utilizada como fase móvel.

As amostras, bem como os padrões foram preparadas em água deionizada e filtrados em filtros de éster de celulose, de 0,45 µm de porosidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização do Suco Misto de Cenoura e Laranja

5.1.1. O Suco de Cenoura

O suco de cenoura usado no preparo do suco misto apresentou cor, sabor e aroma característico.

O rendimento da extração foi de 55,7%, próximo do valor relatado por QUINTEROS (1995) para o suco de cenoura extraído por prensagem e branqueado com acidificação por ácido acético 0,05N (57,8%).

Após a extração, foram feitas algumas análises físico-químicas. Os resultados aparecem na Tabela 18 e são médias de análise realizadas em triplicata.

TABELA 18. Características do suco de cenoura.

Determinações	Suco de Cenoura
pH	5,26
Sólidos Solúveis (°Brix)	7,71
Acidez Titulável (%)	0,12
Polpa Suspensa (%v/v)	0,5

5.1.2. O Suco de Laranja

O suco de laranja usado na preparação do suco misto apresentou cor e sabor característicos, pouca acidez e adstringência

O rendimento da extração foi de 47,6%, após passagem pelo finisher para redução de polpa.

As determinações físico-químicas realizadas após a extração aparecem na Tabela 19 e são médias de análises realizadas em triplicata.

TABELA 19. Características da suco de laranja.

Determinações	Suco de Laranja
pH	3,73
Sólidos Solúveis (°Brix)	10,25
Acidez Titulável (%)	0,84
Polpa Suspensa (%v/v)	9,5

5.1.3. O Suco Misto de Cenoura e Laranja

Os sucos, após descongelados, foram misturados na proporção 6:4 (laranja:cenoura), conforme as preferências sensoriais obtidos da literatura.

Após o preparo, algumas determinações físico-químicas foram feitas. Os resultados são médias de cinco análises e estão representados na Tabela 20.

TABELA 20. Características do suco misto de cenoura e laranja.

Determinações	Suco Misto de Cenoura e Laranja
pH	4,01
Sólidos Solúveis (°Brix)	8,88
Acidez Titulável (%)	0,56
Polpa Suspensa (%v/v)	7,5
Viscosidade (cP)	16,18
Açúcares Redutores (%)	2,98
Açúcares Totais (%)	3,28
Pectina (g pectato/100ml)	0,21
Ácido Ascórbico (mg/100ml)	34,93

Analisando os dados da Tabela 20, pode-se afirmar que os valores de pH, sólidos totais e polpa suspensa são compatíveis com os relatados por FREITAS (1999). O valor do pH de 4,01 se encontra entre a faixa de 4,0 a 7,0, considerada de estabilidade para frutooligossacarídeo, citada por YUN (1996). O valor da acidez titulável está inferior ao valor citado por FREITAS (1999), que foi de 0,94 g/100ml de suco misto. Isto pode ser devido a variação das características naturais da matéria prima.

Quanto ao conteúdo de ácido ascórbico (34,93mg/100ml), existe boa concordância ao encontrado no suco de laranja (39,5 mg/100ml) por BUSLIG (1991) e por FREITAS (1999) que foi de 34, 0 mg/100ml. No entanto, quando FREITAS (1999) se refere ao suco misto de laranja e cenoura, este se reduz significativamente para 18,10 mg/100ml.

5.2. Efeito da Adição de Fruto-oligossacarídeo e Pectina nas Propriedades Físico-químicas do Suco Misto de Cenoura e Laranja

As concentrações de pectina e oligofrutose adicionadas, bem como o delineamento experimental utilizado, estão no planejamento fatorial completo constituído de 2^2 experimentos, descrito no item 4.2.1.3.

Após a adição dos ingredientes funcionais, o suco misto foi processado e envasado de acordo com o item 4.2.1.2.

De acordo com o planejamento experimental, foram processadas 11 formulações. Os resultados das determinações feitas nos produtos advindos dos ensaios do planejamento experimental do suco misto encontram-se na Tabela 21.

Os resultados das determinações físico-químicas foram analisados estatisticamente pelo Programa StatisticaGraph.

TABELA 21. Características físico-químicas do suco funcional.

Formulação	PECTINA* (%)	FOS** (%)	ACIDEZ (%)	pH	S.Sol (°Brix)	VISCOSIDADE (cP)
1	1,0	5,0	0,59	3,82	18,43	65,5
2	3,0	5,0	0,61	3,56	18,79	528
3	1,0	15,0	0,55	3,84	21,68	70,5
4	3,0	15,0	0,64	3,59	26,19	774
5	2,0	10,0	0,53	3,68	21,94	208
6	2,0	10,0	0,61	3,68	21,92	227
7	2,0	10,0	0,58	3,7	22,16	218
8	0,59	10,0	0,53	3,92	21,49	39,2
9	3,41	10,0	0,68	3,55	22,8	863
10	2,0	2,95	0,62	3,67	17,29	179
11	2,0	17,5	0,57	3,72	26,80	217

*: Concentração de pectina para cada formulação conforme o planejamento experimental.

** : Concentração de frutooligossacarídeo para cada formulação conforme o planejamento experimental.

5.2.1. Acidez

Os efeitos dos fatores concentração de pectina e concentração de frutooligossacarídeo (FOS), lineares, quadráticos e da interação entre eles na acidez podem ser observados na Tabela 22.

TABELA 22. Efeito estimado, erro puro, grau de significância e coeficiente de regressão para cada fator para a acidez.

Fatores	Efeito Estimado	Erro Puro	Significância Estatística (p)	Coeficiente de Regressão
Pectina (L)	0,0806	0,0286	0,1063	-0,0555
Pectina (Q)	0,0304	0,0343	0,4684	0,0152
FOS (L)	-0,0209	0,0282	0,5354	-0,0166
FOS (Q)	0,0189	0,0325	0,6182	3,7976
Pectina*FOS (L)	0,035	0,0404	0,4777	0,0035

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

(L): termo linear;

(Q): termo quadrático.

Os valores na coluna dos efeitos indicam quanto cada fator influi no parâmetro estudado, neste caso, na acidez.

Observa-se que nenhum dos fatores, concentração de pectina ou de frutooligossacarídeo, tem efeito na acidez do suco final. Isto significa, que qualquer que seja a concentração dos ingredientes funcionais, ela não tem influência alguma sobre o valor de acidez do suco. Ainda assim, nota-se que alguns valores de acidez total das formulações aumentaram em relação a acidez do suco misto natural (0,56 %), especialmente as formulações 4 e 9, que foram de 0,64 e 0,68 respectivamente.

Na análise de variância, através do teste F, verificou-se a significância da regressão e da falta de ajuste em relação a 95% de confiança ($p \leq 0,05$). Na Tabela 23, encontram-se os valores calculados e tabelados de F.

TABELA 23. Análise de variância do modelo para acidez

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	F calc.	F tab.*
Regressão	0,01647	5	0,003294	3,235	5,05
Resíduo	0,00509	5	0,001018		
Falta de Ajuste	0,001824	3	0,000608	0,372	19,16
Erro Puro	0,003266	2	0,001633		
Total	0,021563	10			

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

Obs.: * Valores tabelados de F a $p \leq 0,05$.

SQ: Soma Quadrática

GL: Grau de Liberdade

MQ: Média Quadrática

O modelo apresentou regressão não significativa ao nível de 95% de confiança (F calculado inferior ao F tabelado). A falta de ajuste também se apresentou não significativo no mesmo nível de confiança.

O coeficiente de correlação (R^2) para o modelo foi de 0,76392, explicando apenas 76,39% da variação dos dados observados.

O modelo para a acidez foi considerado não preditivo, uma vez que a regressão não se mostrou significativa e o valor de R^2 foi inferior a 0,85 ao nível de 95% de confiança.

Conclui-se que nenhum dos fatores, concentração de pectina ou de frutooligossacarídeo, tem efeito na acidez do suco final.

5.2.2. pH

Os efeitos dos fatores concentração de pectina e concentração de frutooligossacarídeo (FOS), lineares, quadráticos e da interação entre eles no pH podem ser observados na Tabela 24.

TABELA 24. Efeito estimado, erro puro, grau de significância e coeficiente de regressão para cada fator para o pH.

Fatores	Efeito Estimado	Erro Puro	Significância Estatística (p)	Coeficiente de Regressão
Pectina (L)	-0,2586	0,0081	0,00099	-0,2196
Pectina (Q)	0,0426	0,0098	0,0489	0,0213
FOS (L)	0,0298	0,0080	0,0659	0,0011
FOS (Q)	0,0021	0,0092	0,8365	4,3520E
Pectina*FOS (L)	0,005	0,0115	0,7072	5,0000E

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

(L): termo linear;

(Q): termo quadrático.

Observa-se que os efeitos dos fatores pectina (L), pectina (Q) foram considerados significativos na variação do pH. Nota-se que o fator pectina (L), de maior influência, tem um efeito negativo no valor de pH do suco, ou seja, um aumento neste fator, acarreta uma diminuição no valor de pH. Entretanto o fator pectina(Q) tem um efeito positivo no pH. O fator FOS (L) foi considerado significativo devido ao valor de p apresentado (0,065) muito próximo a $p=0,05$. Estes dois fatores apresentaram efeito positivo no pH, um aumento em qualquer um destes fatores acarreta um pequeno aumento no valor de pH do suco.

Eliminado os fatores não significativos verificou-se na análise de variância, através do teste F, a significância da regressão e da falta de ajuste a 95% de confiança ($p \leq 0,05$). Na Tabela 25, encontram-se os valores calculados e tabelados de F.

TABELA 25. Análise de variância do modelo ajustado para o pH

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	F calc.	F tab.*
Regressão	0,137948	3	0,045982	480,48	4,35
Resíduo	0,00067	7	$9,57 \times 10^{-5}$		
Falta de Ajuste	0,000403	5	$8,05 \times 10^{-5}$	0,605	19,30
Erro Puro	0,000267	2	0,000133		
Total	0,138618	10			

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

Obs.: * Valores tabelados de F a $p \leq 0,05$.

SQ: Soma Quadrática

GL: Grau de Liberdade

MQ: Média Quadrática

O modelo ajustado apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$) (F calculado superior ao F tabelado) e falta de ajuste não significativa no mesmo nível (F calculado inferior ao F tabelado).

O coeficiente de correlação (R^2) para o modelo ajustado foi de 0,99517, indicando que o modelo explicou 99,5% da variação dos dados observados.

O modelo ajustado para o parâmetro pH foi considerado preditivo pois apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança, falta de ajuste não significativa no mesmo nível e valor de R^2 superior a 0,85.

A Figura 4 mostra as superfícies de resposta geradas através do modelo decodificado para a resposta pH.

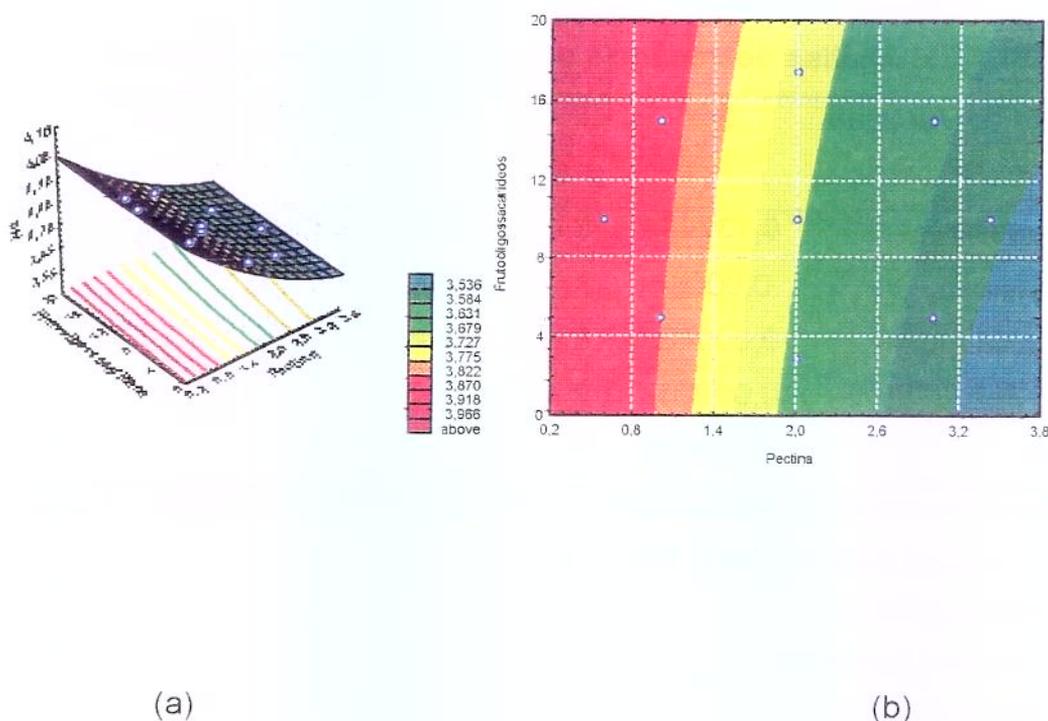


FIGURA 4 : (a) Superfície de resposta para o pH.
(b) Superfície de contorno para o pH.

Como pode-se observar, com o aumento da concentração de pectina, o fator de maior efeito, há uma diminuição no valor de pH do suco (Figura 4 a). A concentração de frutooligossacarídeo não exerce efeito notável na alteração do pH, o que é bem visualizado na Figura 4 (b).

Obteve-se através do modelo desenvolvido para o pH dentro da faixa de concentração de pectina (1 a 3%) e FOS (5 a 15%) estudados, a variação do pH de 3,87 (concentração mínima de pectina e FOS) a 3,71 (concentração máxima de pectina e FOS), o que mostra o principal efeito negativo do fator pectina.

Conclui-se que o pH na faixa estudada diminui com o aumento da concentração de pectina e se torna um fator de contribuição para a instabilidade do frutoligossacarídeo.

5.2.3.- Teor de Sólidos Solúveis (°Brix)

Os efeitos dos fatores concentração de pectina e concentração de frutooligossacarídeo (FOS), lineares, quadráticos e da interação entre eles na porcentagem de sólidos solúveis (°Brix) podem ser observados na Tabela 26.

TABELA 26. Efeito estimado, erro puro, grau de significância e coeficiente de regressão para cada fator para o °Brix.

Fatores	Efeito Estimado	Erro Puro	Significância Estatística (p)	Coeficiente de Regressão
Pectina (L)	1,6767	0,0943	0,0031	-0,7618
Pectina (Q)	-0,2248	0,1130	0,1849	-0,1124
FOS (L)	5,9376	0,0930	2,4530	0,3504
FOS (Q)	-0,4166	0,1071	0,0602	-0,0083
Pectina*FOS (L)	2,05	0,1331	0,0041	0,205

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

(L): termo linear;

(Q): termo quadrático.

Observa-se que os efeitos dos fatores pectina (L) e o de interação entre pectina*FOS (L) foram considerados significativos na variação do °Brix, e com efeitos positivos, isto é, quanto maior a concentração dos dois ingredientes na formulação, maior o teor de sólidos solúveis. Pode-se observar que o fator de interação exerce efeito ainda maior que o efeito da concentração de pectina

isoladamente. O fator FOS (Q) foi considerado significativo devido ao valor de p apresentado (0,060) muito próximo a $p=0,05$. Nota-se que o fator FOS (Q) tem um efeito negativo no valor do °Brix do suco, ou seja, um aumento neste fator, acarreta uma diminuição no valor do °Brix.

O fato do FOS não ter efeito no valor de sólidos solúveis interessa porque indica que deve-se fazer uma correção do valor °Brix para expressar o valor real dos sólidos solúveis totais.

Eliminado os fatores não significativos verificou-se na análise de variância, através do teste F, a significância da regressão e da falta de ajuste a 95% de confiança ($p \leq 0,05$). Na Tabela 27, encontram-se os valores calculados e tabelados de F.

TABELA 27. Análise de variância do modelo ajustado para o teor de sólidos solúveis (°Brix).

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	F calc.	F tab.*
Regressão	82,04324	4	20,51081	39,192	4,53
Resíduo	3,139977	6	0,523329		
Falta de Ajuste	3,10451	4	0,776127	43,767	19,25
Erro Puro	0,035467	2	0,017733		
Total	85,18322	10			

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

Obs.: * Valores tabelados de F a $p \leq 0,05$.

SQ: Soma Quadrática

GL: Grau de Liberdade

MQ: Média Quadrática

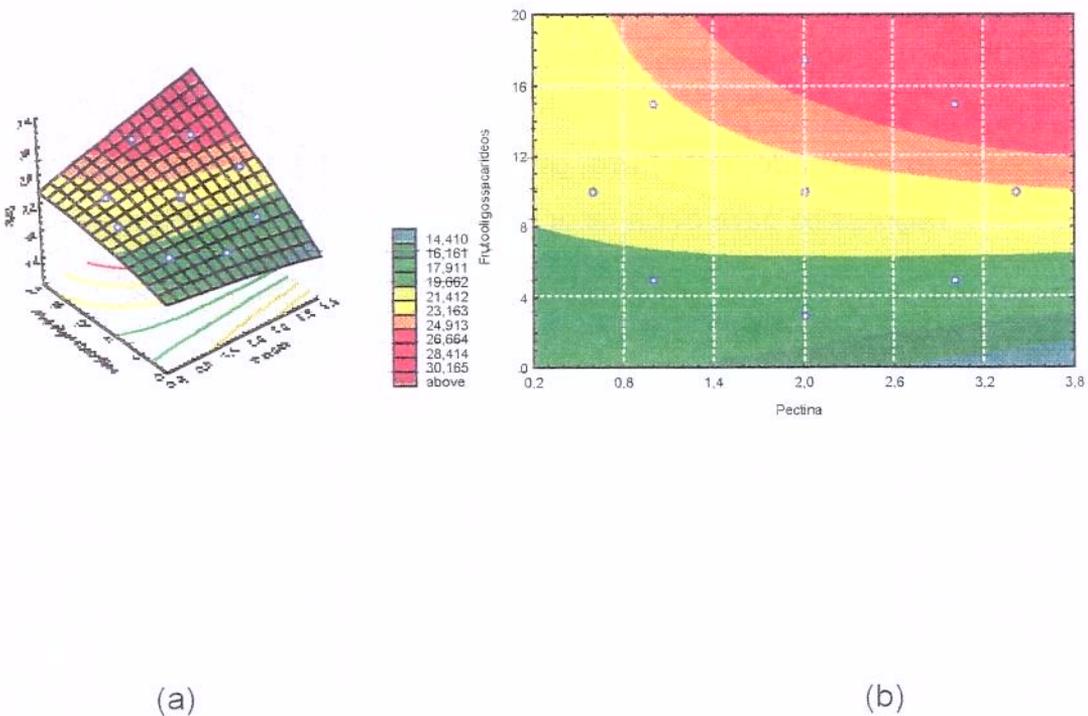
Observa-se que o modelo ajustado apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$) (F calculado superior ao F tabelado) e falta

de ajuste também significativa no mesmo nível (F calculado superior ao F tabelado).

O coeficiente de correlação (R^2) para o modelo ajustado foi de 0,96314, indicando que o modelo explicou 96,3% da variação dos dados observados.

O modelo ajustado para o parâmetro °Brix pode ser considerado preditivo pois apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança e valor de R^2 superior a 0,85, ainda que a falta de ajuste seja significativa no mesmo nível.

A Figura 5 mostra as superfícies de resposta geradas através do modelo decodificado para a resposta °Brix.



**FIGURA 5 : (a) Superfície de resposta para o °Brix.
(b) Superfície de contorno para o °Brix.**

Observa-se através da Figura 5 (a) que o aumento na concentração dos ingredientes funcionais pectina e frutooligossacarídeo, acarreta um aumento no teor de sólidos solúveis no suco misto, dependendo principalmente da interação entre eles.

Obteve-se através do modelo desenvolvido para o parâmetro °Brix dentro da faixa de concentração de pectina (1 a 3%) e FOS (5 a 15%) estudados, os valores de °Brix variando de 17,40 (concentração mínima de pectina e FOS) a 23,99 (concentração máxima de pectina e FOS).

5.2.4.- Viscosidade

Os efeitos dos fatores concentração de pectina e concentração de frutooligossacarídeo (FOS), lineares, quadráticos e da interação entre eles na viscosidade do suco podem ser observados na Tabela 28.

TABELA 28. Efeito estimado, erro puro, grau de significância e coeficiente de regressão para cada fator para a viscosidade.

Fatores	Efeito Estimado	Erro Puro	Significância Estatística (p)	Coeficiente de Regressão
Pectina (L)	583,6257	6,7306	0,00013	-331,0217
Pectina (Q)	251,1673	8,0675	0,0010	125,5836
FOS (L)	74,4335	6,6385	0,0078	-13,4962
FOS (Q)	-7,9010	7,6459	0,4100	-0,1580
Pectina*FOS (L)	120,5	9,5043	0,0061	12,05

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

(L): termo linear

(Q): termo quadrático.

Nota-se que os efeitos dos fatores pectina (L) e (Q), FOS (L) e o de interação entre pectina*FOS (L) foram considerados significativos na variação da viscosidade, e com efeitos positivos, isto é, quanto maior a concentração dos dois ingredientes na formulação, maior a viscosidade do suco. Pode-se observar que os fatores pectina (L) e (Q) exercem efeito predominantemente maior que o efeito da concentração de FOS (Q) e da interação entre os dois fatores. O efeito que a concentração de pectina (L) exerce na viscosidade do suco é quase 8 vezes o efeito da concentração de FOS (Q) e 5 vezes o efeito da interação entre eles.

Eliminado os fatores não significativos verificou-se na análise de variância, através do teste F, a significância da regressão e da falta de ajuste a 95% de confiança ($p \leq 0,05$). Na Tabela 29, encontram-se os valores calculados e tabelados de F.

TABELA 29. Análise de variância do modelo ajustado para viscosidade.

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	F calc.	F tab.*
Regressão	802894,6	4	200723,66	155,697	4,53
Resíduo	7735,139	6	1289,1899		
Falta de Ajuste	7554,473	4	1888,6182	20,907	19,25
Erro Puro	180,6667	2	90,33335		
Total	810629,8	10			

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

Obs.: * Valores tabelados de F a $p \leq 0,05$.

SQ: Soma Quadrática

GL: Grau de Liberdade

MQ: Média Quadrática

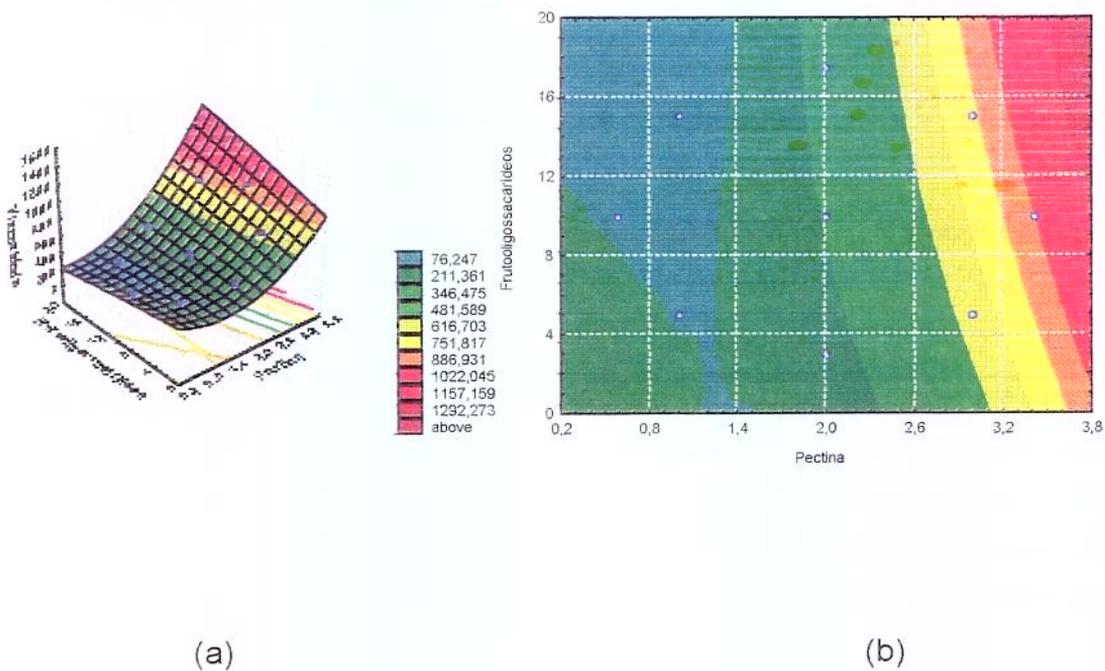
Observa-se que o modelo ajustado apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$) (F calculado superior ao F calculado) e falta

de ajuste também significativa no mesmo nível (F calculado superior ao F tabelado).

O coeficiente de correlação (R^2) para o modelo ajustado foi de 0,99046, indicando que o modelo explicou 99% da variação dos dados observados.

O modelo ajustado para o parâmetro viscosidade pode ser considerado preditivo pois apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança e valor de R^2 superior a 0,85, ainda que a falta de ajuste seja significativa no mesmo nível.

A Figura 6 mostra as superfícies de resposta geradas para a resposta viscosidade.



**FIGURA 6 : (a) Superfície de resposta para a viscosidade.
(b) Superfície de contorno para a viscosidade.**

Observa-se através da Figura 6 (a) a nítida influência da concentração de pectina no aumento da viscosidade do suco. Os menores valores de viscosidade de encontram onde a concentração de pectina varia de 0,2 a 2%, mesmo com concentrações de FOS mais elevadas (Figura 6 b).

Obteve-se através do modelo desenvolvido para a viscosidade dentro da faixa de concentração de pectina (1 a 3%) e FOS (5 a 15%) estudados, os valores da viscosidade variando de 76,50 cP (concentração mínima de pectina e FOS) a 766,10 cP (concentração máxima de pectina e FOS), um aumento de 10 vezes dependente principalmente do aumento na concentração de pectina.

5.2.5. Análise de Cor

Os produtos obtidos dos ensaios do planejamento experimental foram submetidos a determinações experimentais de cor e os resultados estão apresentados na Tabela 30.

Os efeitos dos fatores concentração de pectina e concentração de frutooligossacarídeo (FOS), lineares, quadráticos e da interação entre eles na cor do produto foram analisados estatisticamente no programa Statistica Graph.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

TABELA 30. Valores médios de L*, a*, b*, DE, (calibração RSIN; iluminante D65/10°; sistema Hunterlab) de suco misto de cenoura e laranja adicionados de pectina e frutooligossacarídeo

Produto	L*	a*	b*	Opacidade	DE
<i>In natura</i>	37,56 ^f	9,42 ^f	15,49 ^{de}	98,07	-
Formulação 1	37,27 ^g	10,04 ^c	14,93 ^f	97,40	1,55 ^b
Formulação 2	41,76 ^a	10,75 ^a	17,33 ^a	98,48	5,17 ^h
Formulação 3	35,59 ^h	8,88 ^g	13,70 ^h	97,36	4,15 ^g
Formulação 4	39,23 ^c	9,53 ^{ef}	15,68 ^d	98,94	1,82 ^c
Formulação 5	38,52 ^e	9,75 ^{de}	15,43 ^e	97,18	1,27 ^a
Formulação 6	39,43 ^c	10,42 ^b	16,24 ^c	98,28	2,41 ^d
Formulação 7	38,82 ^d	9,97 ^{cd}	15,63 ^{de}	98,16	1,49 ^a
Formulação 8	35,74 ^h	9,45 ^f	14,05 ^g	97,70	3,37 ^d
Formulação 9	40,66 ^b	8,54 ^h	15,66 ^d	98,80	3,73 ^f
Formulação 10	40,51 ^b	10,57 ^{ab}	16,61 ^b	98,64	3,53 ^e
Formulação 11	37,65 ^f	9,51 ^{ef}	14,75 ^f	96,87	1,95 ^c

Obs.: Médias em uma mesma coluna que possuam letras sobrescritas iguais, não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

DE = diferença total de cor

Através dos efeitos estimados, pode-se observar que, para o a luminosidade (L*), o fator pectina (L) é o de maior efeito, de maneira que quanto maior sua concentração, maior a luminosidade. Já o fator FOS (L) tem influência negativa no valor de L* do produto, diminuindo a luminosidade com o aumento na sua concentração.

Analisando a Tabela 30, observa-se quanto aos valores de L*, que a formulação 2 obteve a maior luminosidade, com valor médio L* igual a 41,76. Analisando-se o suco misto *in natura*, apenas a formulação 11 apresenta-se não diferente estatisticamente, com valores médios de L* igual a 37,56 para o suco *in natura*; e 37,65 para a formulação 11.

No que diz respeito a cromaticidade, a cor dominante é o amarelo, uma vez que todas as amostras apresentam maiores valores de b^* e menores valores de a^* .

Observa-se que apresentam intensidade de vermelho com valores de a^* variando de 8,54 a 10,75. Nenhum dos fatores (pectina e FOS) exercem influência significativa na intensidade de cor vermelha do produto. Para o suco misto de cenoura e laranja *in natura*, o valor de a^* foi de 9,42, sendo que a formulação 8 apresenta valor de a^* igual a 9,45, o mais próximo ao suco misto *in natura*, não diferente estatisticamente ao nível de 5% de significância.

Apresentam maior intensidade de amarelo, com valores de b^* variando de 13,70 a 17,33. Os fatores pectina (L) e FOS (L) exercem influência significativa no valor de b^* de intensidade praticamente igual, porém a concentração de pectina influi de maneira positiva aumentando no produto a intensidade da cor amarelo. Já o FOS tem efeito negativo nos valores de b^* .

Analisando os valores de b^* , a amostra *in natura* apresenta-se com valor intermediário (15,49).

Tonando-se a amostra *in natura* como padrão, observa-se que a formulação 5 apresenta menor diferença total de cor com relação ao padrão, com valor de DE igual a 1,27, seguida da formulação 7 que não apresenta ser diferente estatisticamente ao nível de 5% da formulação 5. As amostras que mais se parecem com o produto *in natura* são as formuladas com níveis intermediários dos ingredientes pectina e FOS (2 e 10% respectivamente). Deve-se considerar também que a cor do produto sofre influência do processamento e matéria prima além dos ingredientes analisados.

Todas as amostras se mostraram opacas, com valores da diferença de luz que atravessa o fundo branco e preto acima de 80%.

5.3. Efeito da Adição de Fruto-oligossacarídeo e Pectina nas Propriedades Sensoriais do Suco Misto de Cenoura e Laranja (AVALIAÇÃO SENSORIAL)

Os resultados da avaliação sensorial nos produtos advindos dos ensaios do planejamento experimental do suco misto encontram-se na Tabela 31. Os resultados são médias das notas dadas pelos provadores.

As médias das notas atribuídas aos parâmetros sabor, consistência, aparência e avaliação global do produto foram analisadas estatisticamente pelos Programas SAS e StatisticaGraph.

TABELA 31. Médias das notas atribuídas ao Suco Funcional.

Formulação	PECTINA* (%)	FOS** (%)	Sabor	Consistênc ia	Aparência	Avaliação Global
1	1	5	6,91 ^{ab}	6,59 ^a	7,86 ^{ab}	6,86 ^{ab}
2	3	5	4,33 ^d	3,59 ^{cde}	6,27 ^{ef}	4,41 ^{ed}
3	1	15	7,00 ^{ab}	6,45 ^a	7,95 ^{ab}	6,63 ^{abc}
4	3	15	4,68 ^{cd}	2,68 ^e	6,41 ^{de}	4,04 ^e
5	2	10	5,45 ^{cd}	4,32 ^{bc}	7,32 ^{abc}	5,31 ^{cde}
6	2	10	5,41 ^{cd}	4,00 ^{bcd}	7,00 ^{cde}	5,09 ^{ed}
7	2	10	5,95 ^{abc}	4,27 ^{bc}	7,22 ^{abc}	5,41 ^{cd}
8	0,59	10	7,13 ^a	7,59 ^a	8,00 ^a	7,41 ^a
9	3,41	10	4,36 ^d	2,81 ^{de}	5,54 ^f	4,54 ^{de}
10	2	2,95	5,41 ^{cd}	4,95 ^b	6,91 ^{cde}	5,59 ^{bcd}
11	2	17,5	5,68 ^{bcd}	4,09 ^{bcd}	7,32 ^{bcd}	5,13 ^{de}

Obs.: Médias em uma mesma coluna que possuam letras sobrescritas iguais, não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

*: Concentração de pectina para cada formulação conforme o planejamento experimental.

** : Concentração de frutooligossacarídeo para cada formulação conforme o planejamento experimental.

Através da Tabela 31, pode-se observar o grau de aceitação das formulações entre os provadores e as diferenciações significativas entre elas, discutidas a seguir para cada atributo analisado.

5.3.1. Sabor

Os efeitos dos fatores concentração de pectina e concentração de frutooligossacarídeo (FOS), lineares, quadráticos e da interação entre eles no sabor do suco, conforme as notas dadas pelos provadores, podem ser observados na Tabela 32.

TABELA 32. Efeito estimado, erro puro, grau de significância e coeficiente de regressão para cada fator no parâmetro sabor.

Fatores	Efeito Estimado	Erro Puro	Significância Estatística (p)	Coeficiente de Regressão
Pectina (L)	-2,2004	0,2130	0,0092	-1,5926
Pectina (Q)	0,1887	0,2554	0,5369	0,0943
FOS (L)	0,1949	0,2101	0,4516	0,0040
FOS (Q)	-0,0189	0,2420	0,9447	-0,0003
Pectina*FOS (L)	0,1150	0,3008	0,7391	0,1150

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

(L): termo linear;

(Q): termo quadrático.

Observa-se que o efeito do fator pectina (L) foi o único considerado de influência significativa a nível de 95% de confiança, e tem um efeito negativo na nota atribuída pelos provadores do suco, ou seja, um aumento na concentração de pectina, acarreta uma diminuição na aceitação dos provadores quanto ao sabor do

produto. A adição de frutooligossacarídeo não interfere na aceitabilidade do produto quanto ao sabor.

Eliminado os fatores não significativos verificou-se na análise de variância, através do teste F, a significância da regressão e da falta de ajuste a 95% de confiança ($p \leq 0,05$). Na Tabela 33, encontram-se os valores calculados e tabelados de F.

TABELA 33. Análise de variância do modelo ajustado para o sabor

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	F calc.	F tab.*
Regressão	9,6553	1	9,6553	190,14	5,12
Resíduo	0,4570	9	0,0507		
Falta de Ajuste	0,2760	7	0,0394	0,43	19,35
Erro Puro	0,1810	2	0,0905		
Total	10,1124	10			

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

Obs.: * Valores tabelados de F a $p \leq 0,05$.

SQ: Soma Quadrática

GL: Grau de Liberdade

MQ: Média Quadrática

O modelo ajustado apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$) (F calculado superior ao F tabelado) e falta de ajuste não significativa no mesmo nível (F calculado inferior ao F tabelado).

O coeficiente de correlação (R^2) para o modelo ajustado foi de 0,9548, indicando que o modelo explicou 95,5% da variação dos dados observados.

O modelo ajustado para o parâmetro sabor na avaliação sensorial foi considerado preditivo pois apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança, falta de ajuste não significativa no mesmo nível e valor de R^2 superior a 0,85.

A Figura 7 mostra as superfícies de resposta geradas através do modelo decodificado para a resposta sabor.

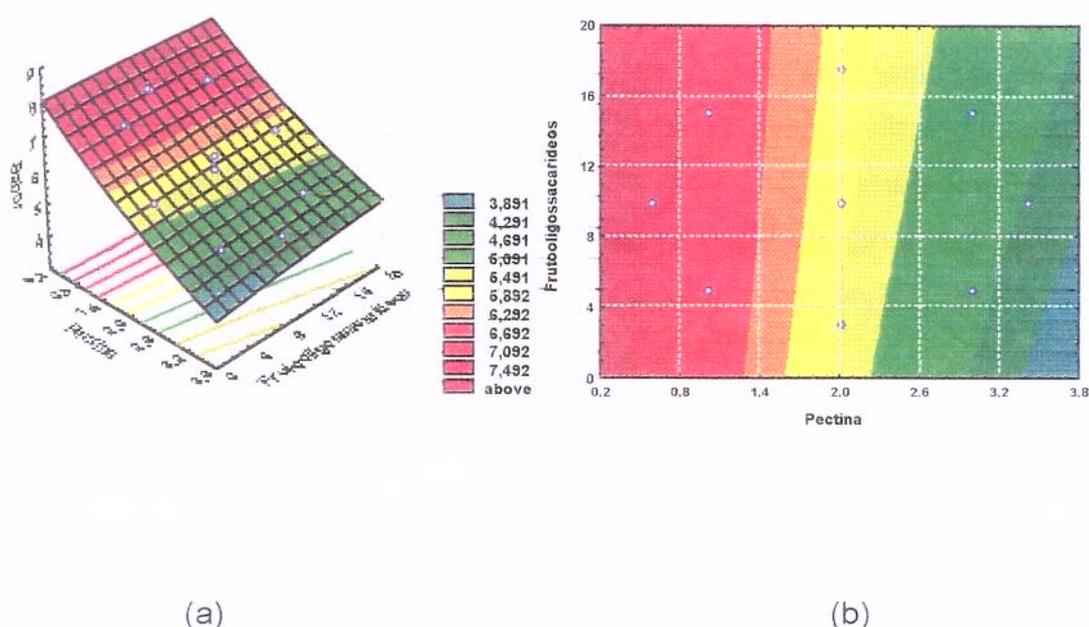


FIGURA 7 : (a) Superfície de resposta para o sabor.

(b) Superfície de contorno para o sabor.

Como pode-se observar através da Figura 7 (a) há uma nítida influência da concentração de pectina na diminuição nas notas atribuídas ao sabor do suco. As menores notas para o sabor encontram-se onde a concentração de pectina é mais alta, acima de 2%, independente das concentrações de FOS (Figura 7 b).

Obteve-se através do modelo desenvolvido para o sabor dentro da faixa de concentração de pectina (1 a 3%) e FOS (5 a 15%) estudados, a nota para o sabor variando de 6,58 (concentração mínima de pectina) a 3,40 (concentração máxima de pectina), mostrando o efeito negativo que o fator concentração de pectina provoca na aceitação do produto quanto ao sabor.

Para o atributo sabor, as formulações 8, 3 e 1 foram as mais aceitas e obtiveram notas médias de 7,13; 7,00 e 6,91, respectivamente, não diferindo significativamente a nível de 5%. Estas foram formulações nas quais a concentração de pectina foi de 0,59% (formulação 8) e 1% (formulações 1 e 3). As formulações 2 e 9 (3 e 3,41% de pectina) não diferiram entre si significativamente, e obtiveram as menores notas de aceitação. A formulação 4 não diferiu estatisticamente a nível de 5% de significância das demais, consideradas de aceitação intermediária, mesmo com 3% adicionada de pectina, o que mostra um possível mascaramento do sabor estranho da pectina proporcionado pela alta concentração de FOS nesta formulação.

5.3.2. Consistência

Os efeitos dos fatores concentração de pectina e concentração de frutooligossacarídeo (FOS), lineares, quadráticos e da interação entre eles na consistência do suco, conforme as notas dadas pelos provadores, podem ser observados na Tabela 34.

TABELA 34. Efeito estimado, erro puro, grau de significância e coeficiente de regressão para cada fator no parâmetro consistência.

Fatores	Efeito Estimado	Erro Puro	Significância Estatística (p)	Coeficiente de Regressão
Pectina (L)	-3,3875	01219	0,0012	-3,2930
Pectina (Q)	0,9921	0,1461	0,0210	0,4960
FOS (L)	-0,5724	0,1202	0,0413	-0,10033
FOS (Q)	0,3002	0,1384	0,1624	0,0060
Pectina*FOS (L)	-0,3850	0,1721	0,1547	-0,0385

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

(L): termo linear;

(Q): termo quadrático.

Observa-se que o efeito do fator pectina (L) foi o de maior influência significativa a nível de 95% de confiança, e tem um efeito negativo na nota atribuída pelos provadores do suco, ou seja, um aumento na concentração de pectina, acarreta uma diminuição na aceitação dos provadores quanto a consistência do produto. A adição de frutooligossacarídeo (FOS (L)) é o de menor influência e também interfere na consistência de maneira negativa, ou seja, acarreta uma diminuição na aceitabilidade do produto quanto a consistência. O fator pectina (Q) tem efeito positivo sobre a consistência.

Eliminado os fatores não significativos verificou-se na análise de variância, através do teste F, a significância da regressão e da falta de ajuste a 95% de confiança ($p \leq 0,05$). Na Tabela 35, encontram-se os valores calculados e tabelados de F.

TABELA 35. Análise de variância do modelo ajustado para o parâmetro consistência

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	F calc.	F tab.*
Regressão	24,7590	3	8,2530	163,49	4,35
Resíduo	0,3534	7	0,0504		
Falta de Ajuste	0,2941	5	0,0588	1,98	19,30
Erro Puro	0,0592	2	0,0296		
Total	25,1134	10			

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

Obs.: * Valores tabelados de F a $p \leq 0,05$.

SQ: Soma Quadrática

GL: Grau de Liberdade

MQ: Média Quadrática

Como observa-se na Tabela 35, o modelo ajustado apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$) (F calculado superior ao F tabelado) e falta de ajuste não significativa no mesmo nível (F calculado inferior ao F tabelado).

O coeficiente de correlação (R^2) para o modelo ajustado foi de 0,9859, indicando que o modelo explicou 98,6% da variação dos dados observados.

O modelo ajustado para o parâmetro consistência na avaliação sensorial foi considerado preditivo pois apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança, falta de ajuste não significativa no mesmo nível e valor de R^2 superior a 0,85.

A Figura 8 mostra as superfícies de resposta geradas através do modelo decodificado para a resposta consistência.

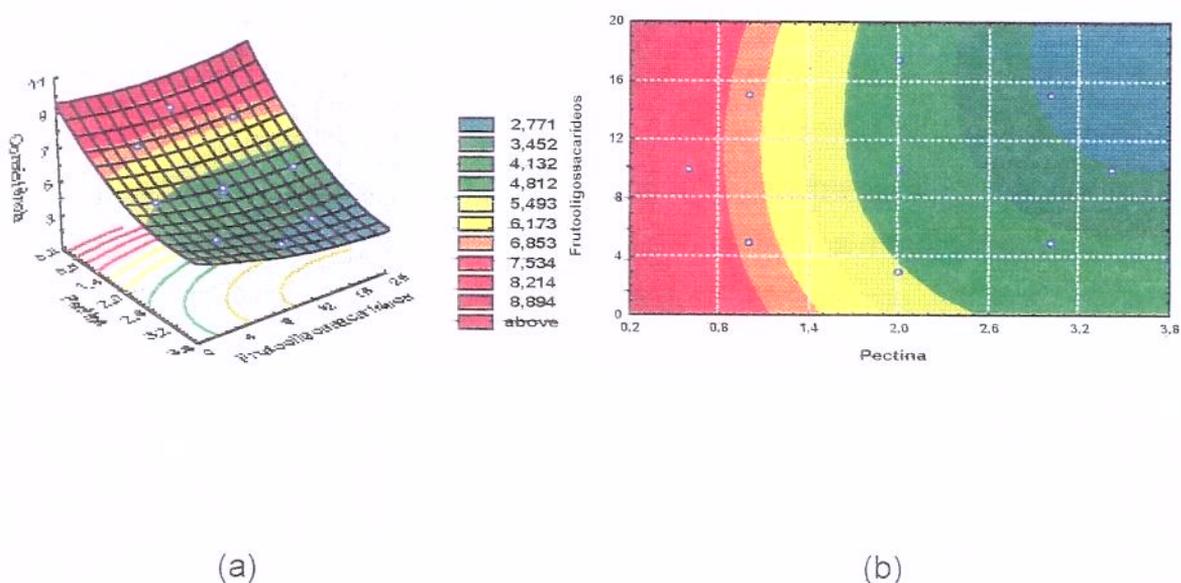


FIGURA 8 : (a) Superfície de resposta para a consistência.
(b) Superfície de contorno para a consistência.

Observa-se através da Figura 8 (a) uma nítida influência da concentração de pectina na diminuição nas notas atribuídas a consistência do suco, enquanto que a concentração de FOS pouco interfere nas notas atribuídas. As menores notas para a consistência encontram-se onde a concentração de pectina é mais alta, acima de 2,8%, mesmo com concentrações de FOS mais baixas (Figura 8 b).

Obteve-se através do modelo desenvolvido para a consistência dentro da faixa de concentração de pectina (1 a 3%) e FOS (5 a 15%) estudados, a nota para a consistência variando de 2,16 (concentração mínima de pectina e FOS) a 4,56 (concentração máxima de pectina e FOS), mostrando principalmente o efeito negativo que o fator concentração de pectina provoca na aceitação do produto quanto a consistência. Nota-se também, que a faixa ótima nas notas atribuídas a consistência estaria compreendida onde a concentração de pectina ainda é menor do que 1% (concentração mínima).

Como no atributo sabor, as formulações 8 (0,59% de pectina), 1 e 3 (1% de pectina) obtiveram maior aceitação entre os provadores, não diferindo estatisticamente a nível de 5% de significância. As notas atribuídas para a consistência foram 7,59; 6,59 e 6,45, respectivamente, mostrando que a formulação 8 ficou classificada entre “gostei moderadamente” e “gostei muito”, devido a sua menor viscosidade. A formulação 4 (3% de pectina) e a formulação 9 (3,59% de pectina) foram as de menor aceitação e obtiveram notas de 2,68 e 2,81, mostrando que os provadores “desgostaram muito” da consistência destes produtos.

5.3.3. Aparência

Os efeitos dos fatores concentração de pectina e concentração de frutooligossacarídeo (FOS), lineares, quadráticos e da interação entre eles na aparência do suco, conforme as notas dadas pelos provadores, podem ser observados na Tabela 36.

TABELA 36. Efeito estimado, erro puro, grau de significância e coeficiente de regressão para cada fator no parâmetro aparência.

Fatores	Efeito Estimado	Erro Puro	Significância Estatística (p)	Coefficiente de Regressão
Pectina (L)	-1,6545	0,1159	0,0048	-0,2434
Pectina (Q)	-0,3044	0,1389	0,1598	-0,1522
FOS (L)	0,1505	0,1143	0,3185	0,0236
FOS (Q)	-0,340	0,1316	0,8200	-0,0006
Pectina*FOS (L)	0,0250	0,1637	0,8926	0,0025

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

(L): termo linear;

(Q): termo quadrático.

Observa-se que o efeito do fator pectina (L) foi o único fator de influência significativa a nível de 95% de confiança, e tem um efeito negativo na nota atribuída pelos provadores do suco, ou seja, um aumento na concentração de pectina, acarreta uma diminuição na aceitação dos provadores quanto a aparência do produto. A adição de frutooligossacarídeo não interfere na aceitabilidade do produto quanto a consistência. Nas formulações de maior concentração de pectina, notou-se uma coloração mais opaca, sem brilho, o que acarretou na diminuição das notas atribuídas para a aparência pelos provadores.

Eliminado os fatores não significativos verificou-se na análise de variância, através do teste F, a significância da regressão e da falta de ajuste a 95% de confiança ($p \leq 0,05$). Na Tabela 37, encontram-se os valores calculados e tabelados de F.

TABELA 37. Análise de variância do modelo ajustado para o parâmetro aparência

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	F calc.	F tab.*
Regressão	5,4589	1	5,4589	141,39	5,12
Resíduo	0,3474	9	0,0386		
Falta de Ajuste	0,2938	7	0,0419	1,56	19,35
Erro Puro	0,0536	2	0,0268		
Total	5,8064	10			

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

Obs.: * Valores tabelados de F a $p \leq 0,05$.

SQ: Soma Quadrática

GL: Grau de Liberdade

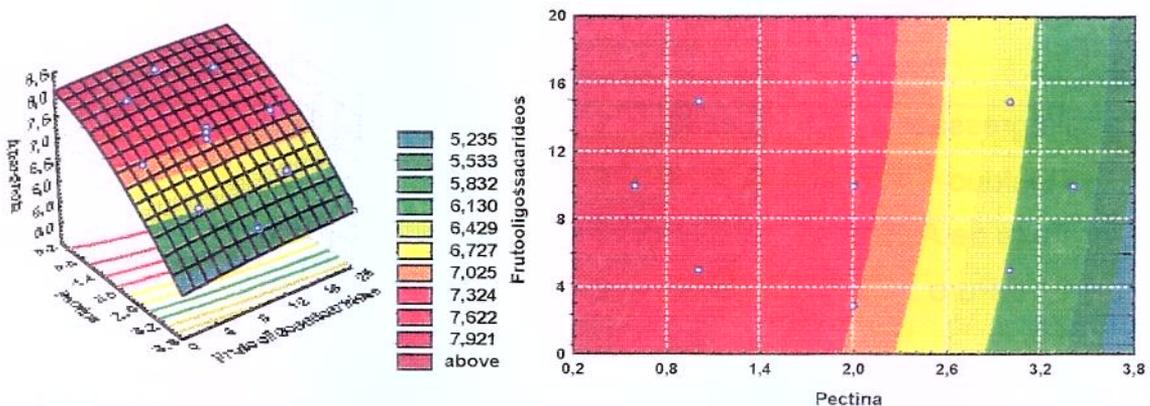
MQ: Média Quadrática

Como observa-se na Tabela 37, o modelo ajustado apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$) (F calculado superior ao F tabelado) e falta de ajuste não significativa no mesmo nível (F calculado inferior ao F tabelado).

O coeficiente de correlação (R^2) para o modelo ajustado foi de 0,9401, indicando que o modelo explicou 94,0% da variação dos dados observados.

O modelo ajustado para o parâmetro aparência na avaliação sensorial foi considerado preditivo pois apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança, falta de ajuste não significativa no mesmo nível e valor de R^2 superior a 0,85.

A Figura 9 mostra as superfícies de resposta geradas através do modelo decodificado para a resposta aparência.



(a)

(b)

**FIGURA 9 : (a) Superfície de resposta para a aparência.
(b) Superfície de contorno para a aparência.**

Observa-se através da Figura 9 (a) a influência da concentração de pectina na diminuição nas notas atribuídas a aparência do suco, enquanto que a concentração de FOS não interfere nas notas atribuídas. As menores notas para a aparência encontram-se onde a concentração de pectina é mais alta, acima de 2,8%, mesmo com concentrações de FOS mais baixas (Figura 9 b). Nota-se também, que a faixa ótima nas notas atribuídas a aparência está compreendida onde a concentração de pectina é menor do que 1% (concentração mínima).

Obteve-se através do modelo desenvolvido para a aparência dentro da faixa de concentração de pectina (1 a 3%) estudados, a nota para a aparência variando de 7,82 (concentração mínima de pectina) a 7,33 (concentração máxima de pectina), mostrando principalmente o efeito negativo que o fator concentração de pectina provoca na aceitação do produto quanto a aparência.

Quanto ao atributo aparência, a formulação 8 obteve maior nota (8,00), indicando que os provadores gostaram muito do produto. Porém, ela não diferiu estatisticamente das outras formulações a um nível de 5% de significância. A classificação para os produtos ficou entre as notas 7,00 e 8,00, o que mostra uma boa aceitação dos produtos pelos provadores. Apenas as amostras 2 e 9 obtiveram menor aceitação entre os provadores e diferiram das demais, classificadas com notas de 6,27 e 5,54, respectivamente. Pode-se dizer, que a alta viscosidade destes produtos influenciou na aparência global para que estes fossem menos aceito, uma vez que, juntamente com os aspectos visuais, a fluidez também foi avaliada pelos provadores.

5.3.4. Avaliação Global

Os efeitos dos fatores concentração de pectina e concentração de frutooligossacarídeo (FOS), lineares, quadráticos e da interação entre eles na

avaliação global do suco, conforme as notas dadas pelos provadores, podem ser observados na Tabela 38.

TABELA 38. Efeito estimado, erro puro, grau de significância e coeficiente de regressão para cada fator no parâmetro avaliação global.

Fatores	Efeito Estimado	Erro Puro	Significância Estatística (p)	Coeficiente de Regressão
Pectina (L)	-2,2784	0,1159	0,0025	-2,3015
Pectina (Q)	0,6161	0,1389	0,0472	0,3080
FOS (L)	-0,3067	0,1143	0,1153	-0,0203
FOS (Q)	0,0092	0,1316	0,9503	0,0001
Pectina*FOS (L)	-0,0700	0,1637	0,7105	-0,0070

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

(L): termo linear;

(Q): termo quadrático.

Observa-se que o efeito do fator pectina (L) e (Q) foram os únicos fatores de influência significativa a nível de 95% de confiança, onde o fator linear apresenta um maior efeito negativo na nota atribuída pelos provadores do suco, ou seja, um aumento na concentração de pectina, acarreta uma diminuição na aceitação dos provadores quanto a avaliação global do produto. A adição de frutooligossacarídeo não interfere na aceitabilidade do produto quanto a esta resposta. Nas formulações de maior concentração de pectina, notou-se uma coloração mais opaca, textura muito espessa e pegajosa, e sabor acentuado de pectina, o que acarretou na diminuição das notas atribuídas para a avaliação global pelos provadores.

Eliminado os fatores não significativos verificou-se na análise de variância, através do teste F, a significância da regressão e da falta de ajuste a 95% de

confiança ($p \leq 0,05$). Na Tabela 39, encontram-se os valores calculados e tabelados de F.

TABELA 39. Análise de variância do modelo ajustado para o parâmetro avaliação global

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	F calc.	F tab.*
Regressão	10,9333	2	5,4666	99,57	4,46
Resíduo	0,4393	8	0,0549		
Falta de Ajuste	0,3857	6	0,0642	2,39	19,33
Erro Puro	0,0536	2	0,0268		
Total	1,3726	10			

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

Obs.: * Valores tabelados de F a $p \leq 0,05$.

SQ: Soma Quadrática

GL: Grau de Liberdade

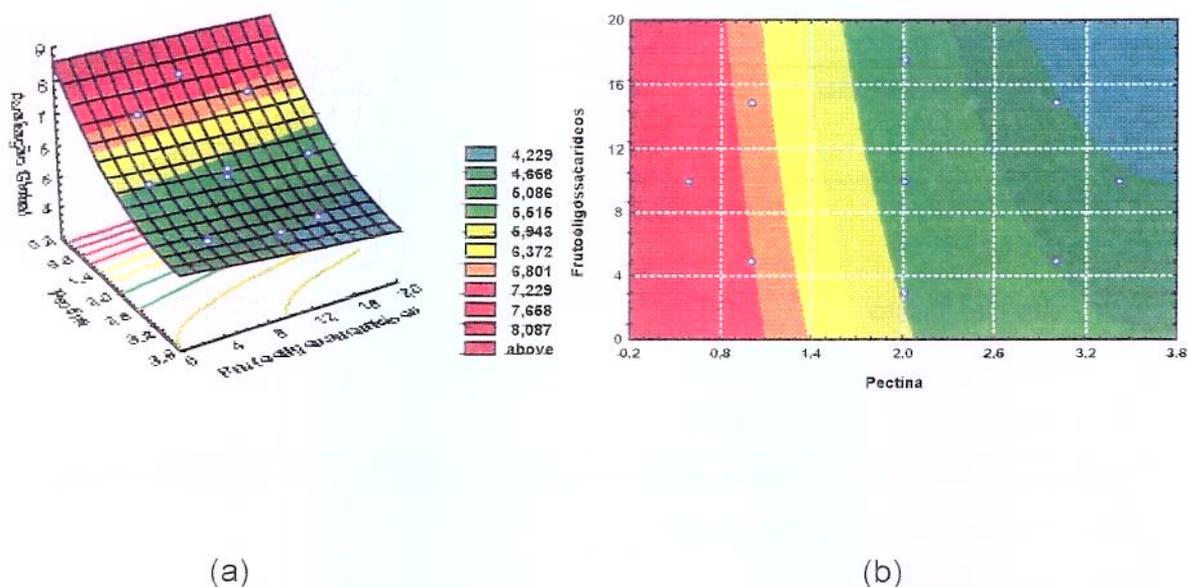
MQ: Média Quadrática

Como observa-se na Tabela 39, o modelo ajustado apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$) (F calculado superior ao F tabelado) e falta de ajuste não significativa no mesmo nível.

O coeficiente de correlação (R^2) para o modelo ajustado foi de 0,9613, indicando que o modelo explicou 96,1% da variação dos dados observados.

O modelo ajustado para o parâmetro avaliação global foi considerado preditivo pois apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança, falta de ajuste não significativa no mesmo nível e valor de R^2 superior a 0,85.

A Figura 10 mostra as superfícies de resposta geradas para a avaliação global.



**FIGURA 10 : (a) Superfície de resposta para a avaliação global.
(b) Superfície de contorno para a avaliação global.**

Pode-se observar através da Figura 10 (a) a influência da concentração de pectina na diminuição nas notas atribuídas a avaliação global sensorial do suco, enquanto que a concentração de FOS não interfere nas notas atribuídas. As menores notas para a avaliação global encontram-se onde a concentração de pectina é acima de 2,0%, mesmo com concentrações de FOS mais baixas (Figura 10 b). Nota-se também, que as notas mais altas atribuídas a avaliação global estão compreendidas onde a concentração de pectina é menor do que 1,4%.

Obteve-se através do modelo desenvolvido para a avaliação global dentro da faixa de concentração de pectina (1 a 3%) estudados, a nota para a esta

resposta variando de 6,97 (concentração mínima de pectina) a 4,83 (concentração máxima de pectina), mostrando principalmente o efeito negativo que o fator concentração de pectina provoca na aceitação do produto quanto a avaliação global.

No atributo avaliação global, os provadores classificaram com as maiores notas as formulações 8 e 1 (7,4 e 6,86, respectivamente), não diferentes estatisticamente a 5 % de significância. As formulações 3, 10 e 7 obtiveram uma aceitação intermediária entre os provadores. As demais formulações, foram classificadas dentro do grupo de baixa aceitação, sendo a formulação 4 a de menor nota (4,04). Isto mostra que a viscosidade está diretamente ligada a aceitação do suco misto. As formulações de menor concentração de pectina (8 e 1) foram as mais aceitas pelos provadores na avaliação global, salientando que altas concentrações de pectina conferiram ao produto uma perda de sabor considerável.

5.4. Efeito da Adição de Fruto-oligossacarídeo e Pectina quanto a Funcionalidade Nutricional do Suco Misto de Cenoura e Laranja

Durante o experimento biológico realizado com hamsters, foi realizado o controle do peso onde os animais eram pesados individualmente a cada três dias. Pode-se observar o comportamento dos grupos com relação ao ganho de peso através da Tabela 40.

TABELA 40. Ganho de peso (g) durante o experimento biológico*

Período (a cada três dias)	Grupo Controle	Grupo A	Grupo B	Grupo C
1	75,98	91,44	84,84	87,64
2	81,03	97,305	91,37	94,90
3	88,57	104,50	102,18	104,32
4	94,61	109,60	110,23	110,77
5	96,92	112,22	115,59	114,38
6	103,03	115,82	119,79	117,57
7	106,02	117,55	123,75	120,89
8	108,74	121,69	128,75	126,13
9	108,55	123,37	129,01	128,09
Ganho de	32,57	31,93	44,17	40,45
Peso				

* : Os valores para cada período são a média dos pesos (g) dos oito animais de cada grupo.

Grupo A: animais alimentados com dieta contendo suco adicionado de pectina.

Grupo B: animais alimentados com dieta contendo suco adicionado de frutooligossacarídeo (FOS).

Grupo C: animais alimentados com dieta contendo suco adicionado de pectina e frutooligossacarídeo.

Observa-se que houve um ganho de peso maior nos grupos B e C, sendo que o grupo B, que recebeu dieta contendo suco adicionado apenas de FOS, apresentou o maior aumento de peso. Foi observado também durante o experimento, que os animais que recebiam a dieta controle (grupo controle), isenta do suco funcional, e os que recebiam a dieta com suco contendo apenas pectina (grupo A), comiam menos que os outros dois grupos. Isto mostra uma aceitação maior dos animais para as dietas adicionadas do suco contendo FOS, que se apresentavam com odor e sabor menos alterado. Além disso, as dietas adicionadas com os sucos, apresentavam consistência semelhante a uma massa de bolo crua, e tiveram uma boa aceitação pelos animais que geralmente recebem dietas constituídas de ingredientes secos.

Observou-se ainda, que as fezes dos animais do grupo controle apresentaram cor mais escura que as dos animais dos demais grupos, e foram aparentemente excretadas em maior número.

5.4.1. Redução de Colesterol no Sangue dos Animais

A Tabela 41 mostra os valores dos níveis de colesterol no sangue dos animais coletado ao final do experimento biológico, obtidos através da leitura no aparelho Accutrend GCT.

TABELA 41. Nível de colesterol no sangue dos animais

Animais	Grupo Controle	Grupo A	Grupo B	Grupo C
1	292	151	155	153
2	227	153	176	177
3	224	156	170	162
4	197	155	161	164
5	222	151	153	179
6	182	158	181	153
7	221	152	183	163
8	223	150	162	165
Média	223,50^a	153,25^b	167,62^b	164,50^b

Obs.: Médias que possuam letras sobrescritas iguais, não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Grupo Controle: animais alimentados com dieta isenta de suco funcional.

Grupo A: animais alimentados com dieta contendo suco adicionado de pectina (0,18g/dia).

Grupo B: animais alimentados com dieta contendo suco adicionado de FOS (0,9g/dia).

Grupo C: animais alimentados com dieta contendo suco adicionado de pectina (0,18g/dia) e FOS (0,9g/dia).

Analisando a Tabela 41, pode-se observar os valores médios do nível de colesterol para cada grupo do experimento biológico. O alto valor para o grupo controle era esperado (223,50), uma vez que as dietas eram hipercolesterolêmicas.

Estatisticamente, de acordo com o teste de Tuckey, existiu diferença significativa a nível de 5% ($p \leq 0,05$) entre os três grupos experimentais (grupo A, grupo B e grupo C) e o controle. Porém, não houve diferença significativa entre os grupos experimentais A, B, e C.

O grupo A, alimentado com 0,9g de pectina /100g de dieta (0,18 g de pectina por animal por dia), apresentou um valor de colesterol médio de 153,25, o que representa a maior redução de 31,3% em relação ao grupo controle. A redução no nível de colesterol para o grupo B, alimentado com 4,5g de FOS/100g de dieta (0,9 g de FOS por animal por dia) foi de 25,06% e para o grupo C, alimentado com pectina e FOS nos mesmos níveis, de 26,15%. As reduções se mostraram superiores a dados de trabalhos como o de TRAUTWEIN *et al.* (1998), que estudaram entre outros o efeito de duas variedades de pectina em hamsters: pectina de alta esterificação e pectina de baixa esterificação. A pectina de alta esterificação diminuiu em 16% (não significante estatisticamente) o colesterol no plasma. As dietas foram suplementadas com 8g de pectina / 100g de dieta e o estudo durou 6 semanas. FERNANDEZ *et al.* (1994) alimentou porcos com pectina cítrica contendo 6,7% de grupos metoxil, nas concentrações de 0 a 12,5% incorporada na dieta. As reduções foram de 29%, 30%, 67% com 7,5%, 10% e 12,5% de pectina, respectivamente. Em um estudo com animais e humanos, CERDA (1990) alimentou mini-porcos com pectina de grapefruit. O tratamento foi de 3% de pectina durante 326 dias. Foi concluído que a pectina reduziu significativamente o colesterol no plasma de 30%. Deve-se considerar nas percentagens de redução as diferenças no experimento biológico de cada trabalho, como o animal, tipo de pectina, seu grau de metoxilação, quantidade

diária ingerida por animal e tempo de tratamento, mas pode-se concluir que o estudo apresentou resultados significativos com redução relativamente alta.

Segundo GIBSON *et al.*(1994), além do efeito prebiótico, o potencial promotor de saúde associado com as bifidobactérias são descritas entre outras pelas propriedades de diminuir o colesterol no sangue; e ajudar na restauração da flora intestinal normal depois de uma terapia antibiótica. A redução do colesterol devido a mudanças na micoflora intestinal pelas atividades das bifidobactérias também foi citada por TOMATSU, 1994 e MIZOTA, 1996, sendo mostrado que 12 espécies de *Lactobacillus acidophilus* de humanos assimilam o colesterol em estudos *in vitro*. Isto confirma os resultados obtidos neste estudo que mostra a redução de 25,06% no colesterol do grupo B (alimentado com dieta contendo FOS) com relação ao grupo controle. Porém, não existiu diferença na redução do colesterol entre este grupo e o grupo C (alimentado com ambos os ingredientes), o que mostra a ação não sinérgica entre a pectina e FOS.

A redução nos níveis de colesterol para os grupos que receberam dietas contendo o suco misto adicionado dos ingredientes funcionais estudados, pode ser melhor visualizada através da Figura 11.

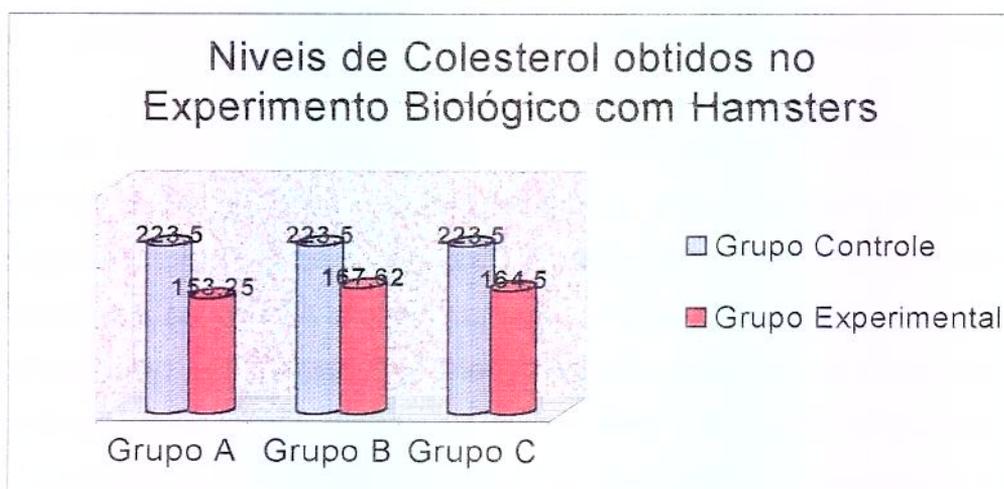


FIGURA 11. Níveis de Colesterol dos Grupos Controle e Experimentais no Ensaio Biológico

Grupo Controle: animais alimentados com dieta isenta de suco funcional.

Grupo A: animais alimentados com dieta contendo suco adicionado de pectina (0,18g/dia).

Grupo B: animais alimentados com dieta contendo suco adicionado de FOS (0,9g/dia).

Grupo C: animais alimentados com dieta contendo suco adicionado de pectina (0,18g/dia) e FOS (0,9g/dia).

5.4.2. Contagem de Bifidobactérias nas Fezes dos Animais

Durante o experimento biológico, foram feitas duas coletas das fezes dos grupos controle e experimentais para análise microbiológica de contagem do número de bifidobactérias presentes. A primeira coleta foi realizada depois de 15 dias de tratamento e a segunda, no último dia do estudo, o qual completava 30 dias de tratamento.

A contagem do número de bifidobactérias presente nas fezes dos animais estão representados na Tabela 42. As amostras das fezes da primeira coleta ficaram sob congelamento até o término do experimento, devido a falta de um dos componentes usados no meio de cultura seletivo para contagem das

bifidobactérias. Isto pode ter reduzido o número real de bifidobactérias presentes no dia da coleta.

TABELA 42. Contagem de bifidobactérias nas fezes dos animais.

Grupo Experimental	15 dias de tratamento	30 dias de tratamento
Grupo Controle	$6,30 \times 10^5$ UFC/g	$4,40 \times 10^6$ UFC/g
Grupo A	$6,79 \times 10^5$ UFC/g	$4,11 \times 10^6$ UFC/g
Grupo B	$5,70 \times 10^5$ UFC/g	$1,57 \times 10^7$ UFC/g
Grupo C	$2,60 \times 10^5$ UFC/g	$3,05 \times 10^6$ UFC/g

Grupo Controle: animais alimentados com dieta isenta de suco funcional.

Grupo A: animais alimentados com dieta contendo suco adicionado de pectina (0,18g/dia).

Grupo B: animais alimentados com dieta contendo suco adicionado de FOS (0,9g/dia).

Grupo C: animais alimentados com dieta contendo suco adicionado de pectina (0,18g/dia) e FOS (0,9g/dia).

Como pode-se observar, com 15 dias de experimento não houve diferença no número de bifidobactérias entre os grupos controle e experimentais. Um aumento no número de bifidobactérias seria esperado nos grupos B e C, onde os animais foram alimentados com FOS presente na dieta em um nível de 0,9 g por animal por dia. O comprometimento das amostras devido ao congelamento e a perda de FOS devido a hidrólise em frutose no processamento do suco devem ser considerados juntamente com um período de tratamento relativamente curto.

Depois de 30 dias de tratamento, observa-se um aumento no número de bifidobactérias no grupo B (alimentado com dieta contendo apenas FOS) com relação ao grupo controle. O aumento foi de $4,40 \times 10^6$ (grupo controle) para $1,57 \times 10^7$ (grupo controle). Microbiologicamente, é considerado significativo o aumento a partir de uma escala logarítmica, o que significa um aumento de 10 vezes na contagem inicial. Portanto, observa-se um aumento significativo no número de

bifidobactérias no grupo B, porém, o grupo C, que foi alimentado com dieta contendo FOS e pectina, apresentou contagem de $3,05 \times 10^6$, não diferente do controle. Isto sugere que a pectina, de alguma forma, prejudicou o crescimento de bifidobactérias. Pode-se dizer ainda que a redução do colesterol no grupo C foi devido a somente ao efeito da pectina, explicando o não sinergismo entre pectina e FOS já mencionado.

Os resultados da contagem do número de bifidobactérias para os grupos que receberam FOS em sua dieta podem ser visualizados na Figura 12.

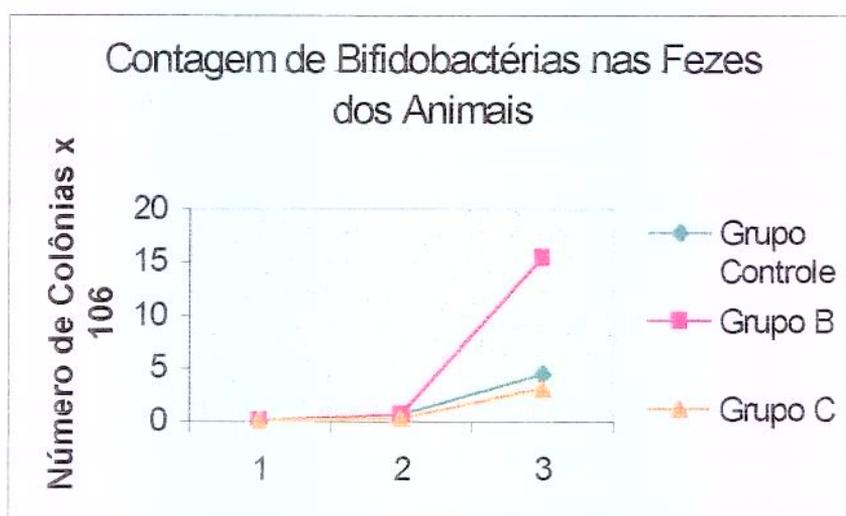


FIGURA 12. Contagem de Bifidobactérias nas Fezes dos Grupos Alimentados com FOS durante o Ensaio Biológico

- 1- início do tratamento
- 2- 15 dias de tratamento
- 3- 30 dias de tratamento

Algumas verificações foram realizadas para a identificação das colônias incubadas nas placas. Depois de transferidas para lâminas de observação em microscópio eletrônico, algumas características de Bifidobactérias foram confirmadas, de acordo com BUCHAMM & GIBBONS (1975):

1- Forma altamente variável na aparência, constituída basicamente de formas em bastonetes curtos;

2- Formas Gram-positiva, confirmado pela coloração roxa no Teste de Gram;

3- Formas não esporuladas e não motoras;

4- Colônias incubadas em placas anaerobicamente são geralmente circulares, convexas ou em forma de lentes, esbranquiçadas, opacas, com superfície lisa;

5- Após a transferência para caldo MRS em tubos de ensaio, e incubadas anaerobicamente a 37°C, as colônias em caldos não cresceram na superfície, com bom crescimento, turbidez e precipitado floculento em forma de cone.

Um teste de comparação foi realizado entre a amostra das fezes e culturas puras de bifidobactérias adicionadas em leite. O meio de Petuely's foi utilizado seguindo o mesmo procedimento descrito por GIBSON *et al.* (1995), conforme o item 4.2.2.4 (A). As placas foram incubadas a 37°C por 3 dias em condições de anaerobiose e aerobiose.

1- Aerobiose: não foi observado nenhum crescimento de bifidobactérias nas placas inoculadas com leite contendo a cultura pura. Nas placas inoculadas com amostra de fezes dos hamsters observou-se um crescimento de colônias miúdas, com alos ao redor, apenas na placa de menor diluição. Este tipo de colônia, não característica das bifidobactérias, pode ser decorrente de algum tipo de contaminação durante o procedimento da análise.

2- As colônias apresentaram bom crescimento em ambas as amostras, sendo muito parecidas em formato, tamanho e cor, conforme o tipo de colônia típica de bifidobactérias já descritas por BUCHAMM & GIBBONS (1975).

Lâminas para a visualização em microscópio eletrônico das colônias das amostras de fezes e da cultura pura de bifidobactérias foram preparadas e estão retratadas nas Figuras 13 e 14.

As fotos foram tiradas no Laboratório de Microestrutura do Departamento de Nutrição da FEA. Como pode-se observar, visualmente, os organismos das colônias provenientes das placas onde foram inoculadas as fezes dos hamsters são muito parecidos com os da colônia pura de bifidobactérias. Este se torna mais um fator de confirmação na verificação e identificação das bifidobactérias presentes nas fezes dos animais.

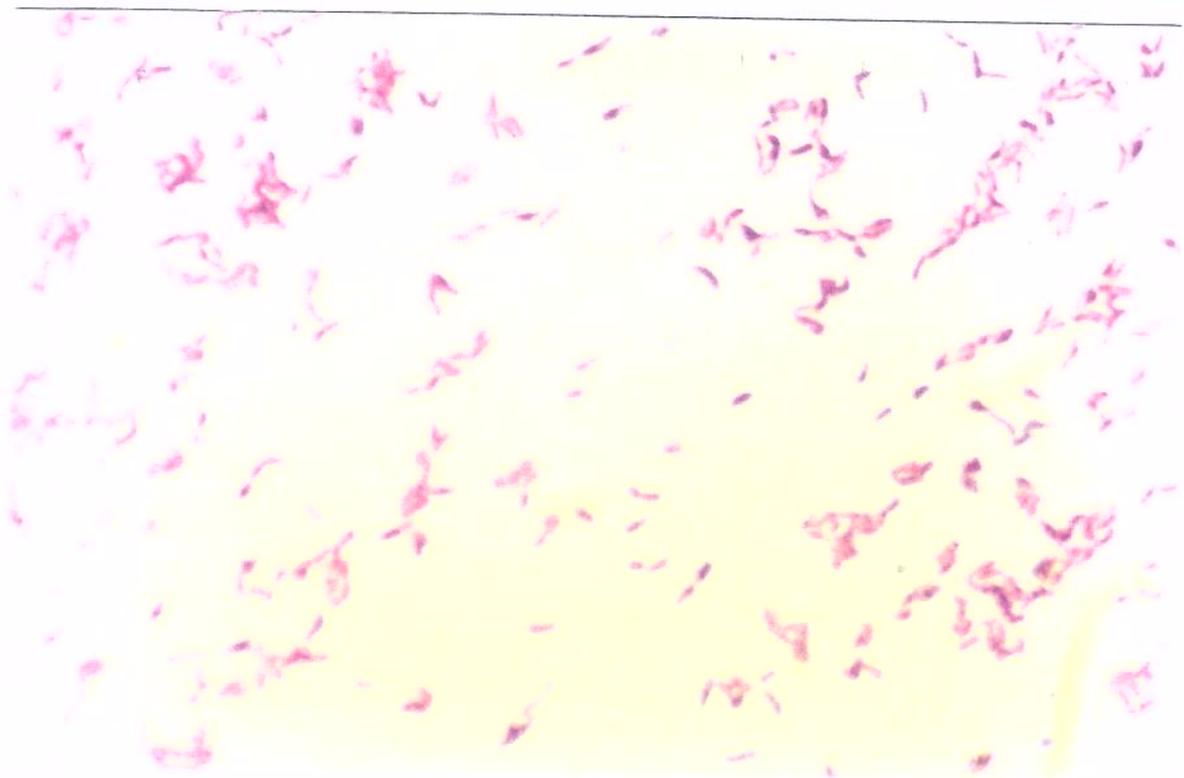


FIGURA 13. Bifidobactérias das Fezes de Hamsters
Objetiva 100 / tempo de exposição 1/8

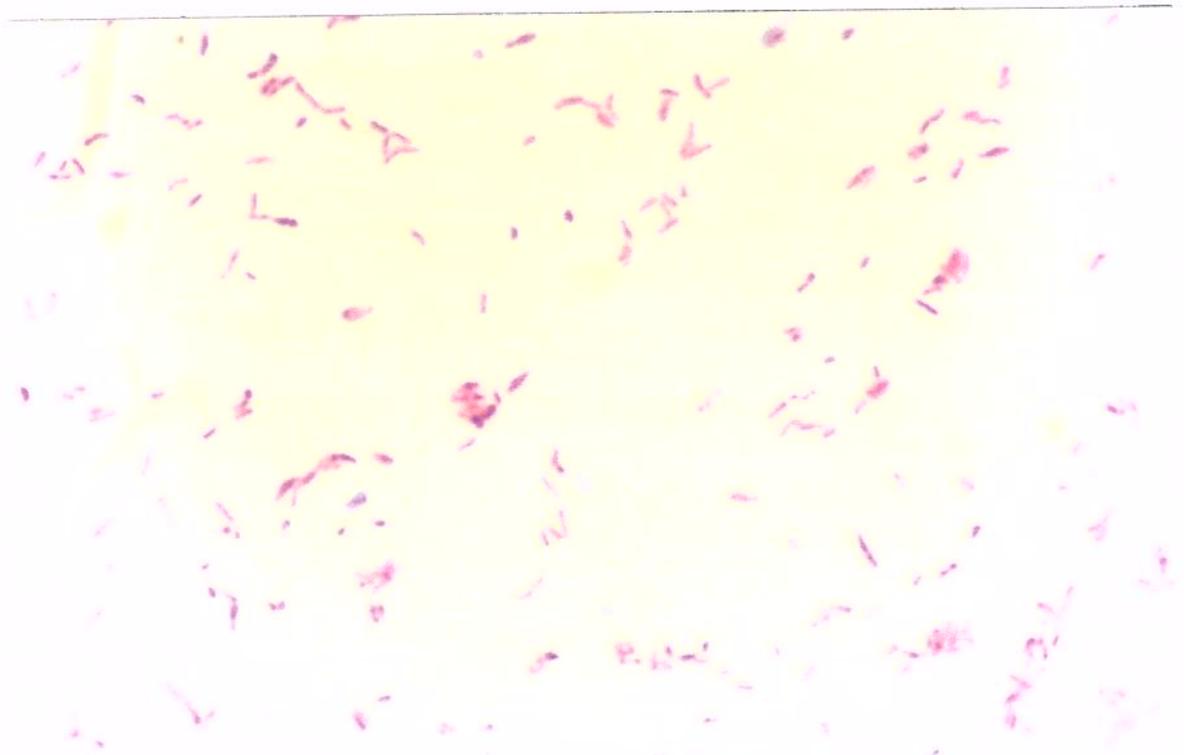


FIGURA 14. Bifidobacterium lactis patente Bb-12 Christian Hansen
Objetiva 100 / tempo de exposição 1/15

5.5. Efeito do Tratamento Térmico e Estocagem sobre os Frutooligossacarídeos

As formulações utilizadas para esta análise foram as formulações 1, 2, 3, 4, 5, e 6, processadas de acordo com o delineamento experimental original.

Os resultados da quantificação dos frutooligossacarídeos através da análise de cromatografia líquida após o processamento dos sucos estão descritos na Tabela 43.

TABELA 43. Estabilidade de frutooligossacarídeos após a pasteurização e estocagem

Formulação	FOS Inicial (g/ml)	FOS após Pasteurização (g/ml)	Redução após Pasteurização	FOS após 3 meses de Estocagem (g/ml)	Redução após 3 meses de Estocagem
1	0,05	0,029	42%	0,0093	81,4%
2	0,05	0,021	58%	0,0067	86,6%
3	0,15	0,054	64%	0,062	58,6%
4	0,15	0,067	55,3%	0,065	56,6%
5	0,10	0,041	59%	0,043	57%
6	0,10	0,049	51%	0,047	53%

Observa-se que houve uma perda de FOS durante a pasteurização do suco, variando de 42% a 64%. O menor nível de redução, 42%, foi observado na formulação 1, que apresenta a concentração inicial de 0,05 g/ml de FOS, a concentração menor adicionada. Nas demais formulações, a redução de FOS durante a pasteurização se deu em um nível médio de 57,46%.

Após 3 meses de estocagem, a quantidade de FOS nos produtos se manteve constante nas formulações 3, 4, 5 e 6. Apenas as duas primeiras formulações 1 e 2, que foram adicionadas de FOS na menor concentração (0,05 g/ml), sofreram com o tempo um aumento na perda de FOS, passando de 42% e 58% para 81,4% e 86,6% respectivamente.

Segundo KOO (s. n. t.), a redução de FOS durante o processamento dos sucos pode ser devido a elevada temperatura à que foram submetidos durante a pasteurização, o que acarreta a hidrólise dos FOS em frutose.

Considera-se também o fato de que o pH do produto ficou entre 3,55 e 3,92, faixa inferior a faixa de estabilidade de 4,0 a 7,0 citada por YUN (1996) e KOO (s. n. t.).

A transformação de FOS em frutose foi verificada através do aumento considerável na concentração de frutose após o processamento, observado nos resultados da cromatografia líquida. Uma caracterização dos açúcares presentes no suco misto *in natura* e em solução pura de FOS foi realizada para posterior comparação, onde foram determinadas a concentração natural de frutose, glicose e sacarose descritas na Tabela 44. O valores apresentados são médias das análises realizadas em duplicata.

TABELA 44. Quantificação de açúcares (g/100ml) no suco misto *in natura* e FOS.

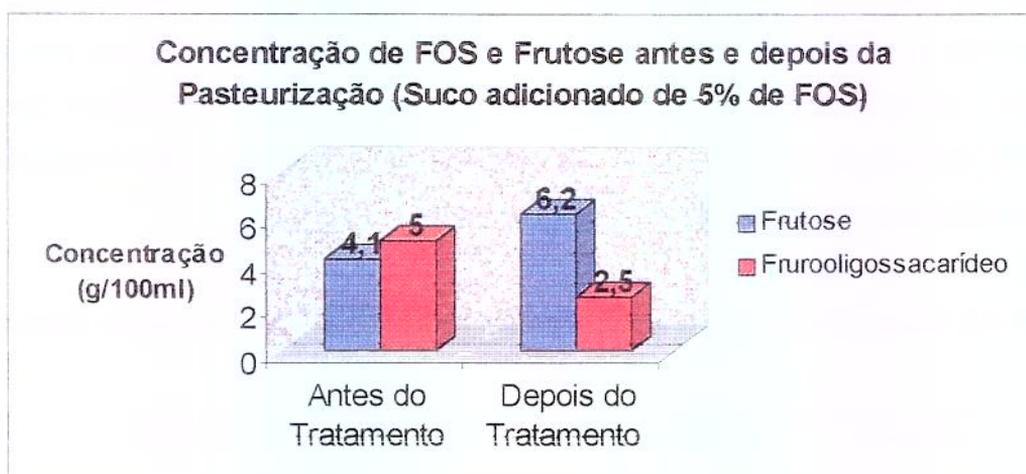
Açúcar	Suco misto <i>in natura</i>	Frutooligossacarídeo
Frutose	1,22	2,94
Glicose	1,64	-
Sacarose	3,24	-

Como pode-se observar na Tabela 44, o suco misto de cenoura e laranja e o próprio frutooligossacarídeo usado como ingrediente nas formulações realizadas, possuem uma quantidade natural de frutose, 1,22 e 2,94 g/100ml respectivamente.

Para melhor comparação da quantidade de frutose antes e depois do processamento, considera-se a soma da concentração de frutose no suco *in natura* e no FOS como inicial, sendo de 4,16 g/100ml.

A redução na concentração de FOS acompanhada do aumento na concentração de frutose nas formulações analisadas por cromatografia líquida estão representadas pelas Figuras 15, 16 e 17. Elas apresentam a concentração média de FOS e frutose antes e depois da pasteurização para os sucos adicionados de 5%, 10% e 15%, respectivamente.

FIGURA 15. Hidrólise de FOS em frutose no suco adicionado de 5% de FOS



A Figura 15 apresenta uma redução média de 2,5g/100ml na concentração de FOS e um aumento de 2,1g/100ml na concentração de frutose inicial.

Concentração de Frutose e FOS antes e depois da Pasteurização (Suco adicionado de 10% de FOS)

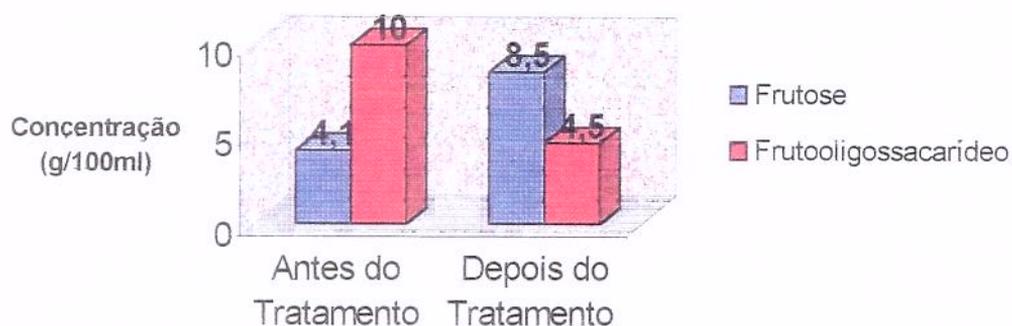


FIGURA 16. Hidrólise de FOS em frutose no suco adicionado de 10% de FOS.

A Figura 16 apresenta um valor médio de 5,5g/100ml na redução de FOS e um aumento de 4,4g/100ml na concentração de frutose inicial.

Concentração de Frutose e FOS antes e depois da Pasteurização (Suco adicionado com 15% de FOS)

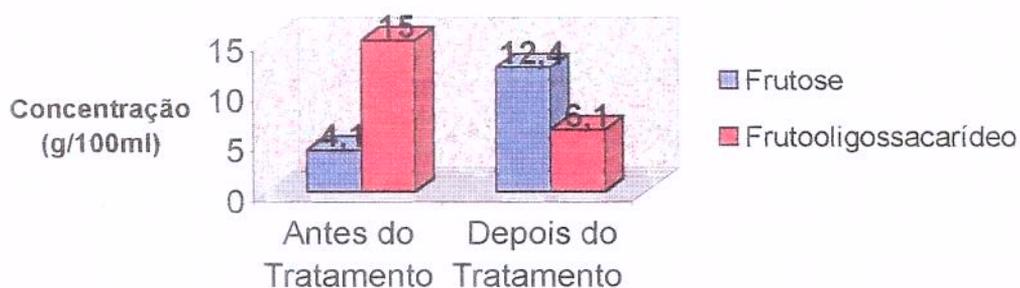


FIGURA 17. Hidrólise de FOS em frutose no suco adicionado de 15% de FOS.

A Figura 17 apresenta a redução média de 8,9g/100ml na concentração de FOS e um aumento de 8,3g/100ml na concentração de frutose inicial.

6. CONCLUSÃO

1. Houve redução de 31% no nível de colesterol no sangue dos animais pelo efeito da pectina adicionada num nível de 3% no suco misto. Houve redução de 25% no nível de colesterol dos animais pelo efeito da adição de 15% de frutooligossacarídeo ao suco misto.

2. Houve um aumento de 10 vezes no número de bifidobactérias no intestino dos animais pelo efeito de 15% de frutooligossacarídeo no produto. Ineditamente, foi constatado que o aumento no número de bifidobactérias também foi responsável pela redução no nível de colesterol dos animais.

3. Provavelmente, a adição de pectina prejudicou o crescimento de bifidobactérias, uma vez que o grupo de animais tratado com ambos os ingredientes não mostrou aumento no número de bifidobactérias na contagem microbiológica.

4. Os produtos com menores níveis de concentração de pectina obtiveram boa aceitação por parte dos provadores, com notas entre 6,5 e 7,5.

5. A pectina, como ingrediente funcional na redução de colesterol, se mostrou satisfatória com redução relativamente alta. Porém, sensorialmente, as formulações com a mesma concentração de pectina não foram consideradas de boa aceitação pelos provadores. Isto ocorreu principalmente por acarretar no suco alta consistência e sabor estranho.

6. O frutooligossacarídeo não apresentou nenhum efeito negativo na avaliação sensorial do suco misto.

7. Na concentração inicial entre 0,10 e 0,15 g/ml de frutooligossacarídeo no suco misto, não ocorreu a hidrólise em frutose pelo efeito do tempo e pH durante a estocagem.

8. Houve hidrólise significativa do frutooligossacarídeo em frutose (cerca de 50%) pelo efeito do tratamento térmico.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SECÃO CIRCULANT

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEGRET, P. L. Del mundo de los alimentos funcionales- Fructooligosacaridos. **Alimentaria**, p. 21-23, mayo, 1996.
- AMERICAN INSTITUTE OF NUTRITION. Report of the American Institute of Nutrition hoc Commitee on Standards For Nutritional Studies. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 107, n. 7, p. 1340-1348, 1977.
- AMERICAN INSTITUTE OF NUTRITION. AD HOC COMMITTEE ON STANDARDAS FOR NUTRITION STUDIES. Second report. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 110, p. 1726, 1980.
- ANASTASAKIS, M.; LINDAMOOD, J. B.; CHIISM, G. N.; HANSEN, P. M. T. Enzimatic hydrolisis of carrot for extration of a cloud stable juice. **Food Hydrocolloids**, v. 1, n. 3, p. 247-261, 1987.
- ANDERSON, J. W.; JONES, A. E.; RIDDELL-MASON, S. Ten Different Dietary Fibers Have Significantly Different Effects on Serum and Liver Lipids of Cholesterol-Fed Rats. **Journal of Nutrition**, v. 124, p. 78-83, 1994.
- AOAC. **Official methods of analysis of the AOAC International**. 16 ed. Arlington: ed. Ig W. Horwitz, 1995.
- BAKER, R. A. Potential Dietary Benefits of Citrus Pectin and Fiber. **Food Technology**, Chicago, v.48, n. 11, p. 133-136, 138, 139, nov, 1994.
- BASU, T. K.; OORAIKUL, B.; GARG, M. L. Effects of dietary pectin on the hepatic activities of hydroxymethyl glutaryl CoA reductase and acyl CoA cholesterol acyltransferase in cholesterol supplemented mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Alberta, v. 4, n. 8., p. 472-475, aug, 1993.

- BEZERRA, R. M. N. **Branqueamento e congelamento de cenoura c.v. Brasília: Características químicas, físicas e sensoriais.** Campinas, 1990. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- BLENFORD, D. Prescribing dietary medicine. **Food Ingredients and Analysis International**, v. 17, n. 5, p.21-24, 26-27, 1995.
- BLOCK, G.; LANGSETH, L. Antioxidant vitamins and disease prevention. **Food Technology**, Chicago, v. 48, n.7, p. 80-84, july, 1994.
- BOUNIK, Y.; FLOURIE, B.; ANDRIEUX, C.; BISETTI, N.; BRIET, F.; RAMBAUD, J-C. Effects of *Bifidobacterium* sp fermented milk ingested with or without inulin on colonic bifidobacteria and enzymatic activities healthy humans. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 50, p. 269-273, 1996.
- BUCHAMM, R. E.; GIBBONS, N. E. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.** 8 ed. Baltimore: The Willians & Wilkins Company, 1975.
- BUDDINGTON, R. K.; WILLIAMS, C. H.; CHEN, S.; WITHERLY, S. A. Dietary supplement of neosugar alters the fecal flora and decreases activities of some reductive enzymes in human subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 63, p. 709-716, 1996.
- BUSLIG, B. S. Oranges. In: ESKIN, N. A. M. **Quality and preservation of fruits**, CRC Press, 1991.
- BYRNE, M. Pump it Up! Fortified Future for Functional Foods. **Food Engineering International**, v.22, n. 5, p. 42-46, 48, oct., 1997.

- CÂNDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. **Alimentos para Fins Especiais: Dietéticos**. São Paulo: Livraria Varela Ltda, 1996. 411p.
- CERDA, J. J. Pectin in Health and Disease. **HortScience**, v. 25, n.12, p. 1485-1486, dec., 1990.
- CHITARRA, M. I. F. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia e manuseio**. ESAL/FAEPE, capítulo 8: p. 235-293, 1990.
- CORREA, N. R. S. **Processamento de suco de laranja pasteurizado em garrafas de polietileno tereftalato (PET)**. Campinas, 1998. p. 93. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- COUSSEMENT, P. Pre- and symbiotics with inulin and oligofructose. **Food Technology Europe**, v. 2, n. 4, p. 102-104, dec., 1995.
- CRITTENDEN, R. G.; PLAYNE, M. J. Production, properties and applications of food-grade oligosacharides. **Trends in Food Science & Technology**, v. 7, n.11, p.353-361, nov., 1996.
- DECIO, P.; GHERARDI, S. Freshly squeezed orange juice. **Confructa Studies**, v. 36, n. (5/6): p. 162-167, 1992.
- DJOUZI, Z.; ANDRIE, C. Compared effects of three oligossacharides on metabolism of intestinal micoflora in rats inoculated with a human faecal flora. **British Journal of Nutrition**, v. 51, p. 1-5, 1997.
- DOWNER, A. H. Functional Foods. **Food Australia**, North Sydney, v.46, n.9, p.414-415, set., 1994.

- DUTHIE, G. G.; BROWN, K.M. **Reducing the risk of cardiovascular disease**. In: GOLDBERG, I. **Functional Foods: Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals**. New York: Chapman & Hall, 1994. Capítulo 2: p.19-38.
- DUXBURY, D. D. Fiber: form follows function. Right fiber mix provide functionality while enriching healthy foods. **Food Processing**, v.54, n.3, p.44-54, mar., 1993.
- ESKIN, N. A. M. In: Quality and preservation of vegetables; **CRC Press**, Inc. 1989, USA
- FERNANDEZ, M. L.; SUN, D. M.; TOSCA, M. A.; MCNAMARA, D. J. Citrus pectin and cholesterol interact to regulate hepatic cholesterol homeostasis and lipoprotein metabolism: A dose response study in guinea pigs. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 59, n.4, p. 869-878, apr., 1994.
- FOX, F. Sweet success with oligosacharides. **Food Ingredients and Analysis International**, v.19, n.1, p. 21-22, jan/feb., 1998.
- FRANÇA, M. S. J. Coração. Conheça esta Máquina. **Revista Época**, São Paulo, 15 jun. 1998. N 4, p. 56-61.
- FREITAS, S. M. L. **Utilização de alginato de sódio em texturizados de suco misto de laranja e cenoura de valor calórico reduzido**. Campinas, 1999. p. 102. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- FRIAS, A. C. D. **Efeitos da goma guar (*Cyamopsis tetragonoloba*) sobre a ingestão de alimentos, lipidemia e glicemia em ratos normais e diabéticos**. Campinas, 1996. p. 134. Tese (Doutor em Ciência da Nutrição)

– Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

FUNCTIONAL the technical issues. **Food Manufacture**, v. 70, n.4, p. 30-32, 52, apr., 1995.

GALLAHER, D. D.; HASSEL, C. A.; LEE, K.; GALLAHER, C. M. Viscosity and Fermentability as Attributes of Dietary Fiber Responsible for the Hypocholesterolemic Effect in Hamsters. **Journal of Nutrition**, v. 123, p. 244-252, 1993.

GIBSON, G. R.; BEATTY, E. R.; WANG, X.; CUMMINGS, J. H. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. **Gastroenterology**, v. 108, p. 975-982, 1995.

GIBSON, G. R.; WILLS, C. L.; LOO, J. V. Non-digestible oligosacharides and bifidobacteria implications for health. **International Sugar Journal**, v. 96, n. 1150, p. 381-387, 1994.

GODOY, H. T. **Mudanças na composição de carotenóides durante o processamento térmico e estocagem de manga (mangifera indica) e mamão (cenica papaya)**. Campinas, 1985. p. 111. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

GOLDBERG, I. Introduction. In: GOLDBERG, I. **Functional Foods: Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals**. New York: Chapman & Hall, 1994. Capítulo 1: p.3-16.

- GORDON, D. T. **Total Dietary Fiber and Mineral Absorption**. In: KRITCHEVSKY, D.; BONFIELD, C.; ANDERSON, J. W. **Dietary Fiber**. Chemistry, Physiology, and Health Effects: New York. Plenum Press, 1990. Capítulo 7: p.105-128.
- IDAKA, H.; EIDA, T.; TAKIZAKA, T.; TOKANAGA, T.; TASHIRO, Y. Effects of fructooligosaccharides on intestine flora and human health. **Bifidobacteria Microflora**, v. 5, p. 37-50, 1986.
- HUGHSON, L. Nutraceuticals: foods with a future. **South African food & Beverage Manufacture Review**, Johannesburg, v.22, n.2, p.21-23, abr/maio, 1995. *Apud: Alimentos para Fins Especiais: Dietéticos*. São Paulo: Livraria Varela Ltda, 1996. 411p.
- JUDD, P. A.; TRUSWELL, A. S. Comparison of the effects of high- and low-methoxyl pectins on blood and faecal lipids in man. **British Journal of Nutrition**, London, v.48, n.3, p.451-459, nov., 1982.
- JUDD, P. A.; TRUSWELL, A. S. The hypocholesterolemic effects of pectins in rats. **British Journal of Nutrition**, London, v. 53, n.3, p.409-425, maio, 1985.
- KAPICA, C. A Primer on Fiber. Fiber plays important role in healthy diets. **Food Processing**, v.54, n.3, p. 59,61, mar., 1993.
- KAY, R. M.; TRUSWELL, A. S. Effect of citrus pectin on blood lipids and fecal steroid excretion in man. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 30, p. 171-175, feb., 1977.
- LOO, J. V.; COUSSMENT, P.; LEENHEER, L. D.; HOEBREGS, H. & SMITS, G. On the Presence of Inulin and Oligofructose as Natural Ingredients in the Western Diet. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, n. 35, v. 6, p. 525-552, 1995.

- LOO, J. V.; CUMMINGS, J.; DELZENNE, N.; ENGLYST, H.; FRANCK, A.; HOPKINS, M.; KOK, N.; MACFARLANE, G.; NEWTON, D.; QUIGLEY, M.; ROBERFROID, M.; VLIET, T.; HEUVEL, E. Functional food properties of non-digestible oligosacharides: a consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII-CT94-1095). **British Journal of Nutrition**, v. 81, p. 1-12, jan., 1999.
- MARCHETTI, G. Inulina e Fruttani. **Industrie Alimentari**, Pinerolo, v.32, n.319, p.945-949, out., 1993.
- MITSUOKA, T.; HIDAKA, H.; ELIDA, T. Effect of fruto-oligosacharides on intestinal micoflora. **Die Nahrung**, v. 31, p. 426-436, 1987. *Apud*: **British Journal of Nutrition**, v. 81, p. 1-12, jan., 1999.
- MIZOTA, T. Functional and Nutritional Foods Containing Bifidogenic Factors. **Bulletin of the International Dairy Federation**, N 313, p. 31-35, 1996.
- NAKANO, H. Recent Japanese Development in the Enzymatic Production and Application of Oligosacharides. **Japan International Cooperation Agency**, s.n.t., s.d.
- NORMAS Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. São Paulo: 2. ed., 1976. 371 p.
- OLIVEIRA, I. M. A. **Produção e caracterização da β -frutoranosidase de *Aureobasidium* sp e sua aplicação na produção de frutooligosacrídeos**. Campinas, 1997. p. 138. Tese (Doutor em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- PA CONSULTING GROUP, 1990, London, Functional Foods: a new global added value market? In: GOLDBERG, I. **Functional Foods: Designer Foods**,

Pharmafoods, Nutraceuticals. New York: Chapman & Hall, 1994. Capítulo 1: p.3-16.

PLAYNE, M. J. & CITTENDEN, R. Commercially available oligosaccharides. **Bulletin of the IDF 313.**

PZSCZOLA, D.E. Highlights of the nutraceuticals initiative: a proposal for economic and regulatory reform. **Food Technology**, Chicago, v.46, n.4, p.77-79, abr., 1992.

QUINTEROS, E. T. T. **Processamento e estabilidade de néctares de acerola e cenoura.** Campinas, 1995. p. 96. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

REISER, S. Metabolic Effects of Dietary Pectins Related to Human Health. **Food Technology**, Chicago, v. 41, n. 2, p. 91-99, feb., 1987.

SALUNHKE, D. K.; BOLIN, N. R. Storage, processing and nutritional quality of fruit and vegetables. In: **Processing fruit and vegetable.** 2 ed. Florida: Editore CRC Press, 1991. Vol. 2.

SIMS, C. A.; BALABAN, M. O.; MATTHEWS, R. F. Optimization of carrot juice color and cloud stability. **Journal of Food Science**, v. 41, p. 1245-1246, 1976.

SINGH R. B *et al.* Effect of antioxidant-rich foods on plasma ascorbic acid, cardiac enzyme, and lipid peroxide levels in patients hospitalized with acute myocardial infarction. **Journal of American Dietetic Association**, Chicago, v. 95, n. 7, p. 775-780, july, 1995.

- SLOAN, E. A. Prevents Disease! Tastes Great! **Food Technology**, Chicago, v.48, n.8, p. 96,98, aug., 1994.
- SPIEGEL, J. E.; ROSE, R.; KARABELL, P.; FRANKOS, V. H.; SCHMIDT, D. F. Safety and Benefits of Fructooligosaccharides as Food Ingredients. **Food Technology**, Chicago, v.48, n.1, p. 85-89, jan., 1994.
- STARK, A.; MADDAR, Z. **Dietary Fiber**. In: GOLDBERG, I. **Functional Foods: Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals**. New York: Chapman & Hall, 1994. Capítulo 9: p.183-201.
- STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory Evaluation Pratics**. San Diego: 2. ed. Academic Press, Inc., 1993. 338 p.
- TOMATSU, H. Health Effects of Oligosaccharides. **Food Technology**, Chicago, v.48, n.10, p. 61-65, oct., 1994.
- TRAUTWEIN, E. A.; KUNATH-RAU, A.; ERBERSDOBLER, H. F. Effect of different varieties of pectin and guar gum on plasma, hepatic and biliary lipids and cholesterol gallstone formation in hamsters fed on high-cholesterol diets. **British Journal of Nutrition**, London, v. 79, n. 5, p. 463-471, 1998.
- TURNER, A. Functional Foods and the law. **Food Manufacture**, London, v.70, n.4, p.35-36, abr., 1995.
- WANG, J., SPORNS, P. & LOW, N. H. Analysis of Food Oligosaccharides Using MALDI-MS: Quantification of Fructooligosaccharides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 47, p. 1549-1557, 1999.
- YUN, J. W. Fructooligosaccharides - Occurrence, preparation and application. **Enzyme and Microbial Technology**, n. 19, p. 107-117, 1996.