

CAPÍTULO III

SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS EM SUCOS DE ABACAXI OBTIDAS POR MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

1. INTRODUÇÃO

Os sucos e néctares de frutas apresentam em sua composição várias substâncias que conferem características especiais de sabor e aroma. As frutas tropicais tem sido amplamente pesquisadas quanto às substâncias voláteis responsáveis por essas características únicas.

Equipamentos cada vez mais avançados e sensíveis na detecção, identificação e quantificação de substâncias voláteis têm sido desenvolvidos e aperfeiçoados. Associada utilização desses equipamentos, técnicas de extração vêm sendo aprimoradas, para que minimizem ou mesmo suprimam etapas nas quais essas substâncias possam ser perdidas ou sofrerem transformações tais como a formação de artefatos químicos.

Um dos métodos de extração (adsorção) de voláteis ainda pouco pesquisado na área de alimentos, é a Microextração em Fase Sólida (MEFS), sendo considerado extremamente rápido e prático no preparo de amostras a serem analisadas por CG/EM. A MEFS dispensa a utilização de solventes tendo como princípio a adsorção das substâncias voláteis em microfibras poliméricas a baixas temperaturas.

A literatura consultada não reporta trabalhos que utilizem a MEFS para voláteis de sucos de abacaxi quer sejam eles integrais, concentrados, hidrolisados ou clarificados.

O objetivo deste capítulo foi identificar por CG/EM as substâncias voláteis extraídas por MEFS, em sucos de abacaxi da variedade Pérola, integral pasteurizado, hidrolisado e nos sucos permeados obtidos da clarificação em sistemas membranas tubulares de polietersulfona

(PES) e fluoreto de polivinilideno (PVdF) e planas de polissulfona (PS) de ultrafiltração (UF) e microfiltração (MF) com tamanhos de poro de 30-80, 50 e 100KDa e 0,1, 0,3 e 0,45 μ , respectivamente.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Formação de Substâncias Voláteis nos Vegetais

O sabor e o aroma (*flavor*), das matérias-primas de origem vegetal (frutas e hortaliças), é conferido pelas substâncias voláteis sintetizadas durante sua maturação. Dentre elas, os ésteres, álcoois, aldeídos, lactonas, terpenos e compostos sulfurados são desenvolvidos a partir de precursores como as proteínas, carboidratos, lipídios e vitaminas (VENDRAMINI, 1997). As proteínas apresentam-se em baixas concentrações nas frutas e outros vegetais, não sendo considerado seu valor nutritivo, porém, seus aminoácidos participam na formação dos pigmentos e nas substâncias responsáveis pelo sabor e o aroma. O aminoácido valina, por exemplo, pode ser convertido a ésteres (ESKIN, 1990). Ácidos graxos insaturados (linolêico e linolênico) na forma de triglicerídios, fosfolipídios ou lipoproteínas estão presentes nas paredes celulares e também levam à formação de compostos voláteis responsáveis pelo *flavour*. Os ésteres seriam a classe de substâncias voláteis mais importantes, quantitativa e qualitativamente, no que diz respeito a composição de um determinado aroma (OLIAS, 1995).

Como fatores externos que também influenciam na formação do aroma das frutas durante o amadurecimento, pode-se citar a natureza do solo, fertilização, irrigação e o clima, entre outros. Quanto aos fatores intrínsecos, a cultivar, o metabolismo e a respiração do vegetal.

2.2. Perdas de Voláteis no Processamento

Não foram encontrados trabalhos sobre a perda de voláteis responsáveis pelo *flavour*, na obtenção de sucos de abacaxi clarificados por processos com membranas, Porém, nas referências pertinentes a essas perdas, em sucos de frutas processados termicamente e/ou através de processos combinados, têm sido reportados.

KUO *et al.*, (1985) investigaram a perda de substâncias voláteis após a centrifugação e pasteurização de suco de maracujá (*Passiflora edulis* Sims.). Identificaram, por CG/EM, 80 substâncias voláteis sendo que destas, 35% foram perdidas na pasteurização enquanto que na centrifugação essa perda foi menos expressiva.

GHERARDI *et al.*, (1989) avaliaram a influência do processo combinado de ultrafiltração (UF) seguido de concentração por osmose reversa (OR), na composição aromática de purês de pera e de pêssego. Embora não tenham descrito o sistema de membranas utilizado, entre outras informações, os resultados reportados indicaram que perdas substanciais de voláteis não foram observadas.

HERNANDEZ *et al.*, (1992) avaliaram entre outros parâmetros, perdas em voláteis em suco de laranja clarificados por UF, em sistema com membranas de polissulfona (PS) de fibra oca de 500KDa. Algumas substâncias voláteis como hidrocarbonetos ficaram retidas no retentado ou concentrado enquanto que os álcoois, ésteres e aldeídos permaneceram no permeado.

YEN *et al.*, (1992) avaliaram mudanças na composição aromática, pelo método de destilação de Likens-Nickerson e por CG/EM, das substâncias voláteis responsáveis pelo *flavour* do purê de goiaba, após processamento a 85-88°C e estocagem a -10 e -20° C, por período superior a 4 meses. O purê de goiaba pasteurizado mostrou aumento em

aldeídos e hidrocarbonetos havendo decréscimo em ésteres, quando comparados com o purê não pasteurizado. Houve pequena diminuição nos álcoois e hidrocarbonetos do purê pasteurizado estocado a -20°C /4 meses. Notável aumento em etanol, n-hexanal, ácido decanóico, ácido dodecanóico e acetato de etila foi observado no purê de goiaba pasteurizado quando estocado entre 0 e -10°C por 2 e 4 meses, respectivamente.

JOHNSON *et al.*, (1996) avaliaram perdas de substâncias voláteis no suco de laranja durante a ultrafiltração, em membranas de polissulfona de 500KDa, e posterior concentração em evaporador TASTE (*Thermally Accelerated Short Time Evaporator*), através da análise por CG, tendo como técnica de extração dos voláteis o *headspace* dinâmico. Detectaram a presença predominante de álcoois e ésteres no permeado. Os terpenos e aldeídos ficaram retidos no retentado, bem como algumas frações de compostos responsáveis pelo *flavour* foram perdidas no processo de UF. O isobutanol e o 2-metil butanol foram as únicas substâncias preservadas integralmente no suco permeado em membrana UF, havendo aumento na concentração de aldeídos não polares (decanal) e terpenos (d-limoneno e valenceno) no retentado em 98%.

A literatura vem reportando vários trabalhos sobre a formação, perdas e preservação de substâncias voláteis durante o armazenamento, quer seja sob atmosfera controlada (AC) ou modificada (AM), com a finalidade de desenvolver tecnologia adequada que melhor preserve a qualidade sensorial de frutas e hortaliças em geral.

MACKU e SHIBAMOTO (1991) avaliaram a formação das substâncias responsáveis pelo aroma de bananas durante seu estágio de maturação utilizando EDS seguida de CG/EM. Encontraram 5 alquilacetatos e 5 alquilbutiratos principais responsáveis pelo aroma característico do fruto. Os voláteis do aipo também foram investigados pela mesma técnica sendo encontrados 14 terpenos e 2 substâncias com anel aromático.

NARAIN & BORA (1992) avaliaram a perda de voláteis no maracujá amarelo após estocagem de 15 dias, a temperatura ambiente (29°C) utilizando a técnica de extração de *headspace* estático. Várias substâncias voláteis foram identificadas após o período de estocagem pós-colheita. Dentre eles, os butanoatos de etila e hexila, hexanoato de etila, acetato de etila, 2-heptanona, benzaldeído e 1-hexanol.

MATTHEIS *et al.*, (1992) analisaram as substâncias voláteis responsáveis pelo aroma em cerejas (*Prunus avium* Cv. Bing) durante o estágio de maturação utilizando *headspace* dinâmico e posterior análise por CG/EM. Foram identificadas 31 substâncias: aldeídos, álcoois, ésteres, uma cetona, um ácido (acético) e um terpeno (limoneno). Foi também detectada a presença de etanol em altas concentrações, porém variaram de acordo com a data de colheita dos frutos. Algumas substâncias voláteis estavam presentes em todas as amostras enquanto que, de acordo com o grau de maturação, outras foram identificadas. Alguns ésteres foram detectados somente durante o período de amadurecimento seguido da colheita no estado de maturidade comercial.

CHYAU *et al.*, (1992) avaliaram teor de compostos, durante o amadurecimento de goiabas. Os teores de pectina total, açúcares totais, açúcares redutores e acidez obviamente reduzem do estágio de amadurecimento para o estágio maduro, mas a relação Brix/acidez (ratio) aumenta inversamente. As substâncias voláteis do fruto maduro e em

amadurecimento foram identificadas por CG, CG/EM e CG/FT-IR. 34 substâncias voláteis foram identificadas, dentre as quais 17 foram também identificadas como autênticas do fruto. Na distribuição quantitativa, foram determinados um total de 134mg/Kg de voláteis na fruta em amadurecimento e 93mg/Kg naquelas frutas maduras. Os maiores constituintes nos frutos em amadurecimento foram 1,8 cineole, (E)-2-hexenal e (E)-3-hexenal. O hexanoato de etila e o (Z)-3-hexenilacetato foram os mais abundantes no fruto maduro.

SHAMAILA *et al.*, (1993) analisaram a composição de voláteis em morangos armazenados a 1°C/10 dias, embalados sob atmosfera modificada (AM) contendo 11% de CO₂; 11% de O₂ + 78% de N₂ ou 100% de CO₂. Concluíram que não houve diferença entre os 2 tratamentos porém, que os atributos de qualidade foram considerados baixos.

DEVER *et al.*, (1992) avaliaram os efeitos após a colheita, durante a maturação e em frutos maduros, quanto a sua composição química e sensorial nas variedades de maçã *McIntosh* e *Spartan*. O suco foi extraído de frutos colhidos a intervalos de 7 semanas, começando entre a 3ª a 4ª semanas, antes da colheita comercial e, em frutos estocados sob aeração a 1°C. A concentração interna de etileno e o índice de amido foram usados como índices de maturidade. Análises dos principais componentes do suco: pH, acidez titulável, ácidos orgânicos, sólidos solúveis, açúcares, fenol, turbidez, cor (*Hunterlab*) mostraram efeitos distintos de maturação sobre as características dos sucos extraídos de frutos imediatamente após a colheita e após o armazenamento refrigerado. O teste triangular mostrou diferenças de aroma e flavour em ambas as variedades estudadas sendo primeiro discernível quando o etileno foi primeiramente detectado (conc. interna de etileno > 0,14/litro) e a evidente hidrólise do amido (índice de amido 3,0 - 5,0 para a *McIntosh* e 1,5 - 3,0 para a *Spartan*), ou após 2-3 meses de armazenamento refrigerado.

O perfil sensorial do aroma frutoso, do aroma total, *flavor* da fruta pela boca, doçura e adstringência nos sucos mostrou aumento no sabor de fruta e doçura e decréscimo na adstringência de acordo com o tempo de maturação.

SUAREZ & DUQUE (1992) investigaram os níveis de constituintes voláteis durante a maturação de Lulo (*Solanum vestissimum* D.) extraídos por EDS seguida de CGAR e CG/EM. A maturação foi caracterizada por um aumento significativo na quantidade de ésteres, principalmente acetato de butila, butenoato de (E)-2-metila, acetato de 3-metilbutila, butenoato de 2- metil(E)-2-metilhexanoato de metila, acetato de (Z) hexenila e benzoato de metila. Um significativo aumento na concentração linalool e alfa-terpineol foi observado bem como um aumento moderado nas concentrações geraniol, hotrienol e nerol. O (Z)-3-hexenol somente aumentou significativamente após o quarto estágio de maturação. Em contraste, beta-mirceno, limoneno e terpinoleno mostraram um expressivo decréscimo em suas concentrações de acordo com o aumento da maturação. Hidrocarbonetos alifáticos detectados mostraram variações irregulares na sua concentração e os aldeídos aumentarem significativamente.

SHAW *et al.*, (1992) avaliaram laranjas das variedades *Hamlin* e *Valência* submetidas a condições severas de atmosfera controlada (AC) a 33 e 38°C/24 horas. O experimento tinha como variáveis: fluxo de ar e adição de nitrogênio e dióxido de carbono em containers fechados. Estudos em escala laboratorial mostraram um aumento máximo de 1,5 a 3,0 em acetaldeído e etanol e um máximo de 3 a 15 em 4 ésteres voláteis, enquanto que as 13 menores substâncias voláteis monitoradas não mostraram mudanças consistentes. O uso de sacos plásticos, sob vácuo, em frutos individualmente acondicionados forneceu resultados semelhantes, mostrando que os últimos podem ser alternativas aos gases inertes a fim de se criar condições de baixa concentração de

oxigênio. Em escala piloto laranjas abacaxi, sob baixa concentração de oxigênio a 33 graus, produziram frações de *flavor*, essência aquosa de laranja e essência oleosa de laranja, aumentando 2 vezes a concentração dos voláteis considerados importantes no *flavor* da laranja. Estes aumentos são comparáveis àqueles reportados, anteriormente, pelos autores, em frutos tratados sob condições similares de atmosfera controlada à temperatura ambiente.

MAWELE *et al.*, (1992) descreveram as substâncias voláteis que foram extraídas de morangos estocados a 1°C, sob atmosfera modificada (AM), em sacos plástico e injetados de dióxido de carbono misturado com ar ou gás, e identificadas por CG/EM.

2.3. Voláteis em Sucos de Abacaxi

As substâncias voláteis presentes no abacaxi são, na sua maioria, responsáveis pelo *flavor* da fruta e, normalmente estão presentes em quantidades diminutas, expressas em partes por milhão (ppm) e até mesmo em partes por bilhão (ppb). HULME (1971) citou a 2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona, como principal substância volátil, responsável pelo aroma intenso do abacaxi e encontrada na proporção de 1,2 mg/Kg de matéria fresca.

DÍAZ & RIVERA (1989) analisaram os voláteis do abacaxi das variedades Red Spanish e PR-1-67 híbrido de um cruzamento de Red Spanish x *Smooth Cayenne*, por CG/EM, utilizando como método a extração/destilação com hexano. Das 26 substâncias voláteis identificadas 16 eram ésteres, 9 hidrocarbonetos e uma furanona (2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona PM=128). Vários autores, definiram o aroma da 2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona diversamente como RODIN *et al.*, 1965 que encontrou um sabor de abacaxi queimado; HODGE *et al.*, em 1963 como sabor de caramelo; TONSBEEK *et*

al., (1968) a descreveu como um componente do aroma do bife. Foi identificada por BUCHI (1973) no morango.

TAKEOKA *et al.* (1989) analisaram os voláteis da coroa, da polpa e do abacaxi intacto por *headspace* dinâmico e EDS seguidas de análise por CG/EM. A coroa apresentou aldeídos e álcoois C6 enquanto que, na polpa e no fruto intacto, foram caracterizados pela presença de hidrocarbonetos, álcoois e compostos carbonílicos. Os principais componentes que mais contribuíram no aroma do abacaxi foram a 2,5 dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona; 2-metilbutanoato de metila; 2-metilbutanoato de etila; acetato de etila; hexanoato de etila; butanoato de etila; 2-metilpropanoato de etila; hexanoato de metila e butanoato de metila.

A 2,5 dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona também foi encontrada por WU *et al.*, (1991) quando tentavam isolar através da EDS seguida por CG/EM, as substâncias voláteis livres e aquelas ligadas à açúcares, responsáveis pelo aroma em suco de abacaxi. A enzima β -glicosidase foi utilizada para liberar as agliconas ligadas à glicose. Além da 2,5 dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona anteriormente identificada por HULME (1971), fenóis, lactonas, álcoois, ácidos e aldeídos foram identificados pela primeira vez.

Em estudos realizados por TAKEOKA *et al.* (1991), utilizando extração com pentano e destilação do solvente seguida de análise por CG/EM, identificaram 26 novas substâncias em essência de abacaxi encontrando substâncias sulfuradas como o 3-metiltio(E)-2-propenoato de metila; 3-metiltio(Z)-2-propenoato de metila; 3-metiltio(E)-2-propenoato de etila; 3-metiltio(Z)-2-propenoato de etila; 4-metiotio butanoato de metila; 4-metiltio butanoato de etila; trissulfato de dimetila.

UMANO *et al.*, (1992) identificaram 157 substâncias voláteis em abacaxis verdes e maduros, dentre os quais 50 foram identificados pela primeira vez, ambos por CG e

CG/EM. Como mais abundantes, foram identificados o acetato de etila e o diacetato de butano-2,3-diol. Os voláteis identificados no abacaxi verde foram 144 e 127 no abacaxi maduro, respectivamente. Os ésteres constituíram 80% desse total em ambos os casos. No abacaxi verde, o acetato de etila e o 3-(metiltio) propanoato de etila foram os mais abundantes. No abacaxi maduro, o acetato de etila e o diacetato de butano-2,3-diol foram os principais constituintes. Os diastereoisômeros do diacetato de butano-2,3-diol foram separados satisfatoriamente pela CG em coluna quiral.

Mais recentemente, PINO *et al.*, (1995) determinaram a composição em voláteis no abacaxi in satura e naquele parcialmente desidratado utilizando como técnica para sua extração a EDS e, a seguir analisando-os por CG/EM. Identificaram um total de 19 constituintes majoritários, entre eles: 14 ésteres; 1 acetal; 1 composto furânico; 1 terpênico; 1 sulfurado e 1 cetona. O decanoato de etila; butanoato de etila; 3-metiltiopropanoato de metila; 1-metoxi-1-etoxietano; dodecanoato de metila; octanoato de metila foram os mais abundantes. A 2,5-dimetil-4-metoxi-3(2H)-furanona responsável pelo aroma de abacaxi foi encontrada na concentração de 0,24g/Kg de fruta fresca, não tendo sido ela perdida no processo de extração EDS.

No Quadro 1, pode-se observar os teores de voláteis do *flavor* de abacaxi concentrado, analisados e identificados por CG (HULME, 1971).

Quadro 1. Teor de Substâncias Voláteis Presentes no Abacaxi

Substância	Teor (mg/Kg)
Acetoxiacetona	0,009 ^b
γ -butirolactona	0,024 ^b
γ -caprolactona	0,12 ^a
Chavicol (monoterpeno oxigenado)	0,27 ^a
2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona	1,2 ^a
Dimetil malonato	0,06 ^b
etil- β -acetoxihexanoato	0,006 ^b
etil- β -hidroxihexanoato	0,03 ^b
etil- β -metiltiopropionato	0,09 ^b
Metil- β -acetoxihexanoato	0,03 ^b
Metil- β -hidroxibutirato	0,006 ^b
Metil- β -hidroxihenanoato	0,021 ^b
Metil- β -metiltiopropionato	0,12 ^a
Metil-cis(4?)-octenoato	0,0009 ^b
γ -octalactona	0,3 ^b
δ -octalactona	0,3 ^b
álcool trans-tetrallidro-a,a,5-trimetil-5-vinilfurfuril	0,0009 ^b

Fonte: HULME, 1971 a = colhido no inverno b = colhido no verão

Segundo a Base de Dados “*Flavor Base*” – “Natural Occurrence of GRAS Chemicals in Products Report”, várias substâncias, de acordo com a descrição de seu odor, foram identificadas como responsáveis pelo sabor e aroma característicos do abacaxi. Conforme pode ser observado no Quadro 2, os ésteres são os mais abundantes, seguidos de algumas cetonas.

O crescente interesse na identificação de voláteis em frutas tropicais tem sido pesquisado e, PINO (1997) publicou uma revisão sobre estas substâncias nos frutos do Kiwi, da carambola e da manga, descrevendo também as técnicas utilizadas para a obtenção dos mesmos. Apesar do aumento em pesquisas envolvendo a identificação de

voláteis em frutas e sucos de frutas bem pouco trabalhos têm sido publicados em relação a enorme biodiversidade dos frutos.

Quadro 2. Substâncias Voláteis Identificadas no Abacaxi

Substância	Sabor e Aroma
Hexanoato de pentila; hexanoato de amila; caproato de amila	Odor frutal com notas de maçã, abacaxi e pera
Hexenoato de etila; Hexenoato de 3 etila	Frutal de abacaxi verde
Metiltiobutirato de etila; etil-4-(metiltio) butirato	Odor de abacaxi em aromas de frutas
Metiltiobutirato de etila; etil- 4-metiltiobutirato	Odor caramelado de abacaxi
Isobutirato de isopropila; isopropil2-metilpropionato	Odor forte de abacaxi e pera
Hexanoato de metila; caproato de metila	Odor etéreo frutal (abacaxi-maçã)
Isobutirato de metila; metil 2-metilpropanoato	Maçã-abacaxi-damasco-rum (odor e sabor)
Hexenoato de metila	Frutal, odor e sabor abacaxi
Metiltiobutirato de metila	Frutal, odor e sabor diluído de abacaxi
Metiltiopropionato de metila; metil3-metilpropionato	Odor diluído de abacaxi cozido
Metilvalerato de metila	Gosto doce frutal de abacaxi
Valerato de metila; pentanoato de metila	Odor e sabor de abacaxi-maçã
2,5-dimetil 4-hidroxifuranona: furanona do morango etil2-hidroxihexanoato	Odor e sabor de abacaxi - morango caramelizado
etil2-Indroxi3-metilbutanoato	Abacaxi maduro
	Idem acima

Fonte: Flavor Base – Natural Occurrence of GRAS Chemicals in Products Report,

Recentemente, QUERÓZ (1998) também publicou uma revisão sobre as técnicas analíticas para extração de voláteis.

2.4. Técnicas de Extração e Isolamento de Voláteis em Matérias-Primas e Produtos de Origem Vegetal

As técnicas de extração de voláteis responsáveis pelo aroma e sabor de sucos e polpas de frutas, vem sendo estudadas e aperfeiçoadas ao longo dos anos.

No Quadro 3, são citados os vários métodos para a extração de voláteis em diferentes tipos de matérias-primas, bem como algumas referências encontradas na literatura sobre a aplicação prática dos mesmos. Dentre eles tem-se: a extração líquido-líquido, a destilação, a extração destilação simultâneas (EDS) - Likens-Nickerson, *headspace* estático e dinâmico seguidas ou não por desorção térmica automática (DTA), extração com fluido supercrítico (EFSC), derivatização e mais recentemente a microextração em fase sólida (MEFS) que será abordada mais amplamente.

Quadro 3. Métodos de Extração de Voláteis

Métodos de Extração	Matérias-Primas Produtos	Referências
Líquido-Líquido	Morango	HIRVI & HONKANEN, 1982 LAWRENCE <i>et al.</i> (1984)
	essência de abacaxi	TAKEOKA <i>et al.</i> (1991)
	black currant	PIGGOT <i>et al.</i> (1993) KA W />KAMJ <i>et al.</i> (1993) MORALES <i>et al.</i> (1996) PETERSEN <i>et al.</i> e RODRÍGUEZ <i>et al.</i> (1998)
Destilação	laranja e cassis	MOSHONAS & SHAW (1987) e LATRASSE <i>et al.</i> (1982)
	Kiwi	TATSUKA <i>et al.</i> (1990)
	uva do mar e cajá	SHAW <i>et al.</i> e ALLEGRONI & BARBENI (1992) MISHARINA <i>et al.</i> (1994)
EDS Likens-Nickerson	mistura modelo	SCHULTZ <i>et al.</i> (1971)
	aroma de chá	CHITWOOD <i>et al.</i> (1983)
	bagas de sabugueiro	MÍKOVÁ <i>et al.</i> e NUNES <i>et al.</i> (1984)
	e grapefruit	
	Abacaxi	DÍAZ & RIVERA e TAKEOKA <i>et al.</i> (1989)
	damasco e melão	TAKEOKA <i>et al.</i> e WILLY & LEACH (1990)
	banana e abacaxi	MACKU & SHIBAMOTO e WU <i>et al.</i> (1991)
	goiaba; <i>Monstera</i>	YEN <i>et al.</i> , PEPPARD, MAWELE <i>et al.</i> e SHIOTA (1992)
	<i>deliciosa</i> ; morango e	
	banana	
	chá de rooibois;	KAWAKAMI, GÓMEZ <i>et al.</i> e RODRIGUEZ-AMAYA &
	damasco e ameixa;	DAMÁSIO (1993)
	mamão	
	Abacaxi	KAWAKMI <i>et al.</i> e PINO <i>et al.</i> (1995)
	aroma de chá	ESTEBAN <i>et al.</i> e MORALES <i>et al.</i> (1996)

EDS Likens-Nickerson	kiwi, carambola e manga Guanabana, chirimoya, atimoya e anon; goiaba	SHIMODA <i>et al.</i> e PINO (1997) PINO <i>et al</i> e ORTEGA <i>et al</i> e PETERSEN <i>et al.</i> (1998)
Headspace Estático		MURRAY (1977) SHINOHARA <i>et al</i> e PAIK & VENABLES (1991) SHAW <i>et al</i> (1993)
Headspace Dinâmico	Vegetais frescos suco de laranja Suco de laranja	
	Maracujá; suco de graviola Suco de maçã Suco de laranja fresco e processado; flores de kiwi	CHEN <i>et al.</i> (1982) e FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA (1983) POLL & FLINK (1984) NISPERO-CARRIEDO & SHAW e TATSUKA <i>et al</i> (1990)
	Maracujá amarelo; manga; pera asiática Framboesa; suco de uva Pawpaw Suco de laranja Acerola Chá Alimentos em geral Abacaxi	NARAIN & BORA; KOULIBALY <i>et al.</i> ; RIZZOLO <i>et al</i> ; TAKEOKA <i>et al.</i> E MATHEIS <i>et al.</i> (1992) SHAMAILA <i>et al</i> ; BOHNENSTEGEL <i>et al</i> e BLANCH <i>et al.</i> (1993) MCGRATH & KARAHADIAN (1994) JOHNSON <i>et al.</i> (1996) VENDRAMINI <i>et al</i> (1997) ESTEBAN <i>et al</i> (1993) GRIMM <i>et al.</i> (1997) SHAW <i>et al</i> (2000)
DTA		
EFSC	Cacau Folhas de goiabeira	PINO (1993) SAGRERO-NIEVES <i>et al.</i> (1994)
Derivatização	Suco de laranja Bebidas em geral	LUM <i>et al.</i> (1990) MYIAKE & SHIBAMOTO (1993)

2.4.1. Microextração em Fase Sólida (MEFS)

A MEFS baseia-se na partição dos compostos orgânicos entre a solução aquosa (matrizes líquidas) ou a fase de vapor (matrizes sólidas) através da adsorção em filmes poliméricos normalmente de polimetilsiloxano ou mesmo poliacrilato revestindo fibras de sílica fundida.

Os parâmetros que podem afetar a eficiência da extração são: o tempo de contato ou tempo de equilíbrio, no caso de extração direta (por imersão); a homogeneidade da mistura realizada por agitação da amostra, que promove equilíbrio mais rápido; a manutenção do pH com a adição na amostra de solução tampão e a concentração de sal, que podem melhorar a extração (PAWLISYN, 1997). O tempo de contato inadequado fará com que as substâncias voláteis não sejam adsorvidas pela microfibras. A temperatura pode promover a dissociação das substâncias a serem extraídas e conduzir à formação de artefatos (substâncias não existentes previamente).

A MEFS é uma técnica relativamente nova, tendo sido reportada pela primeira vez por BELARDI e PAWLISZYN, (1989) na análise de compostos ambientais em águas (efluentes). Constitui um método rápido de extração para a subsequente análise e identificação por CG/EM de substâncias orgânicas voláteis e semi-voláteis, sem a utilização de solventes ou necessidade de pré-concentração da amostra.

A MEFS independe do tipo e da forma física do alimento e, uma vez que pode ser realizada à temperatura ambiente, minimiza ou mesmo impede a formação de artefatos químicos. É uma técnica de equilíbrio e quantificação acurada e requer que as extrações sejam cuidadosamente controladas quanto ao tempo de contato, entre a amostra e a microfibras, entre outros. Por exemplo, 5 minutos foram suficientes para a adsorção do acetato de etila, o 2 metil propanol, o butirato de etila e o hexanol, em microfibras de polidimetilsiloxano (PDMS), na extração de voláteis de suco de laranja enquanto que em microfibras de poliacrilato os tempos de equilíbrio para as mesmas substâncias foram de 60, 60, 45 e 60 minutos, respectivamente (STEFFEN & PAWLISZYN, 1997).

A MEFS diferencia-se das outras técnicas de extração, tendo como vantagens adicionais serem desnecessárias todas as etapas convencionais de preparo. A amostra é

colocada diretamente em frasco que é vedado com septo de borracha e lacre de alumínio. Através da penetração da microseringa ocorre a liberação da microfibras polimérica que, em contato direto com o produto ou associado à técnica de *headspace* irá adsorver os voláteis recolhidos da fase de vapor da amostra. O tempo de contato com a microfibras adsorvente irá variar de acordo com as substâncias voláteis da amostra. A seguir os voláteis são injetados e desorvidos diretamente no CG/EM.

A MEFS pode também ser realizada por injeção da microfibras no espaço onde se encontram os voláteis (*headspace* gasoso) acima da amostra líquida ou sólida. Alguns autores recomendam a adição de cloreto de sódio para melhorar o equilíbrio através da fase orgânica da microfibras de MEFS, bem como a agitação da solução de amostra para aumentar a taxa de equilíbrio.

A partir de 1992 começaram a ser publicados trabalhos científicos utilizando a MEFS, em alimentos. HAWTHORNE; MILLER; PAWLISZYN & ARTHUR (1992) determinaram cafeína em bebidas; PAGE & LACROIX 1993 identificaram voláteis halogenados em alimentos e YANG & PEPPARD (1994) usaram a MEFS para a extração de aromas de café, bebida à base de suco de fruta e aroma de manteiga em óleo vegetal.

JAYATILAKA e POOLE & POOLE (1995) utilizaram essa técnica na identificação da origem botânica de canela comercial.

Recentemente, STEFFEN & PAWLISZYN (1996) avaliaram as substâncias voláteis responsáveis pelo *flavor* em suco de laranja Tropicana utilizando a MEFS com *headspace* como método de extração. Microfibras de polidimetilsiloxano de 100µm e de poliacrilato de 85µm foram utilizadas nos experimentos a fim de testar sua eficiência de extração. Concluíram que a MEFS por *headspace* utilizando microfibras de poliacrilato extraiu mais substâncias voláteis no suco de laranja centrifugado do que aquela de polidimetilsiloxano, nas

mesmas condições. A MEFS também pode extrair voláteis responsáveis pelo (lavor de outros sucos de frutas. Encontraram as mesmas substâncias do suco de laranja, em sucos de uva e grapefruit. A técnica demonstrou-se efetiva na adsorção destas substâncias.

A MEFS foi também utilizada por MATICH *et al.*, (1996) na determinação de voláteis (principalmente o α -farneseno) produzidos durante a estocagem a frio (1°C, no ambiente) de maçãs *Granny Smith*. Os resultados obtidos com a MEFS foram comparados com a extração por *headspace* e os voláteis de peso molecular mais elevado foram aqueles melhor adsorvidos pela microfibras de polidimetilsiloxano. Porém, para estes, o tempo de contato com a microfibras deveria ser maior que 90 minutos, o que limitaria o processo de extração. Para aqueles de baixo peso molecular, 5 minutos foram suficientes para o equilíbrio. Utilizando um sistema modelo, contendo 5 substâncias voláteis, observaram que o α -farneseno era melhor adsorvido quando o sistema era aerado, sendo que quando este era estático, a quantidade de α -farneseno adsorvida decrescia com o aumento da distância entre as maçãs, devido à adsorção do mesmo às paredes do recipiente de vidro.

JUN-SONG *et al.*, (1997) utilizaram a MEFS na determinação de voláteis de maçã. A MEFS utilizando microfibras de polidimetilsiloxano (100µm) forneceu maiores coeficientes de partição. O tempo para a adsorção dos voláteis foi extremamente dependente do tipo de substância, variando de 2 a 30 minutos.

ELMORE *et al.*, (1997) compararam 2 diferentes métodos de extração: a MEFS com *headspace* (microfibras de poliacrilato e de polidimetilsiloxano) e *headspace* dinâmico, em bebidas tipo cola e diet cola. A técnica de *headspace* dinâmico extraiu mais voláteis do que a MEFS em ambas as microfibras utilizadas. O perfil de voláteis quando utilizaram microfibra de polidimetilsiloxano foi menos intenso do que aquele com *headspace*. Os voláteis extraídos com microfibra de poliacrilato, foram menos abundantes do que com a de polidimetilsiloxano porém adsorveu 2 voláteis não identificados ou ausentes nos outros dois extratos (*headspace* e polidimetilsiloxano). A reprodutibilidade dos resultados foi similar em ambas as técnicas e, as diferenças qualitativas entre as duas colas foi pequena embora, a quantidade total de substâncias extraídas da cola tenha sido 4 vezes maior que aquela do produto diet.

Em 1997, CLASADONTE *et al.* determinaram contaminação por benzeno e tolueno em sucos frescos e comerciais de laranja e pêssago utilizando para a extração destes compostos a MEFS com fibra de dimetilsiloxano. A acuracidade e precisão do método foram consideradas boas para ambos os sucos, porém, a recuperação das substâncias voláteis foi considerada baixa: benzeno (55%) e do tolueno (58%).

SONG *et al.*, (1998) investigaram as substâncias voláteis do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) e do morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) extraídas por MEFS. O tempo total de análise foi de 10 minutos quando a MEFS foi combinada a uma análise rápida por CG e um espectrômetro de massa tempo de voo (*time of flight*). O principal volátil de impacto no *flavor* foi a 2,5-dimetil-4-metoxi-3(2H)-furanona encontrada no morango. Concluindo que a MEFS parece ser apropriada para análises quali e quantitativas rápidas para os voláteis do tomate e do morango.

JARVENPAA *et al.* (1999) utilizaram a MEFS/CG/EM na identificação de substâncias voláteis do alho (*Allium cepa* L.) que são produzidas da atividade enzimática após a ruptura das paredes celulares. Os voláteis mais importantes no aroma do alho foram identificados como o óxido de tiopropanal, dissulfeto de dipropenil e dissulfetos de propenil propil. Estes compostos foram emitidos após apenas 1 minuto de análise no CG/EM.

DEIBLER *et al.*, (1999) utilizaram a análise de diluição olfatométrica/CG por esta fornecer indicações de quais substâncias voláteis são importantes (potentes) no aroma dos alimentos. A MEFS foi utilizada para conduzir a análise de diluição por *headspace* estático para 6 substâncias químicas (benzaldeído, octanol, 1,8 cineol, citral, decanal, 2 acetil-3-metilpirazina) todas diluídas em 1% de etanol. Estas foram selecionados por representar estruturas comuns de aromas ativos. Sugeriram que o método deve ser utilizado para alimentos gordurosos, sólidos e também para líquidos, o qual não cria artefatos produzidos pela extração por solventes.

VAS & LORINCZ, (2000) analisaram por CG e CG/EM os voláteis extraídos por MEFS, de vinhos fermentados pelo processo convencional (cascas) e daqueles com maceração carbônica. Os vinhos obtidos por maceração carbônica foram caracterizados por seu aroma especial, distinto daqueles fermentados, devido a diferenças na proporção de componentes do favor. Os resultados revelaram que os vinhos obtidos por maceração carbônica continham menos hexanol e metanol e mais lactato de etila e succinato de dietila do que o vinho fermentado.

SABAREZ *et al.*, (2000) utilizaram a MEFS seguida de CG/EM para monitorar alterações no aroma de ameixas submetidas a processo de secagem (80°C, 35% de UR, 5m/seg de velocidade do ar). Foram observadas alterações substanciais no perfil aromático durante o processo de secagem. O aparecimento de algumas substâncias como por exemplo, o furfural

devido à decomposição térmica de carboidratos. A importância do perfil aromático para detectar o progresso das reações químicas de degradação durante o processo e a identificação dos voláteis para o controle de qualidade do produto foi discutida.

Vários trabalhos tem sido desenvolvidos utilizando a MEFS como método de extração de substâncias voláteis de produtos e matérias-primas, como por exemplo PENTON e BARTELT (1997); SONG *et al.*, QUACH *et al.*, JONES *et al.*, CALLE *et al.*, BOYD *et al.* e RUIZ *et al.*, (1998); SILVA *et al.*, MARSLI *et al.*, ONG & ACREE e GARZIA *et al.* (1999) e BRUNTON *et al.*, EBELER *et al.*, ROBERTS *et al.* e JELE *et al.* (2000).

No que diz respeito à extração de voláteis por MEFS em sucos de frutas particularmente, em suco de abacaxi clarificado ou não, ou no abacaxi “in natura” da variedade Pérola, não foram encontrados trabalhos até a presente tese.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

Amostras de suco de abacaxi (*Ananas comosus* L.) variedade Pérola pasteurizado, do suco hidrolisado bem como de todos os permeados nos sistemas de membranas de UF e MF foram utilizadas para a extração por MEFS. Esses materiais foram descritos anteriormente nos Capítulos I e II.

3.2. Métodos para Extração dos Voláteis

3.2.1. MEFS dos Voláteis das Amostras

Na utilização da técnica de MEFS, a amostra (1 mL) foi acondicionada em vidro amostrador (2 mL) e devidamente selada com tampa de borracha e lacre de alumínio. A microfibras foi condicionada antes da análise de cada amostra pois, a fase polimérica adsorve aromas químicos do ar e produz um background no cromatograma. A seguir, a agulha da microsiringa foi automaticamente inserida através do septo do recipiente da amostra e a microfibras estendida até contato com a amostra por imersão, conforme esquema 1, pg. 17.

Após o tempo de 30 minutos, a microfibras foi automaticamente recolhida para o interior da agulha e removida do septo. Foi injetado 1 µL de amostra, automaticamente no CG. Os voláteis adsorvidos foram termicamente desorvidos a 200°C através da porta de injeção e transferidos diretamente para análise no CG/EM.

A extração dos voláteis por MEFS foi realizada com microfibras de 65 µm composta por polimetilsiloxano/divinilbenzeno, fabricada pela SUPELCO. O tempo de equilíbrio da microfibras em contato direto com a amostra foi de 30 minutos à temperatura ambiente. A seguir, a microfibras foi introduzida, automaticamente, no CG/EM com um tempo total de análise de 90 minutos.

3.2.2. *Headspace* Dinâmico e Desorção Térmica Automática (DTA)

A fim de se verificar a eficiência de extração das substâncias voláteis por método diverso àquele por MEFS, amostras de suco de abacaxi integral variedade Pérola foram extraídas por *headspace* dinâmico seguida de DTA no GRAD-FLHOR (Montpellier-França). A técnica consistiu na diluição de 3g de amostra de suco em 20mL de água

destilada, em recipiente, sendo a seguir fechado com tampa de duas saídas: uma para o bombeamento de Hélio (fluxo de 20mL/min.) e a outra com *trap* (cartucho com polímero adsorvente) contendo carbono ativo e grafite, para a adsorção dos voláteis. A seguir, o recipiente foi colocado em banho maria a 3637°C/1 hora. Após este tempo, o trap foi colocado no CG para a desorção térmica dos voláteis. O equipamento de CG possuía unidade acoplada para desorção por micro-ondas – marca REKTORLK. para DTA por microondas. As condições cromatográficas foram: coluna DBWAX (60m; 0,32mm d.i. e 0,25mm de espessura) com taxa de fluxo de 1,2mL/minuto. A injeção da amostra foi do tipo split 1/15, a 190°C na DTA. A programação de temperatura para análise no CG foi: 50°C/6 min (isotérmica) e a seguir programada para um aumento de 6°C/minuto até 180°C e mantida por mais 10 minutos a mesma temperatura (isoterma). O detetor era do tipo FID (30mL de H₂ e 350mL de ar). As substâncias voláteis foram identificadas por CG/EM, pelos tempos de retenção e pela espectroteca (banco de espectros de massa) Wiley.

3.3. Análise por CGAR/EM dos Voláteis dos Sucos

3.3.1. Equipamentos:

Foram utilizadas a Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (CGAR) e a Espectrometria de Massa, na identificação das substâncias voláteis dos sucos de abacaxi integral, hidrolisado e dos permeados, precedidas de extração por MEFS ou por *headspace* dinâmico e DTA.

As análises de CG/EM foram realizadas na Coca-Cola R & D Center, no Rio de Janeiro, em Cromatógrafo a Gás - VARIAN Modelo SATURN CG/MS - 340-CG com injetor tipo split/splitless, SPI (*Septunt Programable Injector*). Foi utilizada coluna cromatográfica

de 60m de comprimento x 0,32mm de diâmetro interno e espessura do filme de 0,1 μ ., composta de 5% de difenil e 95% de polidimetilsiloxano (HP5).

3.3.2. Condições da CG/EM para Análise dos Voláteis

Após a adsorção dos compostos voláteis na microfibras polimérica, as amostras foram injetadas no CG/EM da VARIAN modelo SATURN, em coluna capilar HP5, da Hewlett/Packard, 60m x 0,32mm (d.i.) x 0,1 μ , nas condições abaixo descritas:

Programação de Temperatura do CG/EM: 40°C - 120°C (2°C/minuto)

120°C - 220°C (5°C/minuto)

Temperatura do Injetor: 200°C

Modo de injeção: splitless

Gás de arraste: Hélio

Fluxo do gás de arraste: 1mL/minuto

Pressão do gás de arraste: 5psi

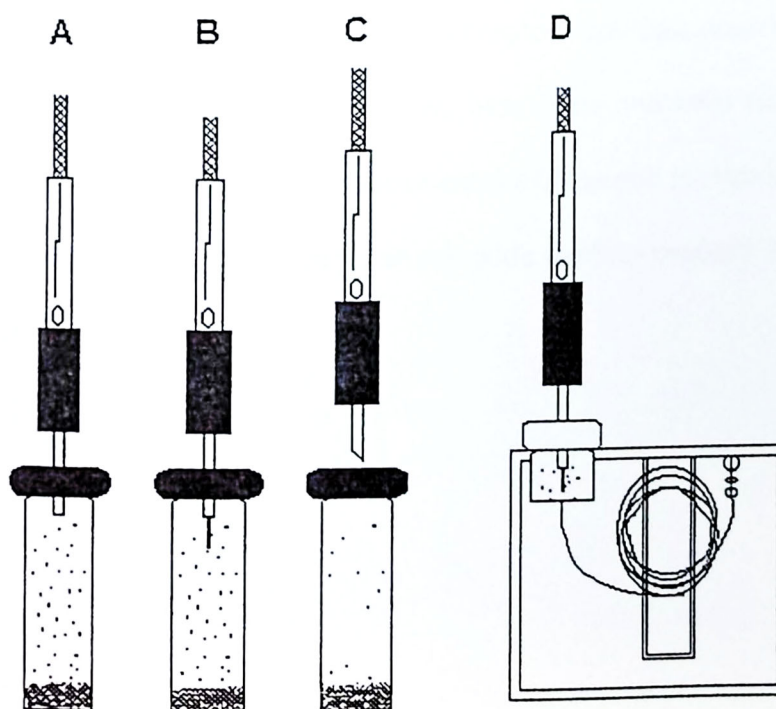
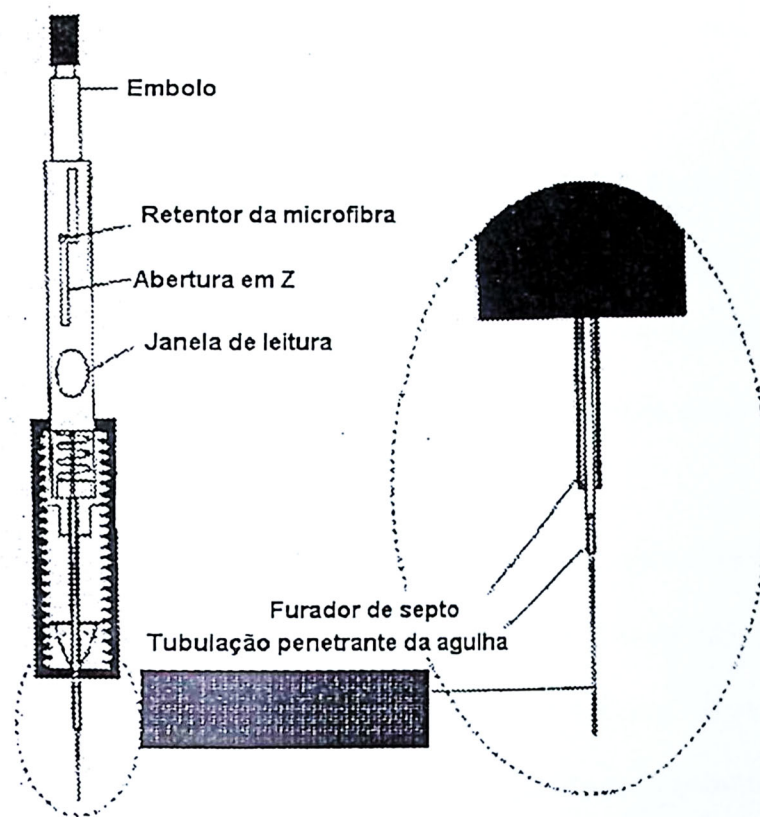
Analizador do EM: Tipo Ion Trap

Técnica de Ionização: Impacto de elétrons (70 eV)

Temperatura da Interface CG/EM: 220°C

3.3.3. Identificação dos Voláteis dos Sucos

A identificação de cada substância da fração volátil foi realizada através da comparação entre os espectros de massas obtidos de cada pico do cromatograma de íons totais (CIT) das amostras e o EM das diferentes espectrotescas Wiley, NIST.



4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Voláteis do Sucos Integral e dos Sucos Hidrolisados

4.1.1. Voláteis do Suco de Abacaxi Integral Pasteurizado

Na Tabela 21, podem ser observados os voláteis extraídos por MEFS, com seus respectivos tempos de retenção e pesos moleculares, identificados no suco de abacaxi integral pasteurizado (SAIP).

No suco de abacaxi integral pasteurizado, após extração por MEFS e análise por CG/EM, foram identificadas 32 substâncias voláteis. Dentre elas 7 ésteres, 6 ácidos, 8 cetonas, 2 piranonas, 3 aldeídos, 4 álcoois, 1 furano e 1 ftalato. O cromatograma de íons totais do suco integral pasteurizado pode ser observado na Figura 2 (amostra 5a).

O suco de abacaxi, pelo fato de ser submetido a processos tecnológicos que empregam o calor, de forma a garantir sua conservação e qualidade microbiológica, deverá perder substâncias voláteis de baixo peso molecular, bem como nutrientes termossensíveis, devido às etapas de inativação enzimática (branqueamento) e tratamento térmico no processo de pasteurização.

O emprego de temperaturas pode também conduzir à hidrólise dos ésteres presentes no suco “in natura”.

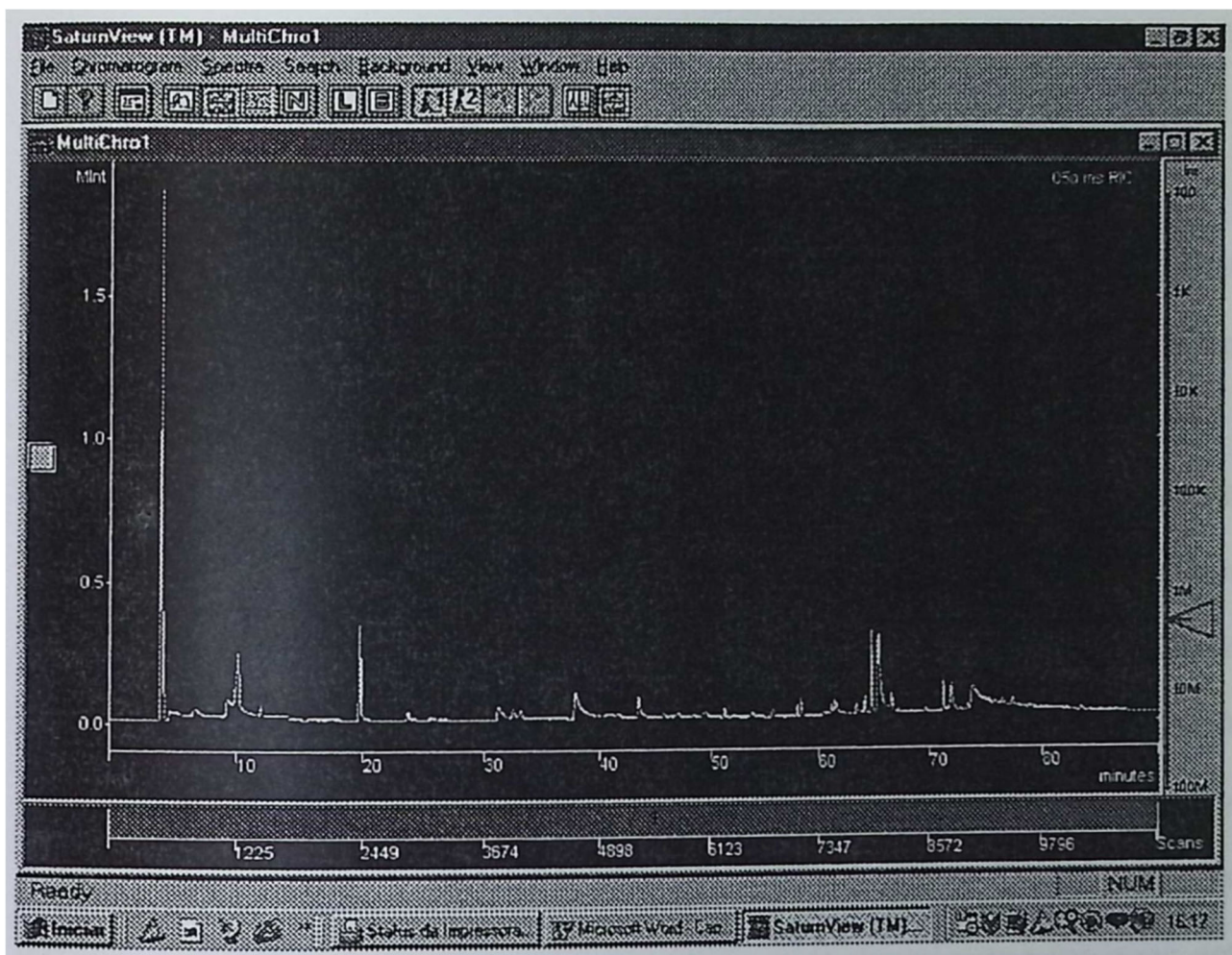


Figura 2. CIT do Suco de Abacaxi Integral Pasteurizado

Segundo HARMON (1997), o tipo de microfibras influencia na adsorção das substâncias voláteis presentes na amostra. O autor testou a eficiência de microfibras constituídas de polidimetilsiloxano (100 μ m) e de poliacrilato (85 μ m) na MEFS, porém utilizando a técnica com *headspace*, em uma mistura modelo de aromas em água (acetato de etila, hexanal, limoneno, eugenol e linalool). Estas substâncias, voláteis também presentes no abacaxi, foram quantificadas em maior concentração quando utilizou microfibras de polidimetilsiloxano se comparada àquela de poliacrilato. Por outro lado, o eugenol e o linalool foram quantificados melhor na extração em microfibras de poliacrilato.

4.1.2. Voláteis do Suco de Abacaxi Integral Não Pasteurizado (HS/DTA/CG)

Análises também foram realizadas com suco de abacaxi integral, da variedade Pérola, não pasteurizado, utilizando extração dos voláteis por *headspace* dinâmico e DTA por microondas. Os resultados obtidos revelaram uma predominância de ésteres (9) enquanto que apenas 4 deles foram identificados no suco de abacaxi pasteurizado utilizado na presente tese. As substâncias voláteis extraídas por *headspace* e identificadas foram: 2 propanona, etanol, butirato e metil 2 butirato de metila; acetato de etila, metil 2 butirato e hexanoato de etila, pentanoato de metila, hexanoato de metila, heptanoato de metila, octanoato de metila e no 4 hexanoato de metila. De acordo com as substâncias encontradas, o método de HS/DTA/CG foi efetivo na extração e identificação de ésteres. A presença de etanol foi detectada apenas no suco de abacaxi integral extraído por MEFS e, em algumas amostras de sucos de abacaxi permeados como provável produto da fermentação alcoólica dos açúcares neles presentes, podendo, no segundo caso ser explicada pelo tempo decorrido entre uma análise e outra, bem como da temperatura do ambiente que normalmente se situa entre 18 e 25°C. Portanto, para amostras sujeitas a processos fermentativos, como sucos de frutas e vegetais, deve-se levar em conta o tempo às quais permanecerão à temperatura ambiente, antes de serem analisadas.

4.1.3. Voláteis do Suco de Abacaxi Integral Pasteurizado Hidrolisado

Após a MEFS e análise por CG/EM, também foram identificadas, através das espectrootecas NIST e Wiley, trinta e oito substâncias voláteis no suco de abacaxi, hidrolisado com pectinase ULTRAZYIVI 100G, utilizado como alimentação dos sistemas de membranas. Dentre elas: 3 ésteres; 6 aldeídos; 5 ácidos; 11 cetonas, 2 piranos, 9 álcoois, 1 furano, e 1 Palato, conforme Tabela 22.

A partir do cromatograma de íons totais obtido do suco de abacaxi hidrolisado (amostra 6b) conforme figura 3, as substâncias voláteis foram identificadas.

A seguir, como exemplo, selecionou-se um pico do cromatograma de íons totais do suco de abacaxi hidrolisado obtendo-se seu respectivo espectro de massa, que foi comparado através de consulta automática à espectroteca do SATURN e manualmente àquelas do NIST e a WILEY. Na figura 4, como exemplo, pode-se observar o espectro de massa do ácido acético comparado ao seu padrão na espectroteca do SATURN. Após a confirmação da substância volátil, através das espectrotecas, realizou-se o estudo da fragmentação do ácido acético (Figura 5). Desta forma foram identificadas todas as substâncias voláteis dos cromatogramas de íons totais dos sucos permeados.

Na Tabela 22, podem ser observadas as substâncias voláteis identificadas no suco de abacaxi hidrolisado. O mesmo método de identificação foi utilizado para todos os sucos nos diferentes processos com membranas.

Tabela 21. Substâncias Voláteis do Suco de Abacaxi Integral Pasteurizado

Nº do pico	Substâncias	Tempo de retenção (min)	PM
1	Ácido acético	10:150	60
2	Dihidro-2-metil, 3(2H)furanona	11:948	100
2	acetato de etila	12:012	88
3	3-hidroxi, 2-butanona	19:755	132
4	Ácido 2-metil propanóico	23:755	88
5	Acetato de 2-metil propila	26:344	116
6	Ácido 3-metil butanóico	32:060	102
7	2-furano carboxialdeído	32:402	96
8	Ácido 2-metil butanóico	33:124	102
9	2-furanometanol	34:631	98
10	1, 3-dihidroxi, 2-propanona	37:824	90
11	2-hidroxiciclopen-2-eno-1-ona	41:641	98
12	3-metil-2, 5-furanodiona	43:502	112
13	5-metil, 2-furanocarboxialdeído	45:575	110
14	ácido hexanóico	45:608	116
15	2, 3-dihidro, 3, 5-dihidroxi-6-metil pirano-4-ona	47:088	144
16	Éster metílico do ácido 3-metiltio propanóico	51:277	134
17	3-hidroxi ciclohexanona	52:021	114
18	Maltol	55:655	126
19	2-metil, 1, 4-benzenodiol	56:194	124
20	2-metil furanoato ou furoato de 2-metila	56:962	126
21	Etil éster do ácido 3-metiltio propanóico	57:907	148
22	Ácido 2-etil hexanóico	58:260	144
23	2,,3-dihidro, 3, 5-hidroxi-6-metil-pirano-4-ona	61:159	144
24	Ácido benzóico	61:395	122
25	3, 5-dihidroxi, 2-metil pirano-4-ona (4H)	63:428	142
26	Azuleno	64:199	128
27	2, 3-dihidrobenzofurano	64:768	120
28	5-hidroximetil-2-furanocarboxialdeído (5 hidroximetilfurfural)	65:325	126
29	2.3-dihidro-indeno-5-ol	66:581	134
30	1-(2-hidroxi-5-metilfenil) etanona	69:654	150
31	2, 4-di-isocianato-1-metil benzeno	71:247	174
32	Isobutil ftalato (UMANO <i>et al.</i>)	72:012	278

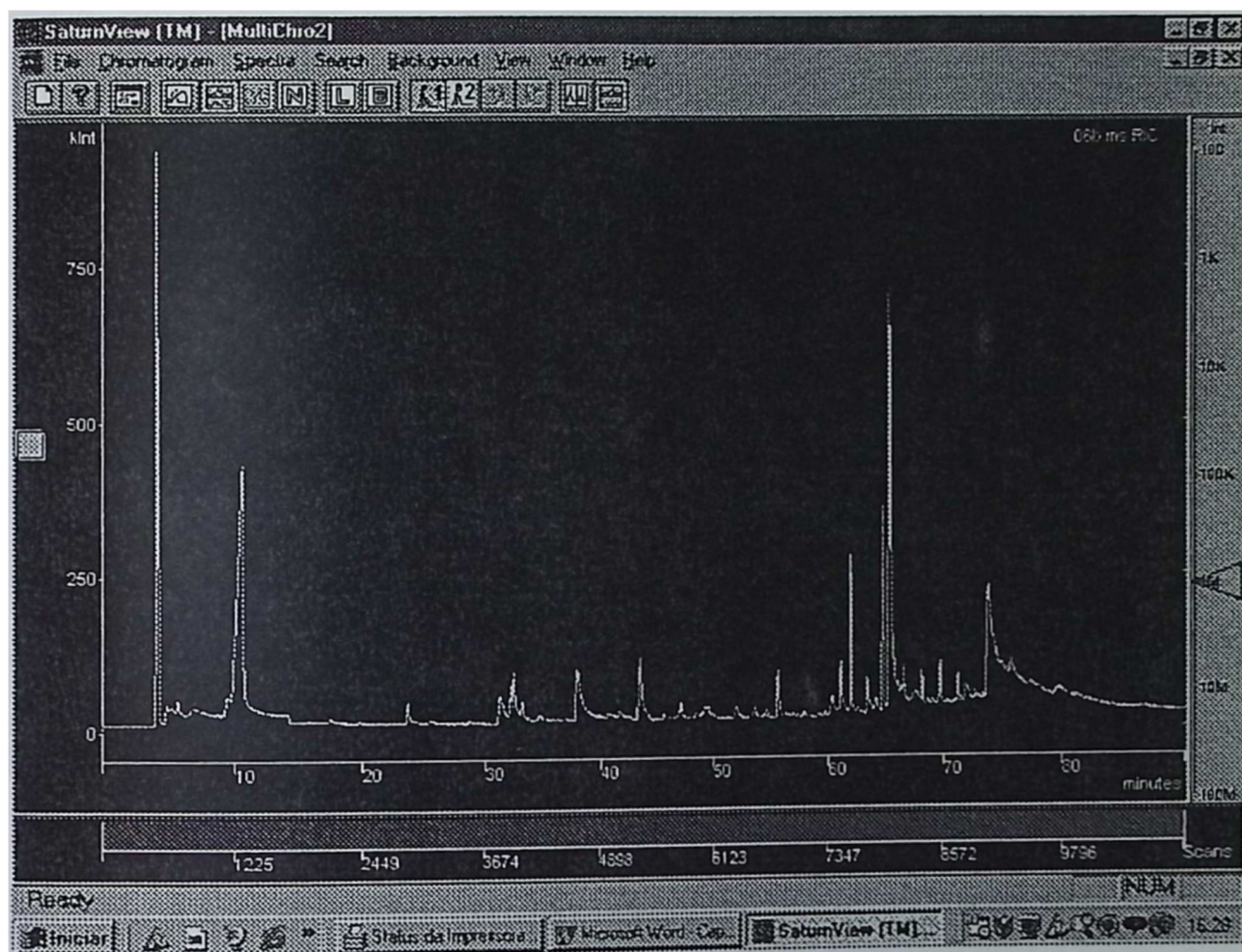


Figura 3. CIT do Suco de Abacaxi Hidrolisado

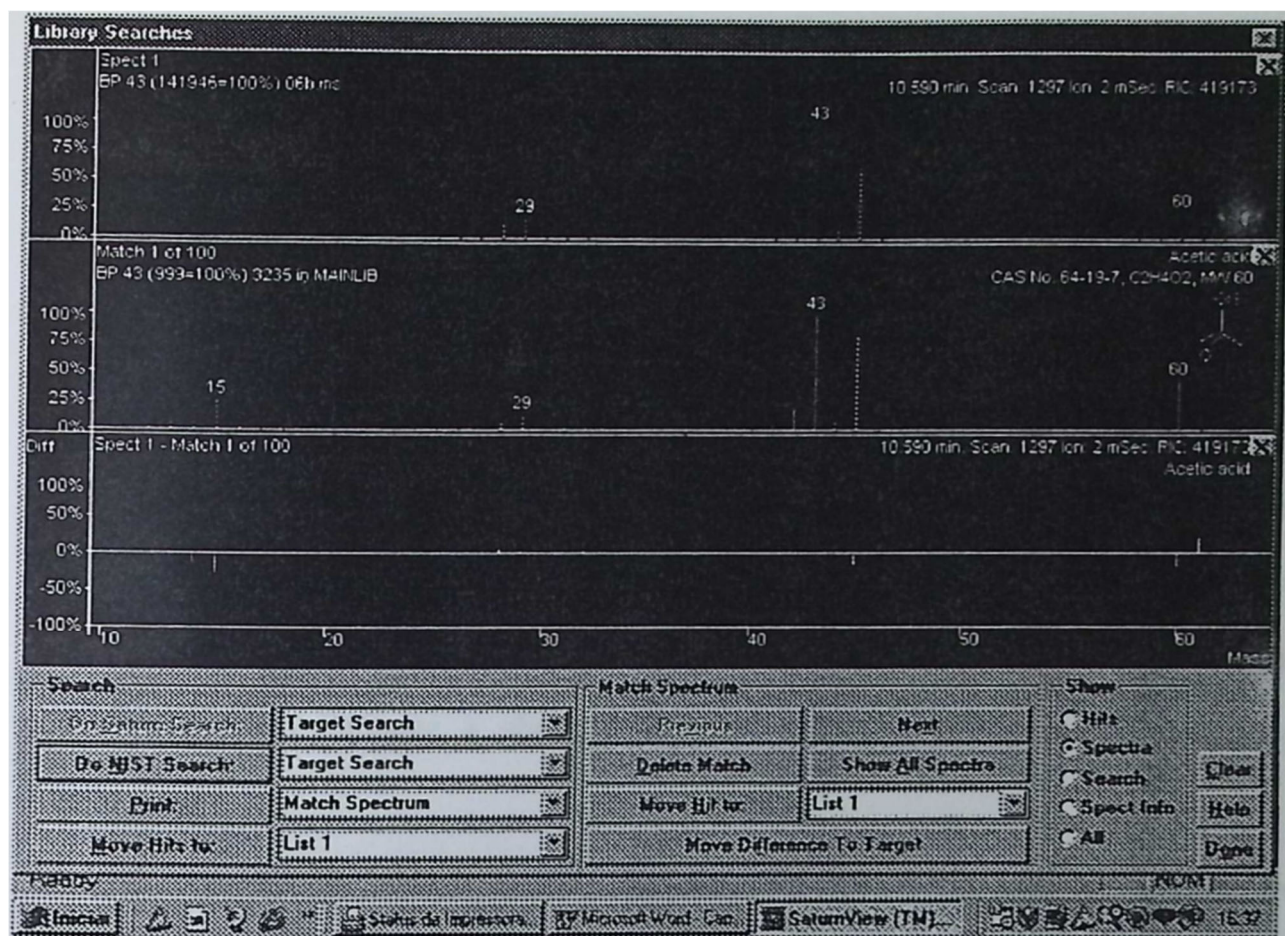


Figura 4. Espectro de Massa do Acido Acético

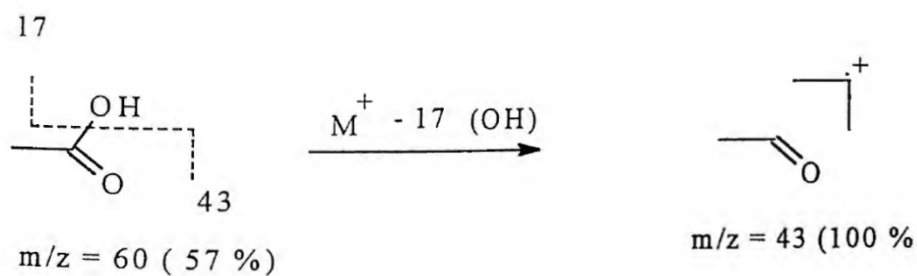


Figura 5. Fragmentação do Ácido Acético

Quando se comparam as substâncias voláteis do suco de abacaxi integral pasteurizado às daquelas do suco hidrolisado extraídas pela técnica de MEFS por imersão, nas condições estudadas, observa-se um aumento no número de álcoois e cetonas e redução em ésteres possivelmente resultantes da hidrólise enzimática do suco de abacaxi. O suco de abacaxi hidrolisado apresentou apenas 3 ésteres, isto é, perdas nas substâncias que mais contribuem para o aroma do suco, como por exemplo, o acetato de etila.

Por outro lado, o que pode ser considerado agente favorecedor da hidrólise de ésteres e da presença de álcoois, cetonas e aldeídos no suco de abacaxi, seria a aplicação de temperatura de 40°C e seu tempo de contato (30 minutos) necessários à hidrólise da pectina presente no mesmo, considerada como limitante à obtenção de altos fluxos nos processos de permeação por membranas.

A presença de acetato de etila foi verificada apenas no suco de abacaxi integral pasteurizado, não tendo, todavia, sido detectada no suco hidrolisado e nos sucos permeados provenientes dos processos de permeação em membranas de polissulfona, polietersulfona e fluoreto de polivinilideno, possivelmente por não ter sido utilizada a técnica de *headspace* na MEFS.

Acredita-se que a hidrólise enzimática com enzima ULTRAZYM 100G, tenha promovido a formação de ácido acético, uma vez que sua presença foi detectada no suco de abacaxi hidrolisado e em alguns permeados (0,3μ), embora o tenha sido identificado, anteriormente, como de ocorrência natural no abacaxi verde (imaturo) (WU e UMANO, 1991).

O ácido hexanóico foi identificado no suco de abacaxi integral pasteurizado, em quantidades traço e não encontrado no suco hidrolisado possivelmente perdido por volatilização.

Tabela 22. Substâncias Voláteis do Suco de Abacaxi Hidrolisado

Nº do pico	Substância	Tempo de retenção (min)	PM
1	Ácido acético	10:590	60
2	2-oxopropanal	17:490	74
4	3-hidroxi, 2-butanona	19:755	88
5	Ácido 2-metil propanóico	23:625	132
6	1-hidroxi, 2-propanona	25:471	74
7	2 (5I)-furanona	28:736	84
8	Ácido 3-metil butanóico	32:271	102
9	2-furanocarboxialdeído (furfural)	32:405	96
10	Ácido 2-metil butanóico	33:180	102
11	2-furanometanol	34:631	98
12	1,3-dihidroxi, 2-propanona	37:824	90
13	3-metiltio propanal	39:843	104
14	2-hidroxyciclopen-2-en-1-ona	41:641	98
15	3-metil, 2,5-furanodiona	43:502	112
16	5-metil, 2-furanocarboxialdeído	45:575	110
17	2,3-dihidro,3,5-dihidroxi-6-metil pirano-4-ona	47:088	144
19	Dietil carbitol	49:439	162
20	Éster metílico do ácido 3-metiltio propanóico	51:277	134
21	3-hidroxi ciclohexanona	52:021	114
22	5-etil dihidro, 2 (3H)-furanona	54:406	114
23	Maltol	55:655	126
24	2-metil, 1,4-benzenodiol	56:194	124
25	2-metil furanoato	56:962	126
27	Álcool Fenil etílico	59:281	122
28	2,3-dihidro.3,5-dihidroxi-6-metil-pirano-4-ona	61:159	144
29	4-etil fenol	62:016	122
30	3,5-dihidroxi-2-metil pirano-4-ona (4H)	63:428	142
31	2,3-dihidrobenzofurano	64:768	120
32	5-hidroximetilfurfural	65:325	126
33	2,3-dihidro-indeno-5-ol	66:581	134
34	4-etil, 2-metoxi-fenol	68:143	152
35	1-(2-hidroxi-5-metilfenil) etanona	69:654	150
36	2,4-di-isocianato-1-metil benzeno	71:247	174
37	2,4,6-trimetil benzaldeído	73:367	148
38	Isobutil ftalato	72:012	278

Essa substância foi identificada pela primeira vez, no abacaxi por WU (1991). No suco de abacaxi hidrolisado sua presença não foi detectada.

A 3-metil, 2,5-furanodiona foi identificada no SAIP e no suco hidrolisado, conforme espectro de massa (Figura 6).

A 3-hidroxi-2-butanona foi também identificada no suco de abacaxi pasteurizado e no hidrolisado.

O 5-hidroximetil furfural e o 2-furanocarboxialdeído foram identificados nos sucos de abacaxi integral pasteurizado e no suco hidrolisado. Uma vez que o suco de abacaxi foi pasteurizado, a presença destas substâncias pode ser explicada devido à exposição ao calor e consequente caramelização dos açúcares nele presentes. Porém, UMANO (1992) registrou sua ocorrência em sucos de abacaxi onde tratamento térmico não foi aplicado.

Não foi identificada a presença de limoneno, reportada por vários autores, como constituinte volátil do suco de abacaxi, no suco hidrolisado nem nos permeados por MEFS por imersão. Porém, HARMON (1997) testando a eficiência das microfibras de polidimetilsiloxano (100µm) e poliacrilato (85µm) extraíndo-a por MEFS com *headspace* em uma mistura de aromas em água, identificou o limoneno em suco de abacaxi. Maiores concentrações da substância foram observadas com o uso de microfibra de polidimetilsiloxano do que quando se utilizou a de poliacrilato. A ausência do limoneno pode ser devida a estar presente em baixa concentração nos sucos hidrolisado e permeados e não ter sido adsorvida pela fibra de dimetilsiloxano/divinilbenzeno.

O aparecimento ou formação do linalool e a - terpineol, resultantes da hidrólise enzimática e pelo efeito conjugado calor - acidez observados por SHEU e WILEY (1984), não foram identificados nos SAIP e SAH.

Ftalatos foram identificados nos SAIP, SAH e nos sucos permeados. Sua presença foi reportada por UMANO *et al.*, (1991) porém ele não cogitou como hipótese plausível para sua identificação nos sucos de abacaxi verde e maduro, a migração da substância como material plástico proveniente da embalagem de acondicionamento das amostras.

A literatura não reporta a identificação de ftalatos como compostos normalmente presentes no abacaxi e sim pelo seu acondicionamento de vários tipos de alimentos, em filmes de PVC (cloreto de polivinila - plastificante) (PAGE, 1988 e ZOZYROD, 1989). Acredita-se, portanto, que sua presença nos sucos de abacaxi integral pasteurizado e no hidrolisado utilizados na presente tese, tenha sido proveniente das embalagens plásticas que os acondicionaram.

4.2. Voláteis dos Sucos Permeados nos Sistemas de UF e MF

4.2.1. Voláteis dos Sucos Permeados em Membranas de PS de 0,1 μ

As substâncias voláteis identificadas nos sucos de abacaxi permeados em membranas de 0,1 μ , sendo elas: 1 f (PTM=3,5Bar); 3f (PTM=4,5Bar) e 5f (PTM=5,5Bar), podem ser observadas na Tabela 23.

Na Figura 7, encontram-se os cromatogramas de íons totais das amostras de suco de abacaxi permeado em membranas de PS de 0,1 μ . Observa-se que houve algumas perdas dos voláteis de menor peso molecular quando comparadas ao suco de abacaxi hidrolisado.

O ácido acético (tempo de retenção de 10:590), não foi identificado em nenhuma das 3 amostras, nas 3 pressões de transmembrana (PTM) aplicadas. Acredita-se que a razão para que não tenha sido identificado, seja devida à retenção da substância pela camada de compactação, formada a nível de superfície de membrana ou ainda pela perda por volatilização durante o processo.

Tabela 23. Voláteis do Suco de Abacaxi Permeado em Membranas de PS de 0,1 μ

Nº do pico	Substância	Tempo de retenção (min)	PM
1	1,3-dihidroxi propanona	31:396	90
1	2-furano carboxialdeído - furfural	32:476	96
2	1,3-dihidroxi,2-propanona	37:824	90
3	3-metil 2,5-furanodiona	43:502	112
4	5-hidroximetil, 2-furanocarboxialdeído	45:575	110
5	2,3-dihidro, 3,5-dihidroxi, 6-metil pirano-4-ona	46:991	144
6	Dietil carbitol	49:439	
7	Maltol	55:638	126
8	Álcool fenil etílico	59:281	122
9	Tetrahidro trans 3,4-furanodiol	60:283	104
10	2,3-dihidro-3,5-dihidroxi 6-metil pirano-4-ona	61:190	144
11	2,3-dihidrobenzofurano	64:720	120
12	5-hidroximetilfurfural	65:445	126
13	1-(2-hidroxi-5-metilfenil) etanona	69:587	150
14	2,4-di-isocianato, 1-metil benzeno	71:196	174
15	Isobutil ftalato	72:012	278

Observando-se o cromatograma de íons totais dos sucos permeados em membranas de 0,1 μ (figura 7), verifica-se que não houve diferenças consideráveis nas intensidades dos picos das amostras de sucos permeados a 3,5 e 4,5Bar porém essa intensidade é visivelmente diminuída quando a pressão de transmembrana (PTM) de 5,5 foi aplicada. Neste processo houve queda mais expressiva no fluxo de suco permeado, o que pode explicar uma maior retenção dos voláteis na camada de compactação sobre a superfície das membranas.

4.2.2. Voláteis dos Sucus Permeados em Membrana de PES de 0,3 μ

Os permeados provenientes da clarificação na membrana tubular – Sistema KOCH de PES de 0,3 μ também apresentaram número reduzido de substâncias voláteis nas duas PTMs aplicadas de 1,5Bar (iiipa) e 3,0Bar (03vpp). As PTMs aplicadas parecem não ter influenciado na intensidade dos picos dos cromatogramas de íons totais das amostras. A configuração diversa da membrana (tubular) e o seu maior tamanho de poros bem como a possibilidade de

recirculação do suco, permitiu maior recuperação dos voláteis para os sucos permeados, independente da PTM aplicada. quando comparada aos sucos da membrana de 0,1 μ .

Na Tabela 24, a seguir, podem ser observados os tempos de retenção, peso molecular e as substâncias voláteis identificadas nos sucos permeados na membrana de 0,3 μ .

Tabela 24. Voláteis do Suco de Abacaxi Permeado em Membrana de PES de 0,31.

Nº do pico	Substância	Tempo de retenção (min)	PM
1	ácido acético	6:663	60
2	2-firano carboxialdeído – furfural	21:560	96
3	2-furanometanol	23:372	98
4	3-metiltiopropanal	29:918	104
5	Octanal	28:925	128
6	5-metil, 2-furanocarboxialdeído	33:665	110
7	Éster etílico do ácido hexanóico	36:569	144
8	Éster metílico do ácido 3-metiltiopropânico	39:166	134
9	Benzenoacetaldeído	41:289	120
10	Furil, hidroximetilcetona	44:841	126
11	2.3-dihidro. 3.5-dihidroxi. 6-metil pirano-4-ona	49:309	144

O ácido acético apresentou tempo de retenção de 6:663 minutos, tempo este menor quando comparado àquele presente no suco hidrolisado, uma vez que a coluna cromatográfica teve que ser trocada. Foi encontrado em pequena intensidade quando a PTM foi de 1,5Bar porém, quando operou-se a PTM de 3,0Bar, o mesmo não foi encontrado. Provavelmente, a PTM menos elevada aplicada formou camada de compactação menos espessa permitindo a passagem do ácido acético através da membrana.

Por outro lado, o octanal foi identificado pela primeira vez nos sucos permeados em membrana de 0,311. Em virtude de a hidrólise enzimática ter sido realizada antes de cada processo com uma determinada membrana, acredita-se que o octanal não tenha sido destruído, mas apenas não detectado nas outras amostras analisadas.

4.2.3. Voláteis dos Sucos Permeados em Membranas de PS de 0,45 μ

Os sucos de abacaxi permeados em membranas de 0,45 μ , foram obtidos operando-se o sistema Quadro e Placas a PTMs de 3,0 (045iip) e 4,0Bar(045iiip) e a metodologia utilizada foi a mesma citada anteriormente, para identificação das substâncias voláteis presentes.

Na Tabela 25 a seguir, podem ser observadas as 12 substâncias voláteis encontradas nos sucos permeados em membranas de 0,45 μ . (iip-3,0Bar 3 iiip-4,0Bar).

Tabela 25. Voláteis do Suco de Abacaxi Permeado em Membranas de PS de 0,45 μ .

Nº do pico	Substância	Tempo de retenção (min)	PM
1	Ácido acético	6:846	60
2	2-furano carboxialdeído – furfural	21:688	96
3	3-metiltiopropanal	28:326	104
4	Octanal	29:016	128
5	Éster metílico do ácido hexanóico	29:845	130
6	5-metil, 2-furanocarboxialdeído	33:706	110
7	2,3-dihidro, 3,5-dihidroxi, 6-metil pirano-4-ona	35:206	144
8	Éster etílico do ácido hexanóico	36:634	144
9	Éster metílico do ácido 3-metiltiopropânico	39:204	134
10	2,3-dihidro, 3,5-dihidroxi, 6-metil pirano-4-ona	49:407	144
11	5-hidroximetil, 2-furanocarboxialdeído	53:829	126
12	Isobutilftalato	64:059	278

Na Figura 9, os cromatogramas de íons totais desses sucos permeados podem ser melhor observados e todas as substâncias voláteis identificadas estavam presentes em ambos os sucos de abacaxi permeados porém, quando a PTM de 3,0Bar foi aplicada (0,45-iip), a intensidade dos picos do CIT para as substâncias 2 furfural (21:688 minutos); 2,3-dihidro,3,5-dihidroxi,6-metil pirano-4-ona (49:407 minutos) e do isobutil ftalato (64:059 minutos), foi diminuída quando comparada àquela do suco permeado a PTM de 4,0Bar (0,45-iiip). A diminuição da intensidade pode ser devida ao fato de que, nos processos com membranas de

0,45 μ a PTM utilizada ter sido menos elevada, o que formou uma camada de compactação quase que imediata, a qual pode ter adsorvido os voláteis ou até mesmo a ocorrência de menor adsorção dessas substâncias pela microfibras.

4.2.4. Voláteis do Suco Permeado em Membranas de PS de 50KDa

Os permeados obtidos no Sistema Quadro e Placas com membranas de 50KDa também apresentaram número reduzido de substâncias voláteis (15), como pode ser observado na Tabela 26.

Na figura 10, encontram-se os cromatogramas de íons totais dos sucos permeados em membranas de 50KDa (amostras 1b-6,0Bar e 3b-7,5Bar). Observa-se uma maior intensidade nos picos do cromatograma de íons totais do suco permeado em membrana de 50KDa à pressão de 7,5Bar efeito este provavelmente devido à maior compactação sobre a superfície das membranas do que quando a PTM de 6,0Bar foi aplicada. Visto que não houve injeção manual das amostras no CG/EM e trabalhou-se na identificação na mesma escala para ambas as amostras pode-se concluir que a PTM influenciou na intensidade da retenção de voláteis no suco permeado.

4.2.5. Voláteis do Suco Permeado em Membranas de PS de 100KDa

Os cromatogramas de íons totais das amostras permeadas em membranas de 100KDa a 6,0Bar (100ip 1) e 7,5Bar (100KDap) revelam que a PTM mais elevada não influenciou na retenção das substâncias voláteis nos sucos permeados, consequentemente produzindo picos similares na intensidade, possivelmente pela maior abertura de poro das membranas (figura 11). Porém o número de substâncias voláteis identificadas foi menor do que quando se utilizou membranas de 50KDa (Tabela 27). Uma vez que os fluxos de suco permeado foram mais

elevados, esperava-se- recuperar maior número de voláteis do suco hidrolisado. Acredita-se, portanto, que possam ter sido perdidos por volatilização durante o processo ou na camada de compactação.

Tabela 26. Substâncias Voláteis do Suco de Abacaxi Permeado em Membranas de PS de 50KDa

Nº do pico	Substância	Tempo de retenção (min)	PM
1	Ácido acético	10:190	60
2	1,3-dihidroxi, 2-propanona	31:398	90
3	2-furano carboxialdeído – furfural	32:405	96
4	2-furanometanol	34:651	98
5	1,3-dihidroxi, 2-propanona	37:827	90
6	3-metil, 2,5-furanodiona	43:502	112
7	2,3-dihidro, 3,5-dihidroxi-6 metil pirano-4-ona	47:088	144
8	3-hidroxiciclohexanona	52:037	114
9	2,5-dimetil,4-hidroxi, 3-furanona	53:777	128
10	Maltol = 3-hidroxi, 2-metil, 4-propanona	55:655	126
11	2,3-dihidro,3,5-dihidroxi 6-metil pirano 4 ona	61:159	144
12	2.3-dihidrobenzofurano	64:768	120
13	5-hidroximetil, 2-furanocarboxialdeído	65:325	126
14	2,4-di-isocianato, 1-metil benzeno	71:247	174
15	Isobutilftalato	72:012	278

Tabela 27. Substâncias Voláteis do Suco de Abacaxi Permeado em Membranas de PS de 100KDa

Nº do pico	Substância	Tempo de retenção (min)	PM
1	Ácido acético	8:345	60
2	2-furano carboxialdeído – furfural	22:123	95
3	3-metiltiopropenal	28:918	104
4	5-metil, 2-furanocarboxialdeído	34:209	110
5	Benzenoacetaldeído	41:355	120
6	2,3-clihidro, 3,5-dihidroxi –6-metil pirano-4-ona	49:440	144
7	5-hidroximetil furfural	54:218	126

4.2.6. Voláteis do Suco Permeado em Membrana de Fluoreto de Polivinilideno (PVdF) de 30-80KDa

A amostra de suco permeado (p001 – 1,5Bar) em membrana de PVdF de 30-80KDa também apresentou pequeno número de substâncias voláteis (11), porém mais elevado que aquelas encontradas em membranas de 100KDa. Dentre eles, 4 aldeídos, 4 ésteres, 1 cetona, 1 pirano e o azuleno (sesquiterpeno) identificado no suco de abacaxi pasteurizado.

Tabela 28. Voláteis do Suco de Abacaxi Permeado em Membrana de PVdF de 30-80KDa

Nº do pico	Substância	Tempo de retenção (min)	PM
1	2-furano carboxialdeído – furfural	21:681	96
2	3-metiltiopropanal	28:264	104
3	Éster metílico do ácido hexanóico	29:856	130
4	3-metil, 2,5-dihidro furanodiona	31:570	114
5	2-metil furfural	33:736	110
6	Éster etílico do ácido hexanóico	36:643	144
7	Éster metílico do ácido 3-metiltio propanóico	39:190	134
8	Éster etílico do ácido metiltiopropanóico	46:050	148
9	2,3-dihidro,3,5-dihidroxi-6-metil pirano 4 ona	49:351	144
10	Azuleno	52:528	120
11	5-hidroximetil furfural	53:727	126

A 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-pirano-4-ona, também foi identificada nos sucos per - meados em membranas de 30-80KDa. Sua provável fragmentação pode ser observada na Figura 12 e seu espectro de massa na figura 13.

ITOUA-GASSAYE *et al.*, (1991) detectaram perdas em substâncias voláteis em sucos de abacaxi hidrolisados e não hidrolisados que variaram de 20 a 30% nos sucos clarificados com membranas minerais e orgânicas de UF/MF.

CHAO (1992) reportou a perda quase total de substâncias voláteis do suco de maracujá pasteurizado hidrolisado centrifugado (79,5%). Após permeação deste em membrana de UF (polissulfona de 100KDa), o acetato de etila, butanoato de etila, acetato de butila, butanoato

de butila, acetato de hexila, butanoato de hexila e octanoato de etila foram completamente perdidos. Hexanoato de etila, hexanoato de hexila, 13-ionona, 4-terpineol estavam presentes em pequenas concentrações. O suco permeado apresentou recuperação de 52,1% dos voláteis presentes no suco de maracujá hidrolisado sendo 48% dos ésteres; 67,1 em álcoois; 74,2% em aldeídos; 38% em cetonas; 64% em terpenos e 14,7% em outros compostos.

O Quadro 4, resume os números de substâncias voláteis extraídas por MEFS e analisadas e identificadas por CGAR/VEM, de acordo com a membrana utilizada.

Quadro 4. Número de Substâncias Voláteis Identificadas nos Sucos Permeados

Membranas	Número de Voláteis Identificados
Microfiltração	Microfiltração
0,1 μ	15
0,3 μ	11
0,45 μ	12
Ultrafiltração	Ultrafiltração
50KDa	15
100KDa	7
30-80KDa	11

GASSAYE *et al.*, (1991) observaram redução na concentração de voláteis após a clarificação de suco de abacaxi utilizando membranas de 0,2 μ (alumina-tubulares e copolimérica-plana) em suporte de nylon e de 0,08 μ de óxido de zircônio em suporte de carbono. Cerca de 10 a 20% do isobutirato de metila e acetato de propila foram as reduções mais evidentes.

GAVA (1996) observou perdas substanciais nas 15 substâncias voláteis identificadas por CGAR/EM, após extração com diclorometano, em sucos de maracujá previamente hidrolisados enzimaticamente e a seguir clarificados em membranas de cerâmica de 0,2 μ e de polissulfona de 500KDa quando comparou-os ao suco natural da fruta reconstituído e aquele

clarificado em membrana de 500KDa sem hidrólise enzimática prévia. O suco de maracujá clarificado em membrana de cerâmica de 0,2 μ hidrolisado foi o que apresentou maior perda de compostos voláteis. Ésteres como o acetato de metila foram retidos no suco num percentual de apenas 36% (suco clarificado sem hidrólise) dos voláteis totais. Por outro lado, SAKHO *et al*, (1998) detectaram alterações insignificantes nas substâncias voláteis de polpa de manga após hidrólise enzimática.

Constata-se, portanto, que perdas de substâncias voláteis têm sido verificadas, ocorrendo independentemente do tipo de membrana, configuração e PTM aplicada nos processos de clarificação de sucos e outros alimentos líquidos.

Sabe-se que existe adsorção de substâncias voláteis na polpa de sucos de frutas quando processos de centrifugação são utilizados a fim de removê-la (RADFORD *et al.*, 1974).

No caso onde sistemas de clarificação por membranas de PS e PES foram utilizadas, as substâncias voláteis não encontradas nos sucos permeados podem ter ficado retidas na camada de compactação a nível de superfície de membrana, principalmente aqueles permeados em membranas planas ou ainda por volatilização durante os processos e não por adsorção dos voláteis a elas ou no interior de seus poros, uma vez que os retentados também não apresentaram intensidades de pico maiores do que aquelas dos permeados. Estas intensidades foram bem menores do que aquelas reveladas nos cromatogramas de íons totais dos sucos de abacaxi integral pasteurizado e do suco hidrolisado, respectivamente.

O tamanho dos poros das membranas de PS e de PES utilizados nos processos de UF e de MF parece não ter influenciado na adsorção de voláteis da camada de compactação revelando que a qualquer tamanho de poro as substâncias voláteis inicialmente encontradas foram perdidas no processo. Apenas foram observadas nos CITs, em maior ou menor

intensidade de voláteis remanescentes, de acordo com o tamanho do poro utilizado. Possivelmente, essas perdas foram causadas por volatilização.

Segundo JOHNSON *et al.* (1996), dos voláteis identificados no suco de laranja clarificado em membrana de PS de fibra oca de 500KDa, os álcoois isobutanol e o 2-metil butanol foram recuperados no permeado nos percentuais de 97 e 94%, respectivamente. Resultado este esperado, uma vez que membranas de PS são seletivas para substâncias polares como os álcoois enquanto que o decanal permaneceu no retentado e na polpa (24% e 76%), respectivamente, acreditando que foram adsorvidos pela camada de compactação formada sobre a superfície da membrana.

Uma vez que as membranas utilizadas na clarificação do suco de abacaxi hidrolisado eram de tamanho de poro menor do que aquelas por eles utilizadas e que o suco de laranja não foi hidrolisado (40°C) houve um favorecimento à maior preservação das substâncias voláteis inicialmente presentes no suco de laranja.

4.3. Limitações da MEFS para Substâncias Voláteis do Suco de Abacaxi

De acordo com as condições operacionais do equipamento SATURN-VARIAN CG/EM, que permite a análise de 60 amostras pela inserção automática destas em carretel amostrador, observou-se que o tempo de extração por contato direto (imersão) com a fibra de polidimetilsiloxano, de cerca de 30 minutos, condições melhores de extração/tempo por amostra, somado ao tempo de análise no CGAR/EM (90 minutos) era excessivo. Foi observada a presença de substâncias provenientes de processo fermentativo sendo, portanto, inviável a colocação de mais de 3 outras (360 minutos) no amostrador automático.

PONS *et al.*, (1989) estudaram a alterações dos voláteis durante o processo fermentativo de sucos de uvas, maçã e de abacaxi e uma solução de glicose, frutose e sacarose monitorando-as com um sensor de gás através de membrana acoplado a um CG. O mesmo comportamento foi verificado em relação à produção e desaparecimento do acetaldeído bem como a produção de etanol, acetato de etila, e os álcoois n-propil, isobutil e isoamílico. A concentração de acetaldeído foi máxima quando as taxas de CO₂ e etanol foram máximas.

A seguir são apresentadas as Figuras 6 (Espectro de Massa da 3-metil-2,5-furanodiona); 7 (CIT dos Sucos Permeados em Membranas de 1 μ); 8 (CIT dos Sucos permeados em Membrana de 0,3g); 9 (CIT dos Sucos Permeados em Membranas de 0,45 μ); 10 (CIT dos Sucos Permeados em Membranas de 50KDa); 11 (CIT dos Sucos Permeados em Membranas de 100KDa); 12 (Fragmentação da 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil priano-4-ona); 13 (Espectro de Massa da 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil priano-4-ona) e 14 (CIT do Suco Permeado em Membrana de 30-80KDa).

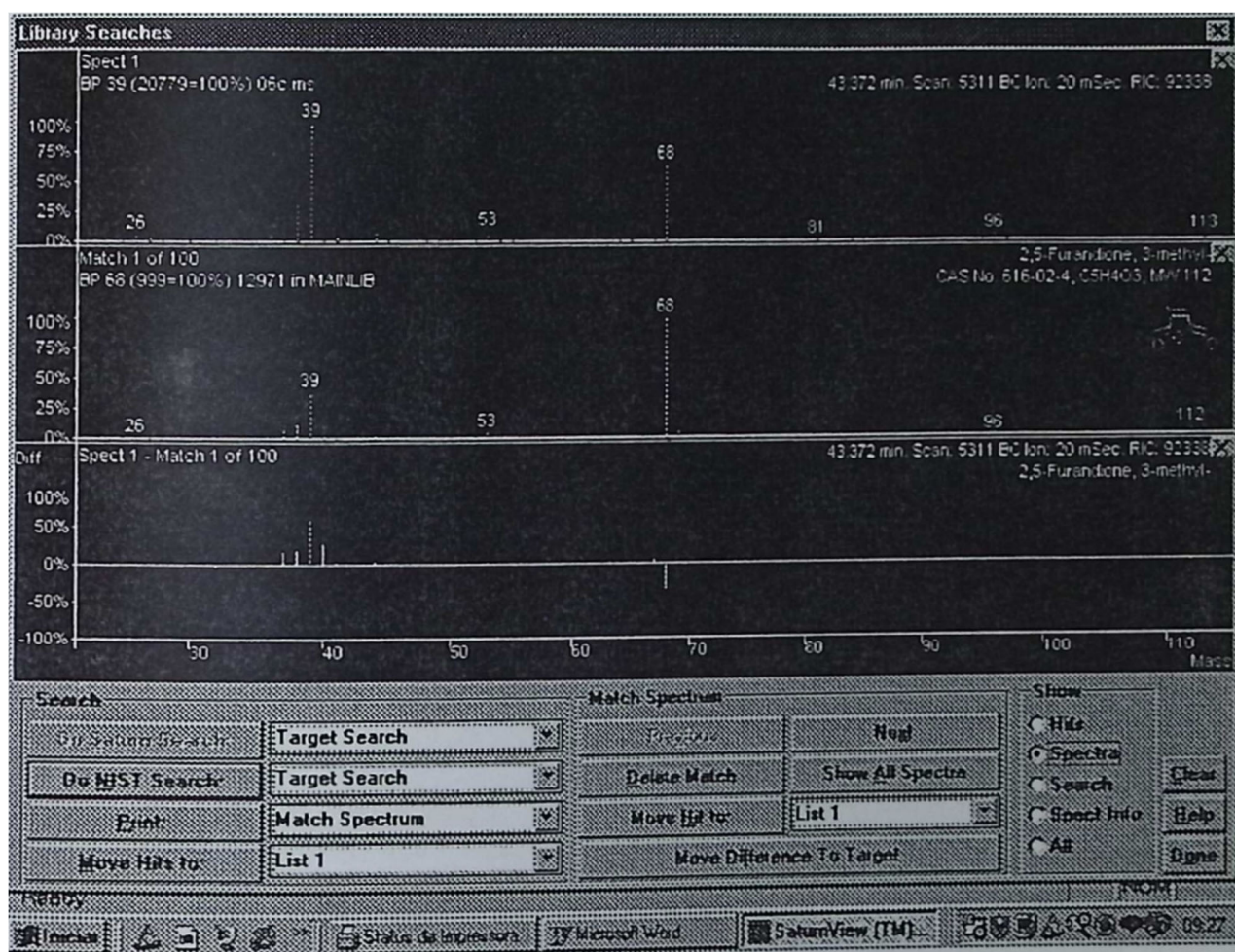


Figura 6 Espectro de Massa da 3 metil, 2,5 furanodiona

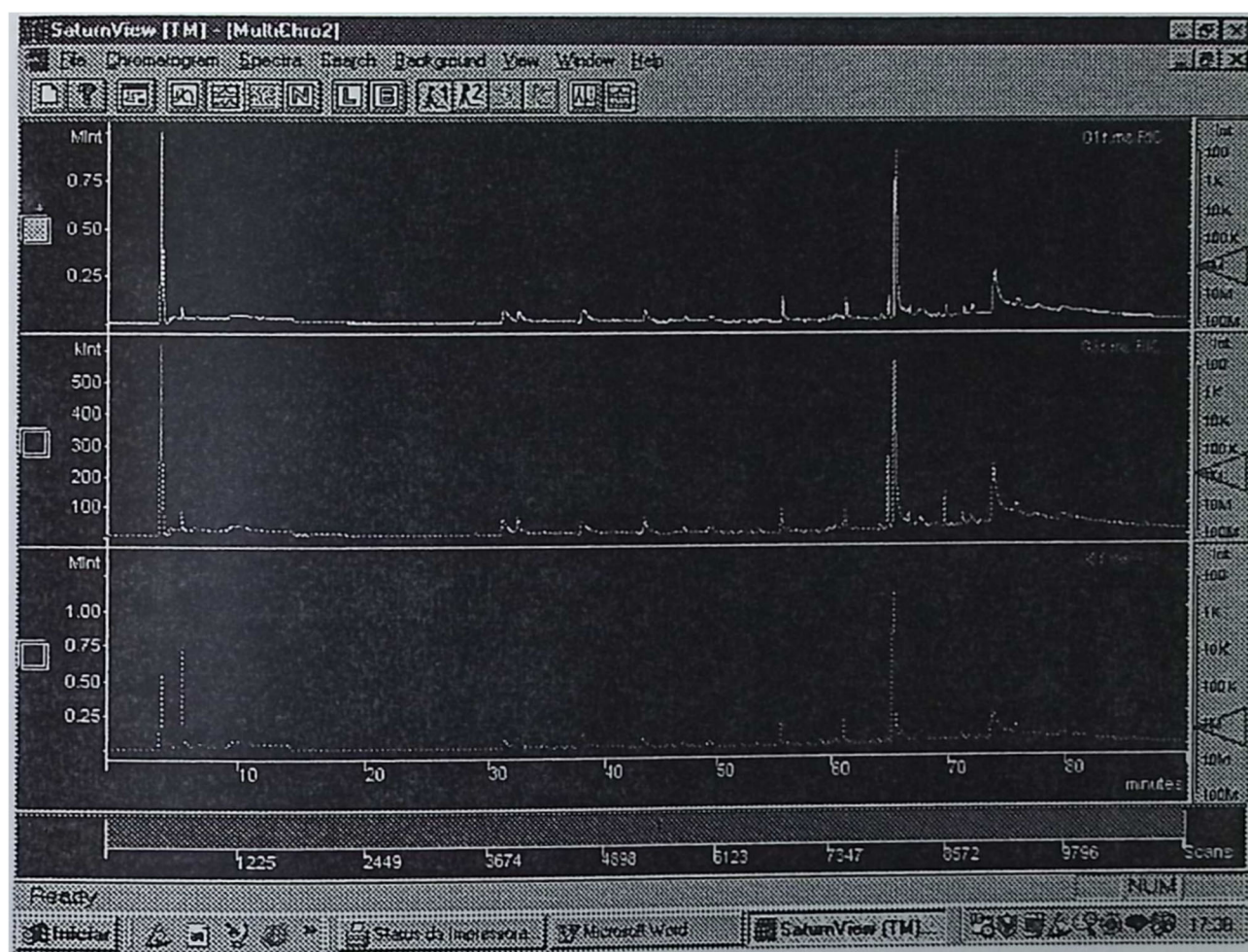


Figura 7. CIT dos Sucos Permeados em Membranas de 0,1 μ (PTM = 3,5; 4,5 e 5,5Bar)

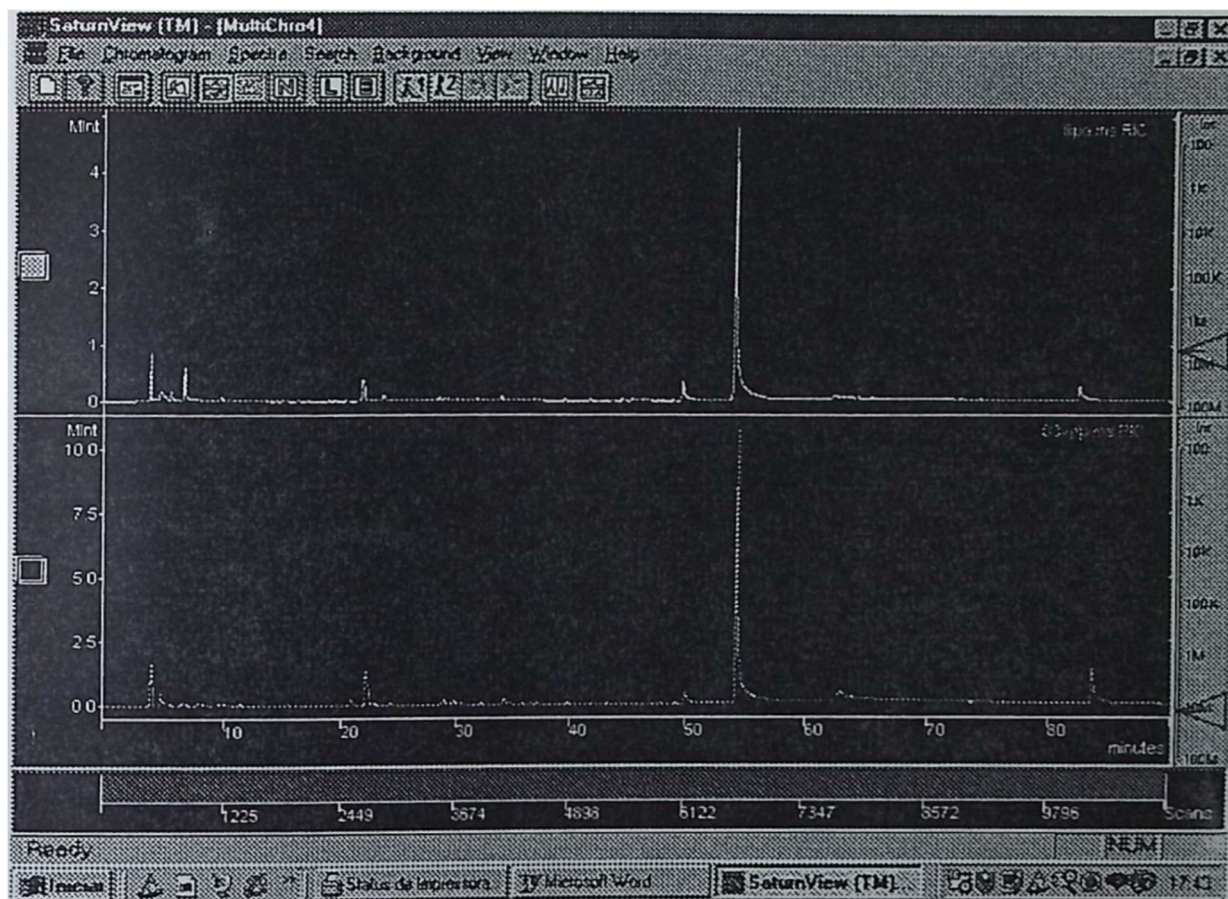


Figura 8. CIT dos Sucos Permeados em Membrana de 0,3 μ (PTM = 1,5 e 3,0Bar)

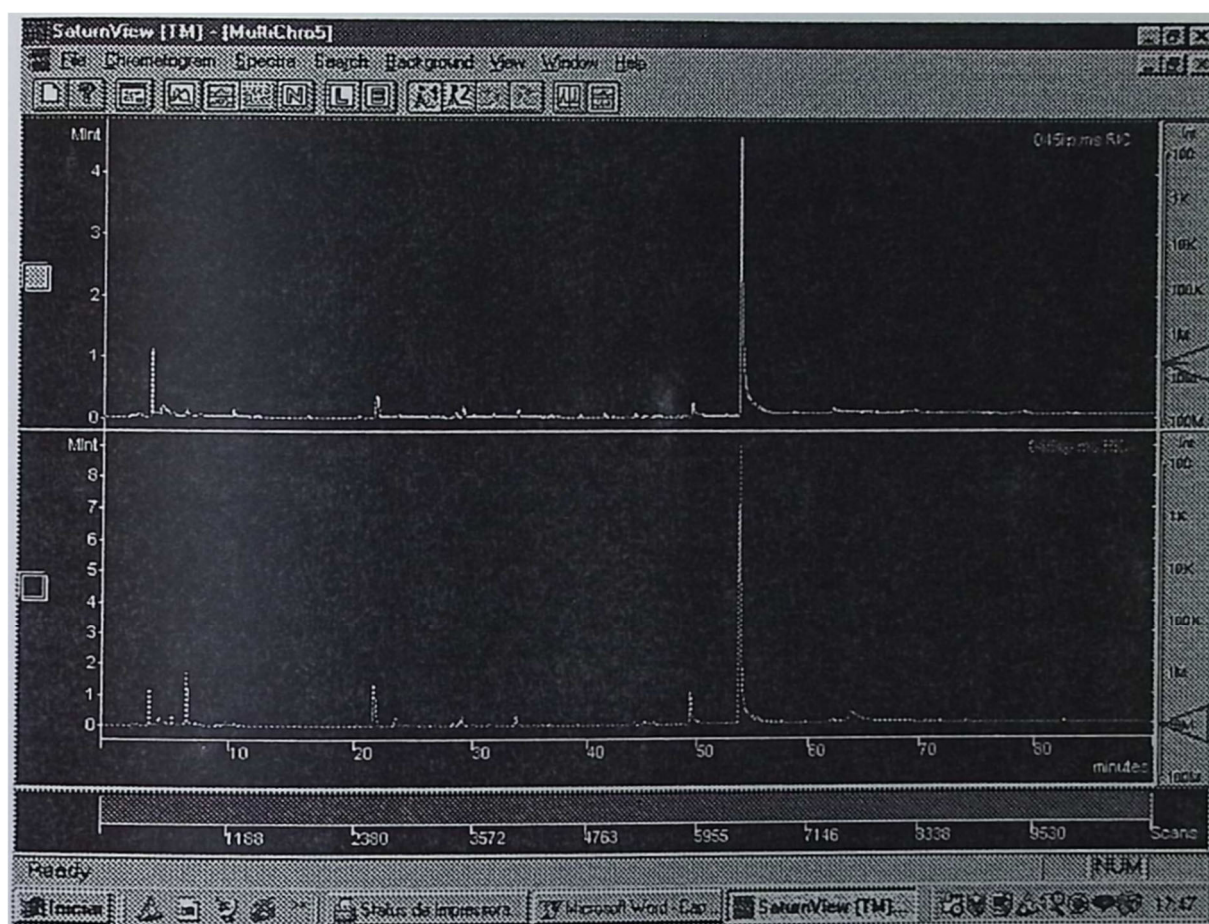


Figura 9. CIT dos Sucos Permeados em Membranas de 0,45 μ (PTM =3,0 e 4,0Bar)

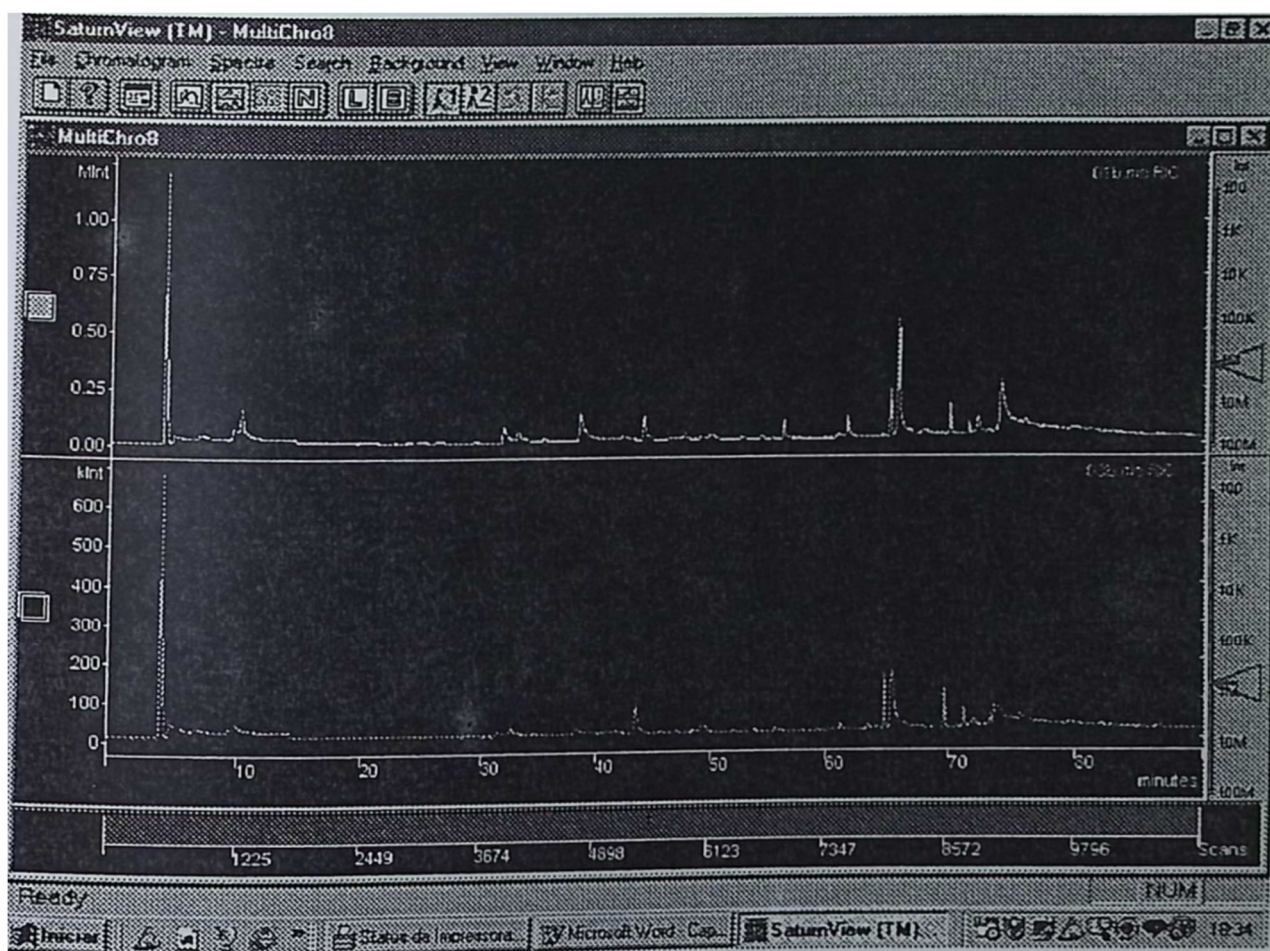


Figura 10. CIT dos Sucos Permeados em Membranas de PS de 50KDa

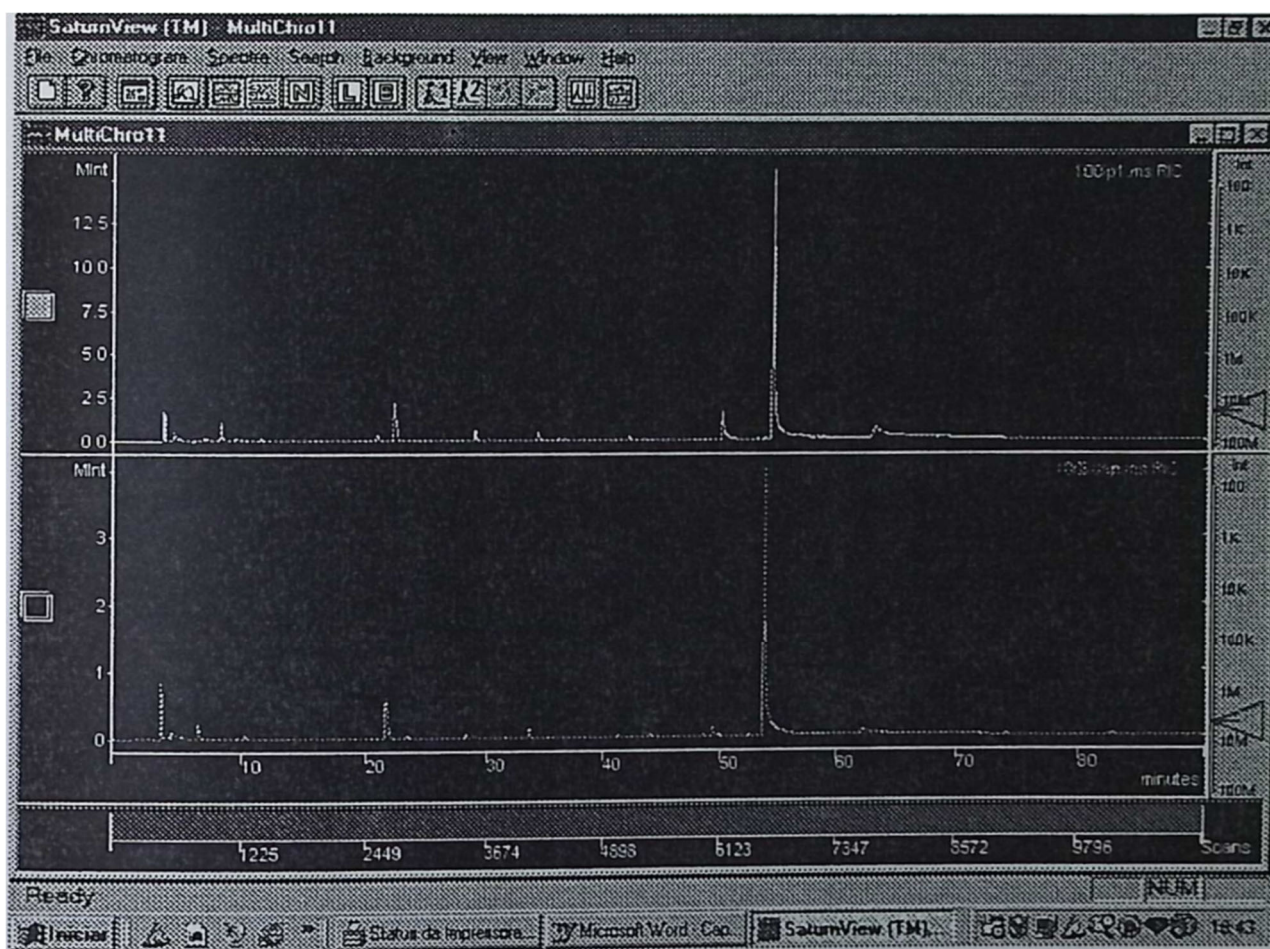


Figura 11. CIT dos Sucos Permeados em Membranas de PS de 100KDa

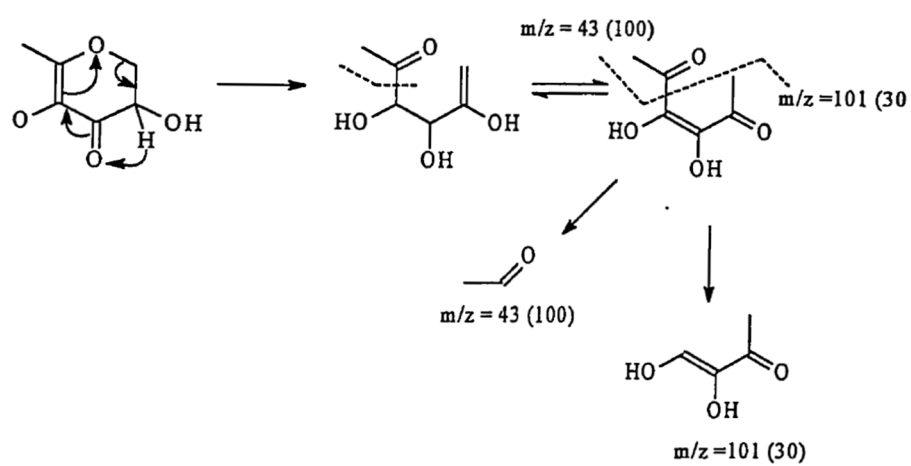


Figura 12. Fragmentação da 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil pirano-4-ona

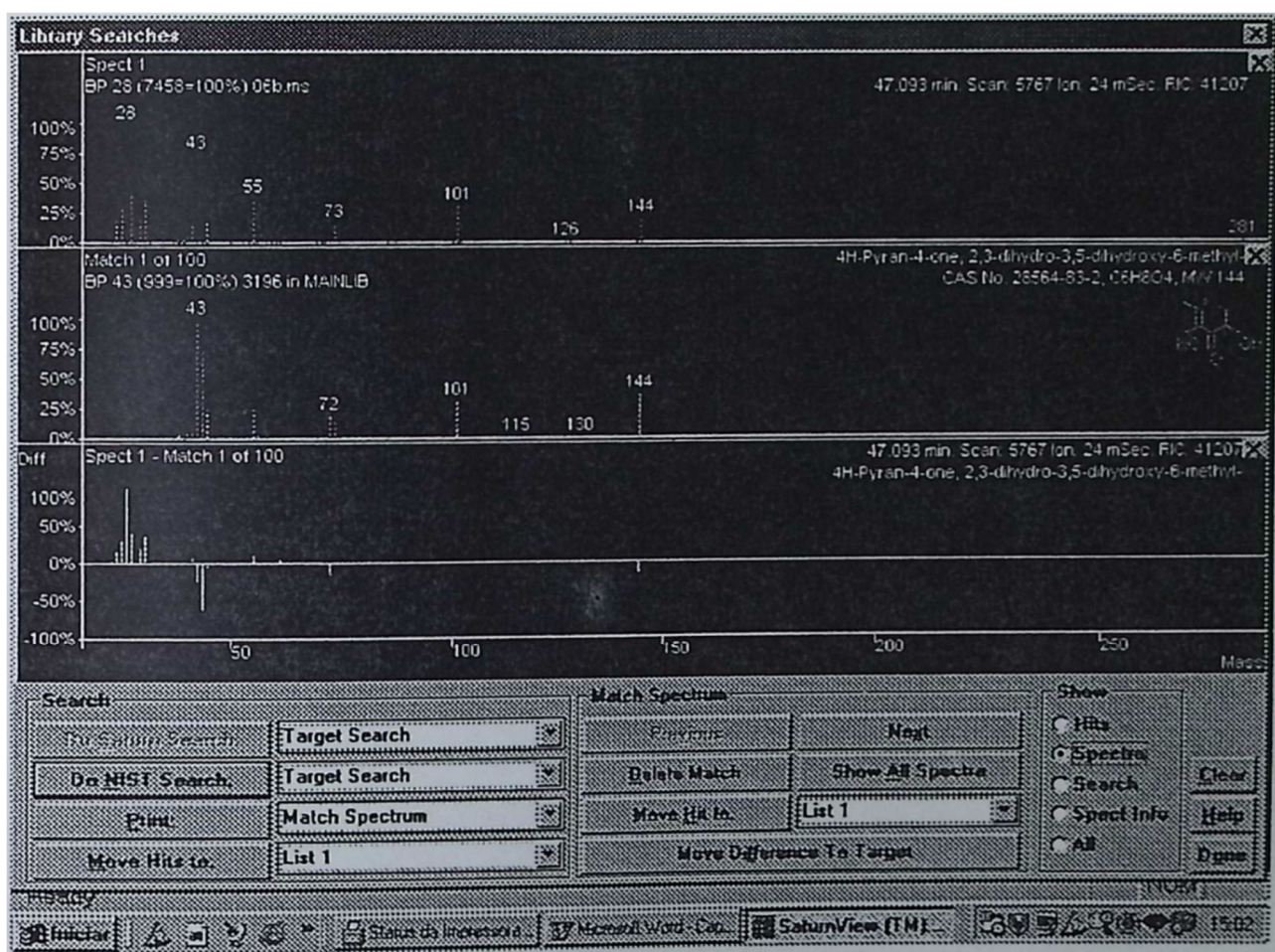


Figura 13. Espectro de massa da 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil pirano-4-ona

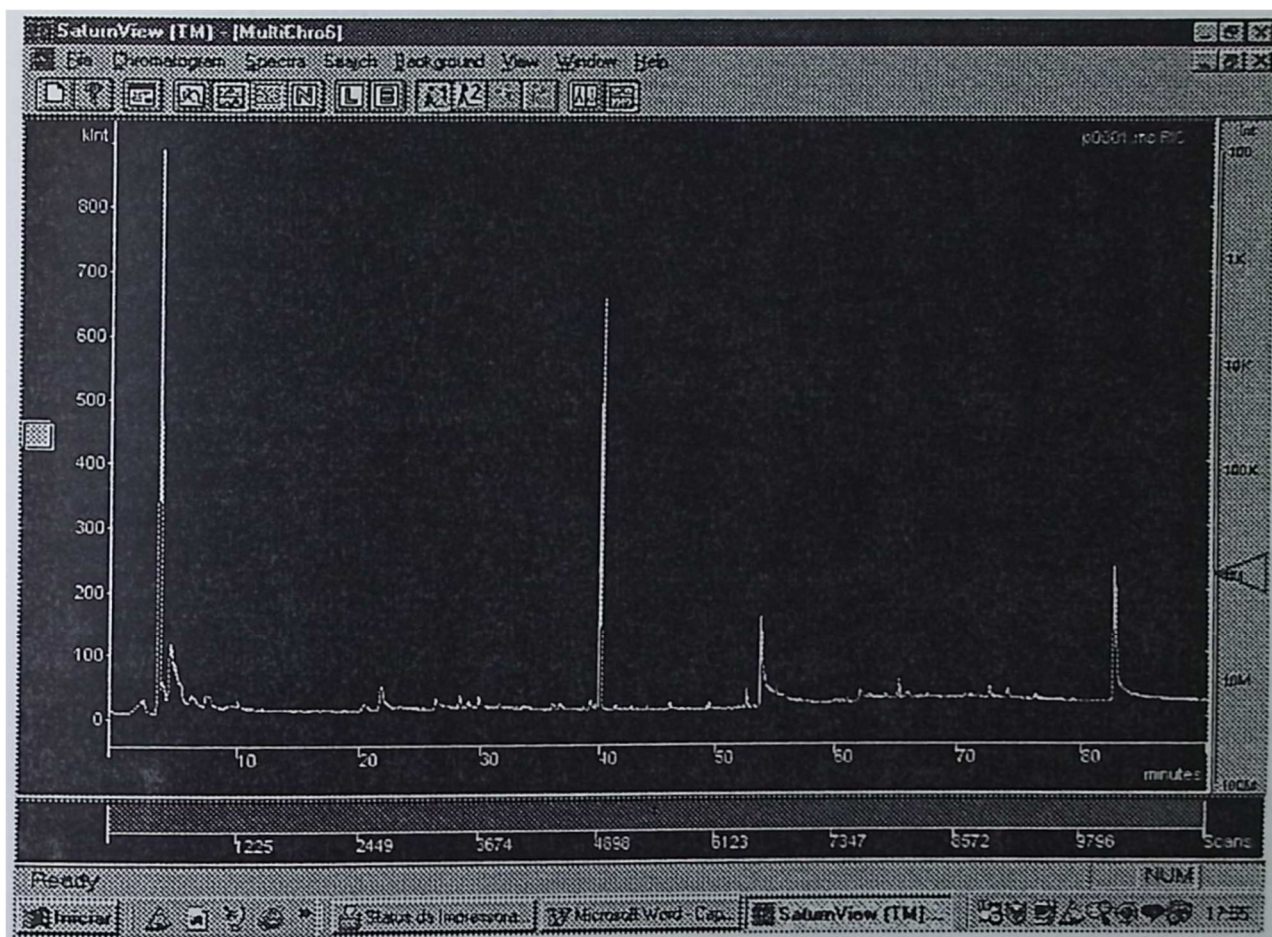


Figura 14. CIT do Suco Permeado em Membrana de PVdF de 30-80KDa

5. CONCLUSÕES

- Nas condições estudadas, pode-se concluir que a MEFS, com microfibra de polidimetilsiloxano/divinilbenzeno, foi eficiente na adsorção das substâncias voláteis presentes nos sucos de abacaxi.
- Comprovou-se redução acentuada das substâncias voláteis extraídas por MEFS nos sucos permeados provavelmente por volatilização dessas substâncias durante os processos de UF e MF.
- Os sucos de abacaxi permeados que recuperaram maior quantidade de substâncias voláteis extraídas por MEFS foram aqueles permeados em membranas de polissulfona de 0,1 μ e de 50KDa (15) seguidas pelas membranas de 0,45 μ (12) e 30-80KDa (PVdF) e 0,3 μ (PES) (11).
- Na clarificação em membranas de 100KDa (PS), apenas 7 substâncias voláteis foram identificadas, acreditando-se que essas perdas possam também ter ocorrido por evaporação durante o processo.
- De uma forma geral, foi observada uma acentuada diminuição no número de voláteis, principalmente daqueles de menor peso molecular, nos sucos permeados provenientes da clarificação no Sistema DSS – Quadro e Placas com membranas de polissulfona (PS) de 0,1, 0,45 μ , 50 e 100KDa, de polietersulfona (PES) de 0,3 μ e de fluoreto de polivinilideno (PVdF) de 30-80KDa, indiferentemente da pressão de transmembrana aplicada nos processos, conforme pôde ser observado nos cromatogramas de íons totais das amostras. Tal fato pode indicar que os fenômenos de compactação sobre a superfície das membranas, bem como a obstrução interna dos poros, seriam os fatores limitantes à passagem ou manutenção de voláteis nos sucos nela permeados.

- É provável que a hidrólise enzimática, e a pasteurização do suco, devido à exposição ao calor possam ter provocado as perdas expressivas de substâncias voláteis.
- A MEFS foi efetiva nas condições estudadas, porém, estudos com outras microfibras e outros parâmetros como: tempo de extração; tempo de dessorção e mudança de pH devem ser realizados, devido ao fato de que poucos trabalhos foram relatados em sucos de frutas e a fim de que se possa melhor comparar e avaliar sua eficiência de extração.

CAPÍTULO IV

AValiação Sensorial de Sucos de Frutas

1. INTRODUÇÃO

Os sucos de frutas são alimentos que fornecem ao organismo humano vitaminas, açúcares, sais minerais e água.

O consumidor tem preferência por uma determinada aparência, textura e sabor do alimento e, portanto, para que um novo produto seja introduzido no mercado faz-se necessário recorrer à avaliação sensorial.

KOSTER (1975) cita que o homem é utilizado como um instrumento de medida de uma maneira ambígua e que esta ambiguidade se deve principalmente porque registra suas próprias interações com o meio ambiente tanto quanto com suas propriedades. O registro depende da história do observador e de seu senso de valores ou preferências.

O objetivo deste capítulo foi avaliar a preferência do consumidor no que diz respeito aos sucos de abacaxi permeados em diferentes membranas de microfiltração (Iv1F) e ultrafiltração (UF) através do Mapa Interno da Preferência.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Mapa Interno da Preferência

Ultimamente, quando se deseja conhecer a preferência do consumidor por produtos ou matérias-primas similares, tem-se como instrumento, o Mapa Interno da Preferência, citado por MACFIE (1994); RISVIK *et al.*; DIJKSTERHUIS (1997) e CHEN-TANG *et al.*, (2000). O Mapa Interno da Preferência tem como principal vantagem sobre os demais métodos

tradicionais de preferência, o fato de não trabalhar com médias, mas considerar a preferência de cada indivíduo na avaliação dos produtos, contribuindo para que nenhuma informação seja perdida.

Segundo MACFIE *et al.*, (1988) citado por BEHRENS *et al.*, (1999) o Mapa Interno da Preferência é uma representação gráfica das diferenças de aceitação entre amostras, que permite a identificação de cada indivíduo e de sua preferência em relação às amostras analisadas. O Mapa Interno da Preferência baseia-se em um modelo vetorial e resolve uma matriz com os dados de aceitação de consumidores sobre um mesmo conjunto de amostras. O conjunto de dimensões de preferência representa as diferenças entre as amostras quanto à aceitação dos consumidores e o conjunto de vetores que mostram a direção da preferência de cada consumidor.

Recentemente, PASTOR *et al.* (1996) utilizaram o Mapa Interno da Preferência em 16 amostras de néctares de pêssgo com baixo teor de açúcar, formulando-as com 60% de purê de pêssgo; concentrações de aspartame que variaram de 0,082 a 0,922g/litro e concentrações de 0 a 4,0g/litro de goma guar. Para indicar a aceitação em relação à concentração de aspartame e de goma guar, isto é, a melhor formulação, foi utilizada a metodologia de superfície de resposta, a qual indicou a aquela contendo 0,6g/litro de aspartame e 0,6g/L de goma guar. que a seguir foi comparada a um controle formulado com açúcar (sacarose) e a amostras de néctares comerciais. O teste de aceitabilidade demonstrou que as amostras não diferiram entre si.

ARDITI (1997) avaliou a preferência por 11 tipos de nuggets de frango, utilizando 119 crianças. Os testes foram conduzidos em 3 etapas e no primeiro grupo de consumidores infantis, 43% não demonstraram preferência acentuada por nenhuma das amostras. Nos 2 últimos grupos, foi conduzido o Mapa Interno da Preferência. A característica deste caso foi

que espaço sensorial, analisado pela Análise de Componente Principal envolveu mais de 2 dimensões. A proposta deste estudo foi descrever o que escolher primeiramente: modelos de regressão entre dados sensoriais e de consumidor e, em segundo, os eixos sobre os quais representar estas regressões, utilizando o Teste de Fisher de modelos agrupados. A vantagem da aplicação do Mapa Interno da Preferência consistiu em se poder segmentar os consumidores em blocos, permitindo identificá-los entre os que não indicaram diferenças entre as amostras e os que as discriminaram. Os resultados obtidos demonstraram que os consumidores infantis do grupo 2 preferiram nuggets com pouco sabor e produtos com a camada de farelo (empanada) amarela enquanto que aqueles do grupo 3 preferiram nuggets que não se assemelham a carne de frango.

O Mapa Interno da Preferência é utilizado também com a finalidade de se examinar a intenção do público em consumir certos tipos de alimentos. MONTELEONE *et al.* (1998) examinou esta intenção em 12 pratos de alimentos amiláceos tais como: lasanha, batata cozida, assada e purê de batata, entre outros, considerando como as opiniões variavam e se agrupavam em grupos similares. De uma forma geral os consumidores preferiram pratos amiláceos que lhes eram mais familiares porém, permitiu identificar 2 subgrupos caracterizados por uma preferência para esses alimentos. Consumidores mais tradicionais preferiram pratos com batatas mais do que qualquer outro prato amiláceo e, em particular batatas assadas a batatas fritas. Em contraste, houve um outro grupo que era mais preocupado com as características nutricionais destes alimentos amiláceos que preferiram dieta com vários destes alimentos (batatas, arroz, macarrão). O grupo tradicional parece estar associado a consumidores com peso corpóreo acima do ideal e predominantemente em homens, não havendo, entretanto, uma associação que pudesse ser consistente quanto à idade ou pela medida do status sócio-econômico. A existência destes 2 subgrupos pode explicar a

necessidade de pesquisa prévia sobre percepção do consumidor em relação a alimentos amiláceos, a qual mostra opiniões divergentes sobre a importância e o desejo de aumentar o consumo destes alimentos, além do papel dos mesmos no controle de peso. Tal pesquisa tem implicações na comunicação de recomendações dietéticas.

Seis sabores de tofu e de patê de soja foram avaliados por 80 consumidores, de ambos os sexos e faixa etária variável, através do Mapa da Preferência. Os resultados gerados indicaram uma preferência pelo tofu condimentado com cebola e pelo patê sabor *catchup* (DELIZA *et al.*, 1998).

Em 1999, ELMORE *et al.* investigaram a aceitação de textura em 8 tipos de pudins quanto à consistência, recobrimento na boca, taxa de liquefação e maciez, formulados com diferentes concentrações e tipos de amido, concentrações de gordura de leite e de sais de sódio através do Mapa Interno da Preferência. A consistência pareceu importante para a aceitação dos consumidores para textura cremosa.

No que diz respeito à sucos, néctares, polpas de frutas e bebidas de uma forma geral, poucos trabalhos foram publicados.

BEHRENS *et al.*, (1999) avaliaram a aceitação de vinhos brancos brasileiros pelo Mapa Interno da Preferência e pela Análise de Variância. Os resultados obtidos revelaram que 86% dos consumidores preferiam vinhos brancos suaves e apenas 14% preferiam vinhos brancos secos e *demi-sec*.

CARDELLO & FARIA (2000) utilizaram o Mapa Interno da Preferência a fim de avaliarem a aceitação de 11 amostras de aguardente de cana envelhecidas ou não. Os resultados encontrados revelaram que as amostras envelhecidas mais de 24 meses em tonel de carvalho obtiveram a preferência do consumidor. As amostras preferidas apresentaram maior intensidade de cor e compostos fenólicos.

COSTELL *et al.* (2000) utilizaram o Mapa Interno da Preferência para avaliar a aceitação de 8 néctares de pêssego. As 3 primeiras dimensões de preferência mostraram aceitação do produto em 91,2% dos consumidores. De acordo com a aceitação dos consumidores, 4 sub grupos foram formados. A primeira dimensão relacionou-se à doçura e à detecção de *off-flavors*. A segunda dimensão era relacionada à acidez e à textura e a terceira foi definida pela intensidade do aroma e sabor, sabor de pêssego e sabor artificial ou de cozido. Baseados nos resultados obtidos com o teste, foram estabelecidos critérios de preferência de cada sub grupo de consumidores.

CARROL (1972) definiu o Mapa Externo da Preferência como uma escala multidimensional na qual a preferência do consumidor está representada, nos permitindo entender quais os atributos sensoriais irão influenciar nessa preferência e também como identificar aberturas (lapsos, espaços) no mercado consumidor, fornecendo uma ligação potencial entre os padrões de preferência do consumidor e as propriedades sensoriais percebidas por um painel de provadores treinados (ANDANI & MACFIE, 1998).

GUINARD *et al.* (2001) investigaram através dos Mapas Interno e Externo da Preferência, a preferência para 24 cervejas tipo *lager*, utilizando 170 consumidores em 6 categorias de idade entre 20, 30 e 40 anos e sexo (masculino e feminino) quanto aos atributos de sabor seguidos pelo conhecimento da marca e preço. O Mapa Interno da Preferência revelou diferenças na preferência dos consumidores onde alguns preferiram cervejas nacionais e *ice beers* e outros preferiram cervejas especiais ou aquelas importadas. Os escores hedônicos revelaram mudanças significativas quando o consumidor era informado ou não sobre as condições de sabor, particularmente aqueles na faixa de idade de vinte anos.

2.2. Testes Sensoriais Aplicados a Sucos de Frutas

Os métodos sensoriais são, nos dias de hoje, uma ferramenta valiosa quando se deseja conhecer a preferência, bem como para identificar diferenças entre produtos alimentícios. Dependendo do tipo de avaliação que se deseja executar um teste será o mais indicado. Pode-se citar os analíticos discriminativos : sensibilidade e diferença sendo estes últimos mais utilizados. Os testes de diferença são divididos em 2 grupos: testes diferença total (triangular e duo-trio) onde se avalia a diferença entre as amostras como um todo e testes de diferença do atributo (pareado e comparação múltipla) para detectar uma característica ou atributo específico (MODESTA, 1994).

Podendo-se citar como exemplo, DEVER *et al.* (1992) avaliaram os efeitos sobre as características química e sensorial de variedades de maçã McIntosh e Spartan durante a maturação e em frutos maduros. O suco foi extraído de frutos colhidos a intervalos de sete semanas começando três a quatro semanas antes da colheita comercial e também de frutos estocados com aeração a 1°C. A concentração interna de etileno e o teor de amido foram usados como índices de maturidade. Análises dos principais componentes do suco (pH, acidez titulável, ácidos orgânicos, sólidos solúveis, açúcares, fenol, turbidez, cor por Hunterlab) mostraram efeitos distintos da maturação sobre as características dos sucos extraídos de frutos imediatamente após a colheita e após o armazenamento refrigerado. O teste triangular mostrou que diferenças de aroma e sabor foram observadas, em ambas as variedades, quando a concentração interna de etileno foi maior que 0,1 microlitros/litro e pela hidrólise do amido (índice de amido 3,0 - 5,0 para a McIntosh e 1,5 - 3,0 para a Spartan), ou após 2-3 meses de armazenamento refrigerado. O perfil sensorial dos sucos quanto ao aroma frutoso, aroma total, sabor da fruta, doçura e adstringência mostrou aumento de intensidade no sabor de fruta e doçura e decréscimo na adstringência de acordo com o tempo de maturação.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Amostra

Suco de abacaxi comercial diluído e 12 amostras de sucos permeados nos processos de Microfiltração (MF) e Ultrafiltração (UF) foram utilizadas na avaliação sensorial pelo Mapa Interno da Preferência e quanto à doçura e diluição. Na Tabela 29, encontram-se os códigos das amostras dos sucos de abacaxi comercial diluído (controle) e dos permeados e sua identificação.

Tabela 29. Amostras dos Sucos de Abacaxi (Controle e Permeados)

Código da Amostra	Identificação Tamanho do Poro - PTM
A1	Controle – suco de abacaxi comercial diluído
A2	0,45 μ - 4,0Bar
A3	50KDa - 7,5Bar
A4	50KDa - 6,0Bar
A5	0,3 μ - 3,0Bar
A6	0,3 μ - 1,5Bar
A7	0,1p. - 3,5Bar
A8	0,1 μ - 4,0Bar
A9	0,1 μ - 5,5Bar
A10	100KDa - 7,5Bar
A11	100KDa - 6,0Bar
A12	30-80KDa - 1,5Bar
A13	0,45 μ - 3,0Bar

3.2. Análise Sensorial

3.2.1. Teste Preliminar

Visando identificar se a diluição e doçura do suco de abacaxi tanto da amostra controle (produto comercial) como das 12 amostras de suco de abacaxi clarificado estavam adequadas, foi realizado teste sensorial por uma equipe de 7 provadores selecionados e treinados.

Amostra do produto comercial foi preparada, segundo recomendações contidas no rótulo do produto e, avaliada pela equipe para verificar a adequação quanto à doçura e diluição. Semelhantemente, os sucos permeados (clarificados) foram avaliados a fim de verificar se os mesmos estavam prontos para consumo ou se necessitariam de diluição.

3.2.2. Mapa Interno da Preferência

A partir dos resultados obtidos no teste preliminar, foi realizado o Teste de Preferência com 104 consumidores de suco de frutas. Participaram do estudo 36 homens e 68 mulheres, de diferentes classes sócio – econômicas, com idades variando de 18 a 60 anos. A ordem de apresentação das 13 amostras foi monádica seguindo um delineamento estatístico de blocos completos de MACFIE *et al.* (1989).

Os produtos foram avaliados através da escala hedônica de 9 pontos variando de “desgostei extremamente” a “gostei extremamente”, realizado em 3 sessões para cada consumidor, sendo as 2 primeiras com 4 amostras cada e a última sessão com 5 amostras. O modelo da ficha encontra-se no Quadro 5.

As amostras foram mantidas a 8° C e apresentadas aos consumidores em copos plásticos transparentes com capacidade para 50mL. Os testes foram conduzidos no Laboratório de Análise Sensorial da EMBRAPA – Agroindústria de Alimentos, em cabines individuais de prova, com luz branca a fim de proporcionar a visualização das amostras

quanto à aparência. Os consumidores utilizaram água mineral para lavar o palato entre uma amostra e outra.

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente através do Mapa Interno da Preferência (GREENHOOF & MACFIE, 1994) utilizando o programa SAS (1995).

Quadro 5. Modelo da Ficha de Avaliação da Preferência dos Sucos de Abacaxi

Nome:	Amostra:	Data:
Por favor, prove a amostra e marque na escala abaixo o quanto você gostou do suco.		
☐ desgostei extremamente	☐ desgostei muito	☐ desgostei moderadamente
☐ desgostei ligeiramente	☐ não gostei nem desgostei	☐ gostei ligeiramente
☐ gostei moderadamente	☐ gostei muito	☐ gostei extremamente
Por favor, dê sua opinião em relação às seguintes características:		
Diluição do suco: ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐		
☐ muito diluído		☐ ideal
muito concentrado		
Doçura: ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐		
☐ pouco doce		☐ ideal
muito doce		
O que você mais gostou neste suco? _____		
O que você mais desgostou neste suco? _____		

3.2.3. Diluição e Doçura

A diluição e a doçura das amostras foram avaliadas através de escala relativo ao ideal, conforme DELIZA (1996), variando de “muito diluído” a “muito concentrado”, passando pelo ideal. Semelhantemente, a doçura foi avaliada de “pouco doce” a “muito doce” e passando pelo ideal. Os dados foram avaliados através da Análise de Variância, a um nível de significância de 5% e, pelo Teste t, a fim de determinar a diferença entre as médias obtidas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação Sensorial

4.1.1. Teste Preliminar

Após o teste preliminar com 7 provadores treinados para se determinar se os produtos estavam adequados para o Teste de Preferência, a diluição do suco de abacaxi comercial foi ajustada em uma parte de suco para duas partes de água filtrada + 16g de açúcar refinado para um volume total de 600mL, não tendo sido necessária a diluição das amostras de suco de abacaxi clarificado (permeado).

4.1.2. Mapa Interno da Preferência

Nos Mapas Internos da Preferência 1 e 2, a amostra de suco comercial diluído foi incluída, havendo uma menor preferência pelo mesmo, isto é, obteve menor nível de aceitação. A distribuição e avaliação, quanto à preferência, dos 104 consumidores, representados por cada ponto da Figura 15, para as 13 amostras de sucos comercial diluído e aqueles permeados em membranas de microfiltração e ultrafiltração. Observa-se que a preferência está direcionada para os quadrantes superior e inferior direitos, onde se localizam o maior número de consumidores.

Na Figura 16, pode-se observar a distribuição das amostras de suco comercial diluído e dos sucos permeados quanto à preferência. As amostras de suco permeado A10, A11, A12 e A4 foram as mais preferidas e provenientes de sucos permeados em membranas de 100KDa (6,0Bar); 30-80KDa (1,5Bar); 0,45 μ (3,0Bar) e 0,3 μ (3,0Bar), respectivamente.

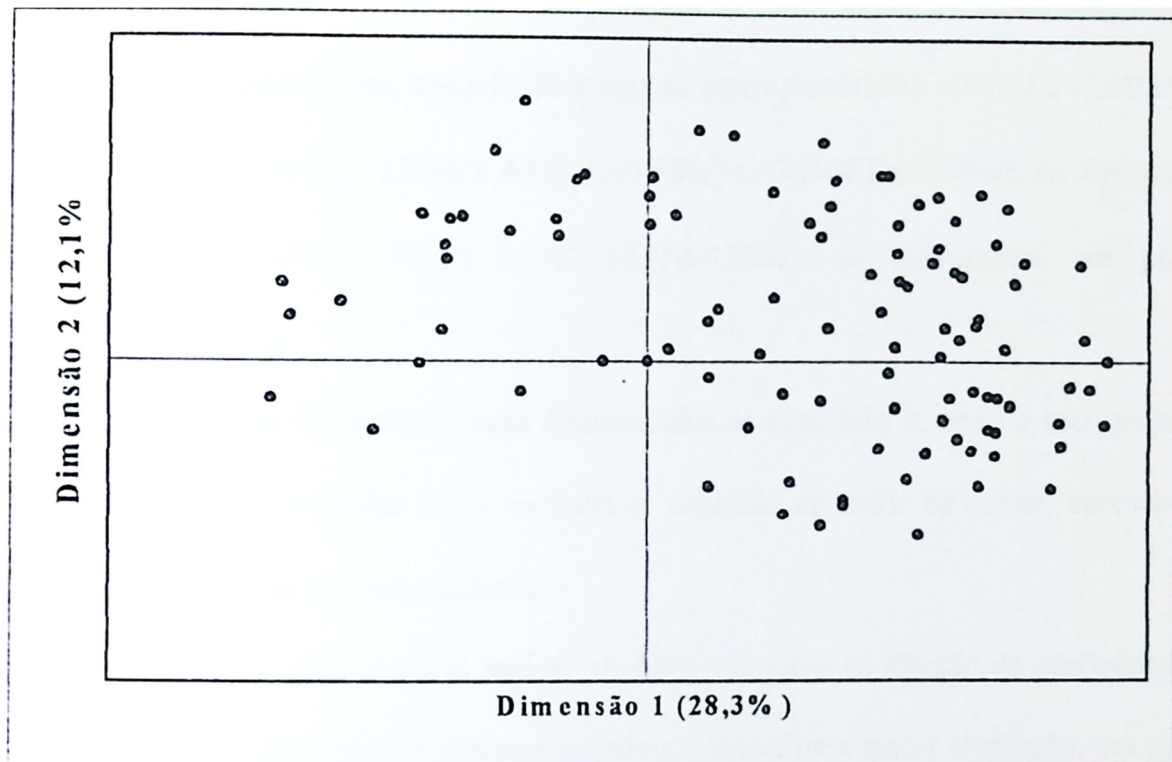


Figura 15. Mapa Interno da Preferência Mostrando a Avaliação dos Consumidores que Participaram do Estudo com 13 amostras.

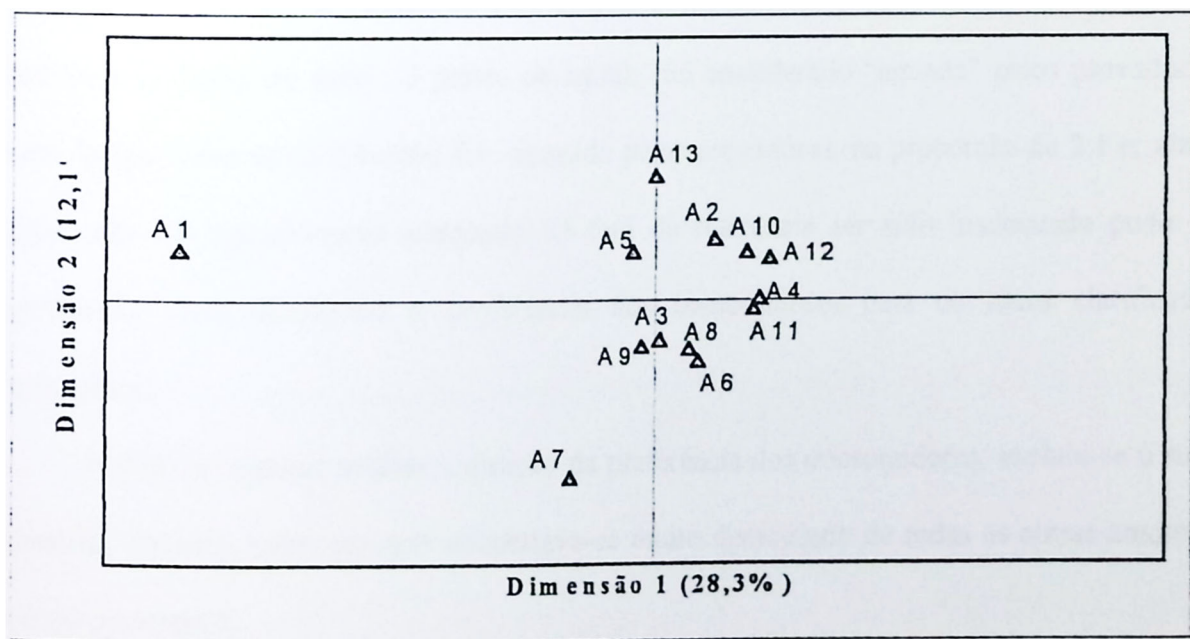


Figura 16. Mapa Interno da Preferência Mostrando a Posição das 13 amostras de Suco de Abacaxi

A amostra de suco de abacaxi comercial diluído (A1), observando o Mapa da esquerda para a direita, encontra-se bem distanciada de todas as outras amostras, tendo sido a menos preferida pelos consumidores, seguido do grupo de sucos permeados A7 (0,1 μ -3,5Bar); A5 (0,3 μ -3,0Bar); A13 (0,45 μ -3,0Bar); A9 (0,1 μ -5,5Bar) e M (50KDa-7,5Bar). As amostras A8 (0,1 μ -4,0Bar), A6 (0,3 μ -1,5Bar) e A2 (0,45 μ -4,0Bar), se localizaram em posição intermediária no Mapa.

Os consumidores também estão diferenciados na dimensão 2, onde o suco permeado em membrana de 0,1 μ -3,5Bar (A7), encontra-se separado de todos os outros, apresentando menor preferência para os consumidores.

Embora tenha sido possível indicar produtos que estão na direção da preferência dos consumidores, a similaridade de algumas amostras impediu uma maior separação, em relação à preferência dos consumidores. A menor nota foi atribuída ao suco comercial, o que deve ser interpretado com cautela uma vez que, quando preparado na diluição segundo instruções do fabricante (1 parte de suco : 3 partes de água), foi considerado “aguado” pelos provadores. Desta forma, uma nova diluição foi ajustada pelos provadores, na proporção de 2:1 e, ainda assim, não foi considerado adequado. O fato de a referência ter sido inadequada pode ter contribuído para direcionar a preferência dos consumidores para os sucos clarificados (permeados).

A fim de melhor avaliar a direção da preferência dos consumidores, excluiu-se o suco comercial diluído, uma vez que se encontrava muito distanciado de todas as outras amostras de suco permeado.

Os Mapas Internos da Preferência apresentados nas Figuras 17 e 18, mostram a distribuição dos 104 consumidores e a direção da preferência destes, respectivamente, pelas 12 amostras de suco permeado.

A distribuição dos 104 consumidores no Mapa Interno da Preferência (Figura 17), revelou a mesma tendência, isto é, a maioria deles encontrava-se agrupada e direcionada aos quadrantes superior e inferior direitos. Observa-se também que, quando a amostra de suco comercial diluído (controle) foi excluída, a amostra A6, correspondendo ao suco de abacaxi permeado em membrana de polissulfona de $0,1\mu$ (3,5Bar), encontrava-se em posição bem mais distanciada das outras 11 amostras e, conseqüentemente foi a menos preferida, conforme Figura 18.

O Mapa da Preferência (Figura 18), revelou que as amostras de suco de abacaxi permeado A3 (50KDa - 6,0Bar); A12 ($0,45\mu$ - 3,0Bar), A11 (30-80KDa - 1,5Bar), A10 (100KDa - 6,0Bar), A9 (100KDa - 7,5Bar), A1 ($0,45\mu$ - 4,0Bar) e A4 ($0,3\mu$ - 3,0Bar) se encontravam-se bem agrupadas.

Por outro lado, as amostras de suco de abacaxi permeado A5 ($0,3\mu$ -1,5Bar) e A7 ($0,1\mu$ -4,5Bar), mostraram igual preferência dos consumidores, podendo-se observar que se encontram bem próximas e agrupadas, preferidas numa mesma intensidade, porém menor do que as anteriormente citadas. As amostras dos sucos de abacaxi permeados A2 (50KDa-7,5Bar) e A8 ($0,1\mu$ -5,5Bar) ficaram bem distanciadas entre si, bem como das outras amostras, estando também direcionadas e isoladas nos quadrantes superior e inferior esquerdos.

A menor preferência não significa, neste caso, rejeição ao produto, podendo-se considerar os consumidores que preferiram as amostras A5; A7; A2. e A8, como potenciais consumidores de produtos desenvolvidos à base de suco de abacaxi.

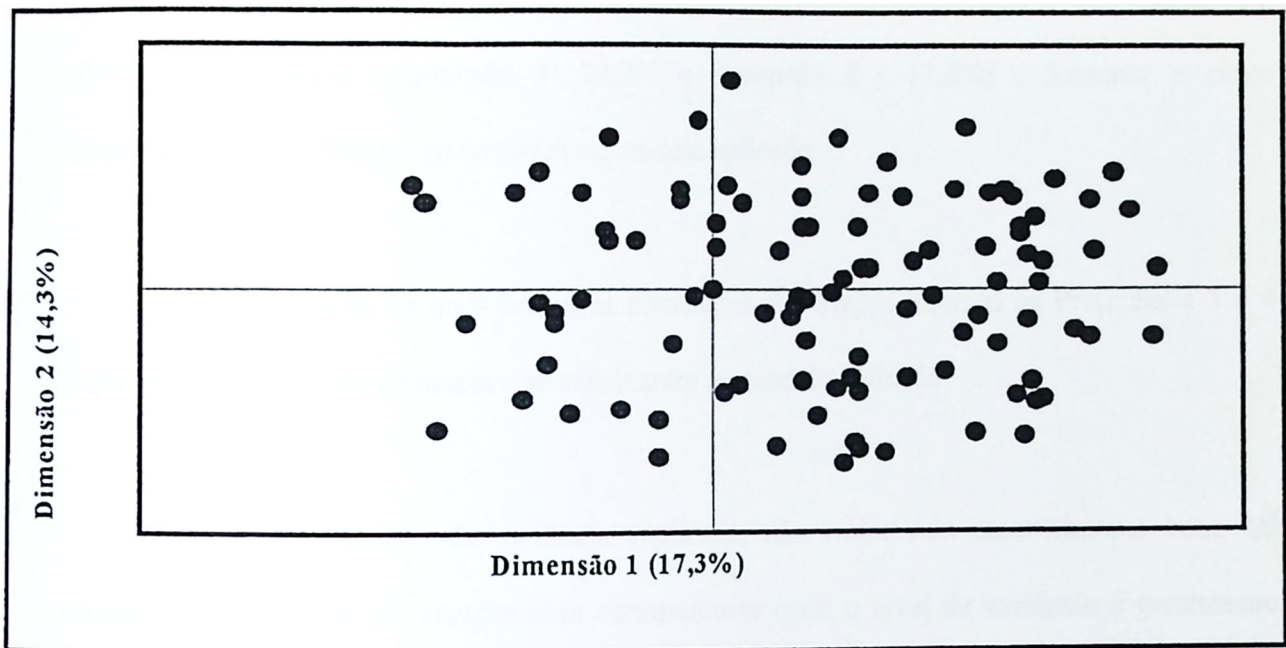


Figura 17. Mapa Interno da Preferência Mostrando a Avaliação dos Consumidores que Participaram do Teste com 12 Amostras

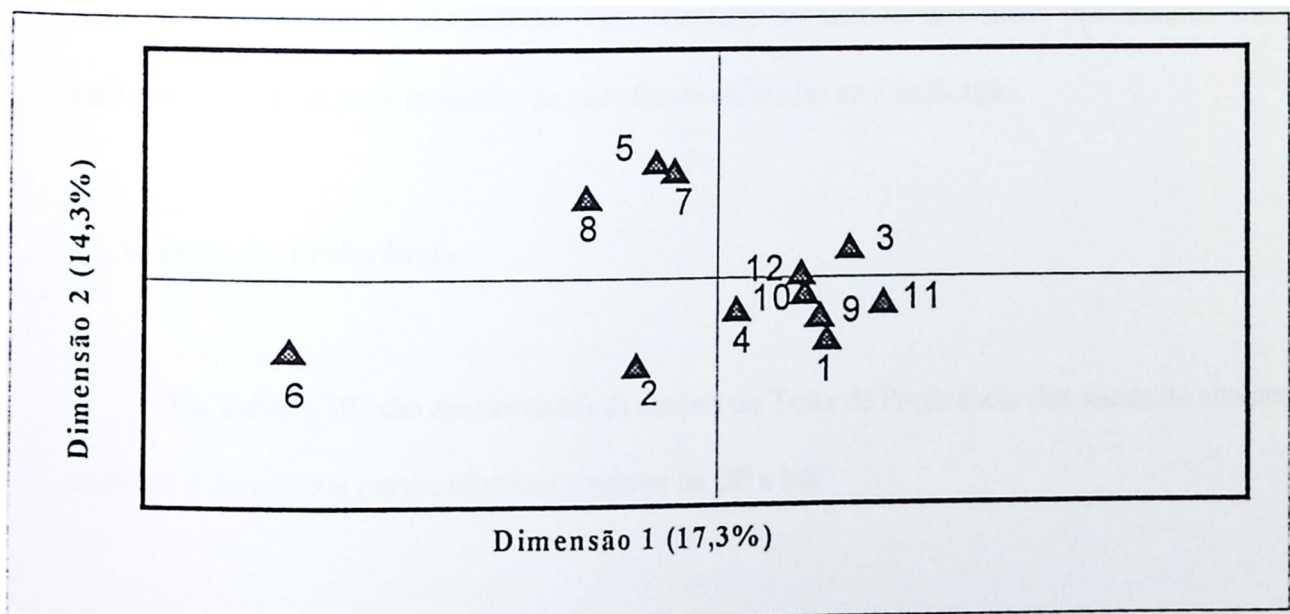


Figura 18. Mapa Interno da Preferência Mostrando a Posição das 12 Amostras de Suco de Abacaxi

As duas primeiras dimensões dos Mapas Internos da Preferência 1 e 2 explicaram 40,6% da variância (dimensão 1: 28,2% e dimensão 2: 12,4%). Sessenta e cinco consumidores (62,5%) se encaixaram no modelo aplicado.

Por outro lado, as duas primeiras dimensões dos Mapas Internos da Preferência 3 e 4 explicaram 31,6% da variância e se encaixaram no modelo aplicado.

Embora o modelo da variância explicada, não tenha sido especialmente bom, tal resultado é esperado em estudos com consumidores onde o nível de variância é geralmente alto, uma vez que se trata de indivíduos não treinados (MONTELEONE *et al.*, 1998). Neste caso, a preferência do consumidor está orientada no sentido dos sucos processados onde membranas com menor tamanho de poro foram utilizadas na clarificação.

4.1.3. Teste de Preferência

Na Tabela 30, são apresentadas as médias do Teste de Preferência dos sucos de abacaxi controle e dos sucos permeados nos sistemas de UF e MF.

Os resultados obtidos revelaram que as amostras A13 (0,45 μ -3,0Bar) e A12 (30-80K.Da - 1,5Bar) não diferem entre si, bem como A9 (0,1 μ - 5,5Bar), A8 (0,1 μ - 4,5Bar), A7 (0,1 μ - 3,5Bar), A5 (0,3 μ - 3,0Bar) e, k3 (50KDa - 7,5Bar), significando que as escolhas dos consumidores variaram de “desgostei ligeiramente” a “gostei ligeiramente”. Apenas a amostra controle diferiu entre todas aquelas de suco de abacaxi permeado.

Tabela 30. Médias do Teste de Preferência dos Sucos de Abacaxi Controle e dos Permeados

Amostra	Médias	Desvio - Padrão
A1 - Controle	3,9 ^c	
A2 - 0,45μ - 4,0Bar	5,6 ^a	1,88
A3 - 50KDa - 7,5Bar	4,9 ^{ab}	1,88
A4 - 50KDa - 6,0Bar	5,6 ^a	1,76
A5 - 0,3μ - 3,0Bar	5,1 ^{ab}	1,81
A6 - 0,3μ - 1,5Bar	5,0 ^{bc}	2,01
A7 - 0,1g - 3,5Bar	4,5 ^{ab}	1,94
A8 - 0,1μ - 4,5Bar	5,1 ^{ab}	1,96
A9 - 0,1μ - 5,5Bar	5,2 ^{ab}	1,84
A10 - 100KDa - 7,5Bar	5,6 ^a	1,77
A11 - 100KDa - 6,0Bar	5,5 ^a	1,91
A12 - 30-80KDa - 1,5Bar	5,5 ^a	1,84
A13 - 0,45μ - 3,0Bar	5,6 ^a	1,78
q	4,68	
F	7,54	

* letras iguais não diferem entre si

*letras diferentes diferem entre si a um nível de 5%

Quanto à preferência dos sucos de abacaxi permeados, isto é, excluindo-se o suco controle, os valores das médias obtidas são encontrados na Tabela 31, tendo sido encontrada diferença significativa, ao nível de 5%, nas amostras A1; A3; A8; A9; A10; A11 e A12. Não houve diferença significativa quanto à preferência entre as amostras A2; A4; A5 e A7, quando comparadas com a A6.

A maior preferência dos consumidores por alguns sucos permeados, conforme os resultados obtidos no Mapa Interno da Preferência, encontra-se diretamente relacionada ao número de substâncias voláteis neles encontradas onde, nos sucos permeados em membranas de menor tamanho de poro foram identificadas um maior número dessas substâncias.

Tabela 31. Médias do Teste de Preferência com os Sucos de Abacaxi Permeados

Amostra	Médias	Desvio - Padrão
A1 - 0,45 μ - 4,0Bar	5,6 ^a	1,88
A2 - 50KDa - 7,5Bar	4,8 ^{ab}	1,88
A3 - 50KDa - 6,0Bar	5,6 ^a	1,76
A4 - 0,3 μ - 3,0Bar	5,0 ^{ab}	1,81
A5 - 0,3 μ - 1,5Bar	5,0 ^{ab}	2,01
A6 - 0,1 μ - 3,5Bar	4,5 ^b	1,94
A7 - 0,1 μ - 4,5Bar	5,1 ^{ab}	1,96
A8 - 0,1 μ - 5,5Bar	5,2 ^a	1,84
A9 - 100KDa - 7,5Bar	5,6 ^a	1,77
A10 - 100KDa - 6,0Bar	5,5 ^a	1,91
A11 - 30-80KDa -1,5Bar	5,5 ^a	1,84
A12 - 0,45 μ - 3,0Bar	5,6 ^a	1,78
q	4.62	
F	3.96	

* letras iguais não diferem entre si

*letras diferentes diferem entre si a um nível de 5%

4.1.3.1. Avaliação do Grau de Doçura e Diluição

Quanto ao grau de doçura, observou-se que foram detectadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras de suco permeado e, ao mesmo nível, quando as amostras foram comparadas ao suco de abacaxi comercial diluído.

Na Tabela 32, podem ser observadas as médias das notas atribuídas pelos consumidores aos sucos comercial diluído e aos permeados quanto à diluição e doçura e respectivos desvios-padrão. O suco de abacaxi comercial diluído obteve a menor pontuação quanto aos atributos de doçura e diluição. As amostras A2 (0,45 μ -4,0Bar); A12 (30-80KDa-1,5Bar); A4 (50KDa-6,0Bar) apresentaram valores bem próximos à diluição ideal (5), enquanto que as amostras A8 e A10 (0,1 μ -4,5Bar e 100KDa-7,5Bar); A9 (0,1 μ -5,5Bar); A11 (100KDa-6,0Bar); A6 (0,3 μ -1,5Bar); A3 (50KDa-7,5Bar) e A5 (0,3 μ -3,0Bar), apesar de terem obtido escores maiores que 4 encontram-se mais distanciadas do ideal, isto é, a diluição

deveria ser menor. A amostra A7 (0,1 μ -3,5Bar) obteve o menor escore. Os resultados estatísticos mostraram que todas as amostras apresentaram diferenças significativas quanto à diluição ao nível de 5%.

Tabela 32. Médias do Teste de Relativo ao Ideal quanto à Doçura e Diluição dos Sucos de Abacaxi Controle e dos Permeados

Amostra	Doçura	Desvio-Padrão	Diluição	Desvio-Padrão
A1 - Controle	2,9 ^b	1,57	3,0 ^b	1,91
A2 - 0,45 μ - 4,0Bar	5,2 ^a	1,73	4,4 ^a	1,57
A3 - 50KDa - 7,5Bar	4,6 ^a	1,91	4,0 ^a	1,91
A4 - 50KDa - 6,0Bar	4,9 ^a	1,49	4,3 ^a	1,70
A5 - 0,3 μ - 3,0Bar	4,7 ^a	1,83	4,0 ^a	1,87
A6 - 0,3 μ - 1,5Bar	4,8 ^a	1,91	4,1 ^a	1,95
A7 - 0,1 μ - 3,5Bar	4,5 ^a	2,02	3,9 ^a	1,90
A8 - 0,1 μ - 4,5Bar	4,7 ^a	1,86	4,7 ^a	1,61
A9 - 0,1 μ - 5,5Bar	5,0 ^a	1,69	4,7 ^a	1,78
A10 - 100KDa - 7,5Bar	4,9 ^a	1,66	4,2 ^a	1,75
A11 - 100KDa - 6,0Bar	4,9 ^a	1,83	4,1 ^a	1,60
A12 - 30-80KDa - 1,5Bar	5,2 ^a	1,83	4,3 ^a	1,59
A13 - 0,45 μ - 3,0Bar	4,7 ^a	1,69	4,0 ^a	1,62

*letras iguais não diferem entre si

*letras diferentes diferem entre si a um nível de 5%

Quanto à doçura dos sucos, a análise estatística revelou que houve diferença significativa ao nível de 5%, entre as amostras A2; A4 (50KDa-6,0Bar); A6 (0,3 μ -1,5Bar); A8 (0,1 μ -1,5Bar); A.9 (0,1 μ -5,5Bar); A10 (100KDa-6,0Bar) e A11 (100KDa-7,5Bar), isto é, as médias obtidas foram bem próximas ao ideal (5). Para as outras amostras houve diferença significativa ao mesmo nível, embora as médias obtidas para este atributo tivessem sido todas superiores a 4,54, excetuando-se o suco de abacaxi comercial diluído (2,90).

Quando se excluiu o suco de abacaxi comercial diluído, os resultados obtidos revelaram que houve diferença significativa ao nível de 5%, entre todos os sucos de abacaxi permeados nos diferentes tipos de sistemas e de membranas quando comparados entre si

5. CONCLUSÕES

- O Mapa Interno da Preferência dos sucos permeados nos diferentes sistemas de membranas de microfiltração e ultrafiltração revelou segmentos de consumidores que preferiram alguns deles.
- Os sucos preferidos encontram-se entre aqueles obtidos de membranas com menor tamanho de poro (30-80, 50 e 100KDa) e onde uma menor PTM foi aplicada, excetuando-se as amostras A1 (0,45 μ e A12 (0,45 μ).
- Observou-se que os sucos permeados com maior número de substâncias voláteis foram coerentes com a preferência dos consumidores, isto é, membranas com menor tamanho de poro e menor PTM aplicada.
- O suco de abacaxi comercial diluído não foi considerado de boa qualidade, tendo sido o menos preferido. Esse fato pode ter influenciado na direção da preferência para os sucos clarificados. Sugere-se a utilização de um suco de abacaxi comercial de melhor

qualidade a fim de que se possa melhor avaliar a direção da preferência quando comparado aos sucos clarificados.

CAPÍTULO V

ESTERILIDADE COMERCIAL DE SUCOS DE FRUTAS EM PERMEADOS EM SISTEMAS DE MF E UF

1. INTRODUÇÃO

Os sucos de frutas e outros alimentos líquidos, como o leite, apresentam naturalmente microorganismos que podem levar à sua deterioração, bem como provocar danos ao homem, de acordo com a patogenicidade de alguns deles, tornando-se problema de saúde pública quando não processados adequadamente.

Processos tecnológicos que utilizam o calor, como a pasteurização de sucos integrais e/ou concentrados, a temperaturas entre 70-75°C por 20-30 minutos ou 94°C por 1 minuto) visando obter a esterilidade comercial, tendem a destruir nutrientes, de acordo com o tempo e a temperatura utilizada para a destruição de microorganismos deteriorantes e patogênicos neles presentes.

A esterilidade comercial pode ser definida como a ausência de microorganismos patogênicos viáveis e a redução de microorganismos deteriorantes a um nível abaixo do qual um produto é estável sob condições normais de armazenamento ou estocagem (O'SULLIVAN, 1992).

Como alternativa ao tratamento térmico, outros processos que promovam o mesmo efeito, isto é, a esterilidade comercial, vem sendo pesquisados, podendo-se citar a utilização da alta pressão por ALEMÁN *et al*, (1996) e CÁLDERON-MIRANDA *et al*. (1998) e

ARROYO & PRESTAMO, (1996). O campo magnético pulsante, a luz pulsante, microondas, a irradiação, a microfiltração (MF) e a ultrafiltração (UF) são alguns outros processos.

No caso da MF/UF, a esterilidade é obtida pela seleção de bolores, leveduras e bactérias que podem ser removidos dos sucos, de acordo com o tamanho de poro da membrana, sem que sua qualidade seja alterada.

O objetivo do presente capítulo foi utilizar sistemas de membranas de MF e UF operando-se à temperatura ambiente ou abaixo dela, a fim de melhor preservar as características nutricionais e sensoriais dos alimentos e, ao mesmo tempo, promover a esterilidade comercial dos sucos de abacaxi permeados.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Microrganismos em Sucos de Frutas

Devido à sua composição rica em açúcares (sacarose, frutose e glicose) e ácidos orgânicos (cítrico, ascórbico, málico, tartárico), os sucos integrais, concentrados e néctares e polpas de frutas tropicais, normalmente apresentam baixo pH, o que irá promover uma limitação na microflora contaminante e um efeito inibidor no seu crescimento (MULLER, 1981).

Os microorganismos capazes de proliferar, nessas condições são representados por bactérias lácticas e acéticas dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactobacillus* e *Pseudomonas*, bem como bolores (*Aspergillus*, *Penicillium*, em sucos e polpas e *Byssoclamys*, em sucos concentrados) e leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida pelliculosa*, *Kloeckera apis* e *Hansenula* sp.), entre outros.

Estes microorganismos podem estar presentes no produto final através de contaminação superficial inicial da matéria-prima e nas diferentes etapas do processamento por recontaminação, normalmente pelo manuseio ou embalagem inadequados. Portanto, a limpeza e higienização da matéria-prima, dos utensílios, equipamentos e embalagem são fundamentais para que, ao final do processo, se obtenha um produto comercialmente estéril.

Para se ter uma idéia da amplitude do problema, alguns estudos conduzidos por WEBB & MUNDT (1978), sobre a carga microbiana inicial em frutos e hortaliças à época da colheita, constatarem que estas matérias-primas apresentavam valores na contagem média de leveduras que variaram de 10^3 e $6,7 \times 10^4$ UFC/g. A etapa de lavagem no processamento de sucos de frutas, sob imersão em cloro (200ppm) pôde reduzir substancialmente estes valores.

HOFF/VIANN *et al.*, (1997) avaliaram os microrganismos contaminantes de polpas de frutas comercializadas em São José do Rio Preto quanto a bolores e leveduras, coliformes totais e fecais (*Escherichia coli*) e *Salmonella* sp., como indicadores da qualidade higiênico-sanitária das mesmas. Os resultados obtidos revelaram que 90% das amostras encontravam-se dentro dos padrões recomendados pela legislação estadual (SP). Porém, na polpa de abacaxi foram identificadas duas espécies de leveduras: *Candida versatilis* e o *Saccharomyces cerevisiae*.

Valores elevados para bolores e leveduras foram encontrados em 24% das polpas congeladas de acerola comercializadas nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco em cajá e caju. A presença de coliformes fecais foi detectada em 3% das amostras. A análise microscópica revelou que 82,3% das amostras continham sujidades entre elas, fragmentos de insetos, larvas e insetos inteiros (FEITOSA *et al.*, 1999).

2.1.1. Alterações por Bactérias

Sucos tropicais como o abacaxi e o maracujá apresentam pH de 3,5 a 3,8 e 2,5 a 2,9, respectivamente, sendo excelentes substratos para a proliferação e crescimento de bactérias heterofermentativas como as lácticas e acéticas que, além de produzirem ácidos orgânicos, produzem álcool e CO₂ a partir de seus açúcares, em condições de anaerobiose, alta acidez e a temperaturas de armazenamento (< 0°C). Porém são sensíveis ao calor e podem ser destruídas pela pasteurização (63-65°C /15minutos).

Algumas espécies podem ser citadas como contaminantes e causadoras de alterações e deterioração em sucos de frutas: *Lactobacillus delbrueckii* e *L. plantarum*, encontradas durante todas as etapas do processamento de suco de maçã (SWANSON, 1989) e o *Gluconobacter oxydans* (exclusivamente aeróbio) em suco de maçã (MARSHALL & WALKLEY, 1952).

2.1.2. Alterações por Fungos

Os fungos ou bolores possuem a capacidade de também tolerar substratos de elevada acidez e com deficiência de nutrientes, proliferando-se facilmente em condições de aerobiose (normalmente aeróbios) porém, ambientes com baixa concentração de oxigênio limitam sua capacidade de atuação (BAIRD & KOOIMAN, 1985).

Normalmente estão presentes em frutas e derivados os gêneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Byssoschlamys*, classificando-se entre os altamente resistentes a baixos pHs. Como exemplo, pode-se citar o *Penicillium italicum* que pode se desenvolver em sucos com pH de 1,9 e alta concentração de açúcares, como os sucos concentrados (MANNING, 1977). As alterações se apresentam na forma de colônias e flocos na superfície dos sucos, degradando a pectina (com redução da viscosidade) e destruindo o ácido

ascórbico e cítrico, modificando o pH e o sabor, através da síntese dos ácidos glucônico e oxálico.

ENIGL *et al.*, (1993) identificaram em espécies *Talaromyces trachyspermus* e *T. flavus* em sucos de abacaxi comerciais concentrados e integrais.

Os problemas mais preocupantes, em termos de contaminação por fungos, dizem respeito aos riscos à saúde pública, pela produção de micotoxinas como, por exemplo a patulina (*Penicillium expansum*), muito frequentemente encontrada no suco de maçã, mas também presente nos demais sucos de frutas.

A patulina e outras toxinas produzidas pelos fungos são resistentes ao tratamento térmico aplicado a sucos de frutas.

A espécie *Byssoclamys fulva*, presente no suco de maçã é o fungo mais termo resistente, sendo seus esporos resistentes a tratamentos a 85°C por 180 minutos (SWANSON, 1989).

Alguns países da Europa, entre eles o Reino Unido, proibem limites acima de 50µg de micotoxinas por quilograma de frutos e sucos de frutas (FRANK, 1968). A tendência mundial é reduzir ainda mais estes limites.

2.1.3. Alterações por Leveduras

As leveduras são as alterações mais comuns em sucos devido à sua capacidade de proliferação em faixas de pH que variam de 1,5 a 4,4 e em condições de anaerobiose. Produzem CO₂ e álcool etílico a partir de açúcares, hidrolisam a pectina, se produzirem pectinaestearase, também formando flocos e películas na superfície de sucos. As espécies *Saccharomyces cerevisiae* e *Kloeckera apis* são amplamente mencionadas na literatura como as principais espécies contaminantes (DEAK & BEAUCHAT, 1993 e GARZA *et al.*, 1994).

Estudos recentes sobre a resistência térmica de leveduras vem sendo conduzidos e, TCHANGO *et al.* (1997) concluíram que no suco de abacaxi (pH 3,95) o tempo necessário para se obter uma redução decimal (1 ciclo logarítmico) nas temperaturas de 60, 65, 70 e 75°C foram de 4,90; 3,20; 3,09 e 1,5 minutos, respectivamente, quando o microorganismo em questão era a *Candida pelliculosa* (levedura esporulante). Também comprovaram que, de acordo com o decréscimo do pH, em sucos de goiaba (3,15) e de maracujá (2,65), o tempo de processo seria mais reduzido. Quanto à resistência térmica da *Kloeckera apis*, menos resistente ao tratamento térmico, temperaturas de 55, 58 e 60°C foram necessárias para produzir uma redução decimal, nos tempos de 2,49; 1,91 e 1,46 minutos para sucos de abacaxi; 2,35; 1,79 e 1,41 para néctar de goiaba e de 2,38; 1,89 e 1,60 para néctar maracujá, respectivamente. Concluíram também que a existência destes fungos se deve, provavelmente, à recontaminação através de manipuladores, pela atmosfera do processo e das embalagens após o processo de pasteurização.

HOFFMANN *et al.*, (1997) avaliaram a qualidade microbiológica de polpas comerciais de vários frutos dentre eles, o abacaxi. Observaram a presença de *Candida versatillis* numa concentração de 140UFC/g e 49NMP/g.

Ainda em 1997, TRIFIRÓ *et al.* desenvolveram técnica rápida de cromatografia de exclusão iônica, a fim de detectar a presença de metabólitos, como o ácido láctico, o etanol, o dióxido de carbono e o ácido fumárico (*Rhizopus stolonifer*) produzidos por microrganismos deteriorantes em sucos e purês de frutas (néctares de pera e pêssgo e suco de maçã) para melhorar as análises de rotina no controle de qualidade.

2.2. Processos com Membranas na Obtenção da Esterilidade Comercial

A fim de minimizar os efeitos provocados pelo tratamento térmico e, ao mesmo tempo reduzir a carga microbiana em sucos, néctares e polpas, vem sendo aplicados e pesquisados processos que envolvem a permeação por membranas visando para a esterilidade comercial. A microfiltração (MF) e a ultrafiltração (UF), como anteriormente citado, são exemplos desses processos.

A MF e a UF consistem, como já descrito anteriormente, na passagem da alimentação ou líquido (suco, leite) através de uma membrana semi-permeável, onde a força motriz é a pressão, obtendo-se um produto límpido, denominado permeado, clarificado ou filtrado e um concentrado ou retentado.

Alguns autores citam a MF e a UF (GAVA, 1996 e CIEU, 1989) como processos que podem reduzir a carga microbiana inicial de sucos após a permeação em membranas de diferentes estruturas e tamanhos de poro. A seletividade desses processos é função da diferença de tamanho dos componentes do suco e os poros da membrana (*molecular weight cut-off*). Consequentemente, quanto menor o tamanho do poro maior será a retenção pelo concentrado destes compostos e também de microorganismos.

A MF e UF são opções ao tratamento térmico, uma vez que estes sistemas podem operar a temperatura ambiente, com a vantagem de promover esterilização à frio.

Os primeiros trabalhos sobre a potencialidade da UF/MF na redução da carga microbiana foram publicados a partir de 1977 por HEARTERBELL *et al.*; KIRK *et al.*, (1983); HACKERT & SWIENTEK; SWIENTEK (1986); RAO *et al* e SHEU *et al* (1987).

BAREFOOT *et al.* (1989) publicaram o primeiro trabalho sobre qualidade microbiológica de suco de maçã produzido por UF (membranas metálicas com abertura de poro de 0,5µm), a partir purê de maçã previamente despectinizado e a uma solução de peptona

ambos inoculados com cepas de *Pseudomonas diminuta*, *Bacillus coagulans* e *Saccharomyces cerevisiae*. Os resultados obtidos revelaram redução substancial que promoveu a obtenção de produto microbiologicamente estável embalado em embalagem asséptica podendo ser aplicada a outros produtos ácidos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

Suco de abacaxi integral pasteurizado da variedade Pérola, hidrolisado com pectinase comercial (ULTRAZYM 100G) foi utilizado na alimentação dos sistemas de membranas de MF e de UF.

3.2. Sistemas de Membranas na Esterilização Comercial de Sucos

Os experimentos, para avaliar a esterilidade comercial dos sucos permeados, foram realizados em Sistema Quadro e Placas da DSS e Tubular da KOCH, na EMBRAPA-Agroindústria de Alimentos, utilizando-se membranas planas circulares de polissulfona (PS) e membranas tubulares de polietersulfona (PES) e fluoreto de polivinilideno (PVdF) de tamanho de poro de 0,1; 0,45 e 0,3 μ e 30-80; 50 e 100 KDa, doadas para o projeto pela DSS – Filtration Systems.

O sistema Quadro e Placas é formado por duas membranas delgadas que são separadas por um suporte plano, geralmente de plástico, que também funciona como um canal de permeação (o suco permeado sai por meio de finos tubos plásticos), este conjunto está ligado como se fosse um “sanduíche”. Esses sanduíches são separados por espaçadores também

planos, que servem de canal de escoamento para a alimentação sendo alternadamente rearranjados e mantidos unidos por um tubo central (GAVA,1996). O número total de membranas utilizado foi de 40 unidades.

3.3. Coleta de Amostras de Suco de Abacaxi

A coleta de amostras foi realizada antes (sucos da alimentação) e após (sucos permeados) de cada processo nos sistemas de membranas. As amostras de suco permeado foram colhidas da saída dos tubos de suco permeado, no caso do sistema Quadro e Placas e Tubular sendo a seguir colocadas em frascos estéreis, sob chama de bico de Bunsen, e tampadas e conservadas em geladeira até a execução das análises.

3.3.1. Qualidade Microbiológica dos Sucos de Abacaxi Integral Pasteurizado, Hidrolisado e dos Permeados

Foram realizadas análises microbiológicas, em duplicata, quanto a bolores e leveduras, Salmonella, coliformes fecais, Contagem Padrão em Placas (CPP) e bactérias lácticas, nos sucos de abacaxi integral pasteurizado, hidrolisados (alimentação) e dos permeados, obtidos nos Sistemas Quadro e Placas da DSS e Tubular da KOCH, na EMBRAPA - Agroindústria de Alimentos, com membranas planas circulares de polissulfona (PS) e membranas tubulares de polietersulfona (PES) e de fluoreto de polivinilideno (PVdF) de 0,1; 0,45 e 0,3 μ e 30-80; 50 e 100KDa, doadas para o projeto pela DSS, coletadas amostras em frascos estéreis, em duplicata e realizadas na MICRAL S.A.

Embora não existam padrões preconizados para Contagem Padrão em Placas e para bactérias lácticas, estas análises foram também realizadas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação da Qualidade Microbiológica dos Sucos

4.1.1. Padrões para a Avaliação da Qualidade Microbiológica dos Sucos de Abacaxi

De acordo com a Resolução RDC n° 12 de 02 de janeiro de 2001, da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, o suco de abacaxi comercial é classificado como preparado líquido para refrescos e refrigerantes, sendo preconizados os seguintes padrões para a sua avaliação microbiológica, conforme Tabela 33.

Tabela 33. Limites Máximos de Microrganismos em Sucos de Frutas

Microorganismo	Padrão
Coliformes fecais	1NMP/g
Salmonete	Ausência em 25 g ou mL
Bolores e leveduras	10 ² UTFC/g

Fonte: Ministério da Saúde, 1998

4.1.2. Avaliação Microbiológica dos Sucos Permeados em Membranas de PS de 0,1μ

Os resultados microbiológicos obtidos da permeação do suco de abacaxi hidrolisado em membranas de 0,1μ demonstraram, que houve uma redução de $4,7 \times 10^3$ para $< 1,0 \times 10^1$ nos processos I e repetição (3,5Bar) entre o suco da alimentação (suco hidrolisado) do sistema e após sua permeação nestas membranas quanto à CPP (Tabela 34).

Quanto a bolores e leveduras os valores encontrados nos processos I e repetição, os valores encontrados foram reduzidos de $2,0 \times 10^1$ para $< 1,0 \times 10^1$, para bactérias lácticas de $1,5 \times 10^3$ para $< 1,0 \times 10^1$ e, no que diz respeito à coliformes fecais, ambos os sucos da alimentação e suco permeado não foi observada sua ocorrência demonstrando boas condições de higiene no processo.

Nos processos II e repetição (4,5Bar) utilizando-se as mesmas membranas, as variações foram de $2,5 \times 10^3$ e $1,5 \times 10^3$ para $< 1,0 \times 10^1$ para bolores e leveduras; $< 1,0 \times 10^1$ quanto a bactérias lácticas e ausência de coliformes fecais.

No processo III e repetição (5,5Bar) foram encontrados na alimentação valores que variaram de $1,1 \times 10^4$ e $1,3 \times 10^2$ e reduzidos a $< 1,0 \times 10^1$ para bolores e leveduras; variando de $1,6 \times 10^3$ e $1,3 \times 10^2$ a < 10 , na contagem padrão em placas (CPP).

Em todos os sucos tanto da alimentação e nos permeados em membrana de $0,1\mu$, não foi detectada a presença de Salmonella.

A presença de microrganismos, na alimentação do sistema, acima dos limites permitidos pela legislação para sucos pasteurizados, pode ser devida à manipulação destes tanto na etapa de hidrólise onde eram transferidos para o tacho quanto no próprio sistema de permeação, que apesar possuir tampa não oferece condições favoráveis à não contaminação. Citando dados reportados por BEAUCHAT, 1986 e ENIGL *et al.* (1993), BAGLIONI *et al.* (1999), o processo de pasteurização normalmente ativa ascósporos dormentes, com posterior germinação e crescimento de fungos termo resistentes ocasionando deterioração do produto.

Tabela 34. Qualidade Microbiológica dos Sucos de Abacaxi Integral Pasteurizado, Alimentação Hidrolisado) e dos Permeados em Membranas de PS de 0,1μ

Amostra	Bolores e Leveduras UFC/mL	Coliformes Fecais NMP/mL	Contagem Padrão em Placas	Bactérias Láticas	Salmonella
Portaria 451/97	Máx. 1,0 x 10¹	Max. 10	-	-	Ausência 25g/mL
SAIP	5,3 x 10 ²	< 3	1,2 x 10 ³	-	Ausência
PI					
Alimentação	2,0 x 10 ¹	< 3	4,7 x 10 ³	1,5 x 10 ³	Ausência
Permeado	1,0 x 10 ¹	< 3	< 10	< 10	Ausência
R-PI					
Alimentação	1,0 x 10 ¹	< 3	4,7 x 10 ³	1,5 x 10 ³	Ausência
Permeado	2,0 x 10 ¹	< 3	< 10	< 10	Ausência
P II					
Alimentação	2,5 x 10 ³	2,1 x 10 ²	1,9 x 10 ⁵	1,5 x 10 ³	Ausência
Permeado	1,0 x 10 ¹	< 3	< 10	< 10	Ausência
R-P II					
Alimentação	1,5 x 10 ³	4	1,2 x 10 ⁴	1,5 x 10 ³	Ausência
Permeado	1,0 x 10 ¹	< 3	< 10	< 10	Ausência
P III					
Alimentação	1,1 x 10 ⁴	< 3	1,6 x 10 ³	1,5 x 10 ³	Ausência
Permeado	< 10	< 3	< 10	< 10	Ausência
R-P III					
Alimentação	1,3 x 10 ²	< 3	4,0 x 10 ²	1,5 x 10 ³	Ausência
Permeado	10	< 3	1,1 x 10 ²	< 10	Ausência

4.1.3. Avaliação Microbiológica de Sucos Permeados em Membranas de PS de 0,45μ

No suco hidrolisado para a alimentação e no permeado proveniente do processo I, com membrana de polissulfona de 0,45μ (3,0 Bar), pôde-se observar um aumento em relação à presença de bolores e leveduras (4,1 x 10⁴); na CPP (4,6 x 10⁴) e em bactérias lácticas (1,5 x 10³) o que se caracterizou por um forte odor de fermentado, em ambos. Embora estes valores tenham sido reduzidos, nos permeados, pela passagem através das membranas (10⁴ para 10²), não foram suficientes para que se os considerasse próprios para consumo. Estes sucos foram descartados, sendo o processo repetido.

O suco da alimentação da repetição do novo processo I apresentou contaminação, com aumento da contagem de bolores e leveduras (8,5 x 10). Embora no suco permeado obtido esta contagem tenha sido reduzida (1,0 x 10²), não foi suficiente para considerá-lo estéril comercialmente pois encontrava-se muito próximo ao limite máximo permitido pela

legislação (Tabela 35). Este fato demonstra que se a contaminação inicial no suco da alimentação do sistema for elevada, a redução da contagem microbiana no permeado obtido com a membrana de 0,45 μ , independentemente da aplicada (3,0 ou 4,0Bar), pode não ser efetiva. Operar-se o sistema à PTMs menos elevadas talvez propicie um melhor efeito esterilizante.

Tabela 35. Qualidade Microbiológica dos Sucos Permeados em Membranas de PS de 0,45 μ

Amostra	Bolores e Leveduras UFC/mL	Coliformes Fecais NMP/mL	Contagem Padrão em Placas	Bactérias Lácticas	Salmonella
Portaria 451/97	Máx. 1,0 x 10 ¹	Máx. 10			Ausência 25 g/ml
P I (*)					
Alimentação	4,12 x 10 ⁴	< 3	4,6 x 10 ⁴	1,5 x 10 ³	Ausência
Permeado	7 x 10	< 3	2,35 x 10 ²	< 10	Ausência
P I					
Alimentação	< 3	< 3	3,0	-	Ausência
Permeado	< 1,0 x 10 ¹	< 3	< 3	< 10	Ausência
R-P I					
Alimentação	8.5 x 10	< 3	< 3	-	Ausência
Permeado	< 1,0 x 10 ²	< 3	< 3	< 10	Ausência
PII					
Alimentação	2.0 x 10 ¹	< 3	5	-	Ausência
Permeado	< 1,0 x 10 ¹	< 3	< 3	< 10	Ausência
R-P II					
Alimentação	4,0	< 3	< 3	-	Ausência
Permeado	3,6x10 ¹	< 3	< 3	< 10	Ausência

No processo II a 4,0Bar, o suco permeado apresentou redução a níveis aceitáveis para o consumo.

4.1.4. Avaliação Microbiológica dos Sucos Permeados em Membranas de PES de 0,3 μ

Os processos realizados no sistema KOCH com membrana tubular de polietersulfona (PES) de 0,3 μ , operando-se à PTMs de 1,5 (I e R-I) e 3,0 Bar (II e R-II), respectivamente, demonstraram que a membrana foi mais eficiente quanto à redução na contagem microbiana à valores que garantem sua esterilidade comercial. Os valores mais elevados foram

encontrados nas alimentações das repetições dos processos I à 1,5 Bar ($3,4 \times 10$) e II à 3,0 Bar ($1,03 \times 10^2$) para bolores e leveduras. Na CPP o processo II e sua repetição à 3,0 Bar, revelaram valores de $2,1 \times 10^2$ e $1,13 \times 10^2$, respectivamente (Tabela 36).

A presença de bactérias lácticas foi detectada em apenas uma amostra, a alimentação da repetição do processo I à 1,5Bar ($2,28 \times 10^2$) e, todos os sucos permeados apresentaram qualidade microbiológica dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira.

Tabela 36. Qualidade Microbiológica dos Sucos Permeados em Membrana de 0,3

Am ostra	Bolores e Leveduras UFC/mL	Coliformes Fecais NIVIP/mL	Contagem Padrão em Placas	Bactérias Lácticas	Salmonella
P I					
Alimentação	70×10^4	< 3	50×10^{-1}	0	Ausência
Permeado	$< 10 \times 10^{-1}$	< 3	< 3	0	Ausência
R-P I					
Alimentação	$3,4 \times 10$	< 3	$7,1 \times 10$	$2,28 \times 10^2$	Ausência
Permeado	$< 1,0 \times 10$	< 3	< 3	0	Ausência
P II					
Alimentação	$< 1,0 \times 10^1$	< 3	$2,1 \times 10^2$	0	Ausência
Permeado	$< 1,0 \times 10^1$	< 3	< 3	0	Ausência
R-P II					
Alimentação	$1,03 \times 10^2$	< 3	$1,13 \times 10^2$	0	Ausência
Permeado	1	< 3	< 3	0	Ausência

FORBES (1987) removeu leveduras e impurezas provenientes do processo de clarificação de vinhos utilizando membranas de $0,2\mu$.

4.1.5. Avaliação Microbiológica dos Sucos Permeados em Membranas de PS de 50KDa

As contagens para bolores e leveduras nas alimentações dos processos I e repetição (6,0Bar) e II (7,5Bar) realizados no sistema Quadro e Placas, com membranas de polissulfona (PS) de 50KDa, foram elevadas. Encontraram-se valores de $2,5 \times 10^3$; $1,6 \times 10^3$ e $3,3 \times 10^2$,

excetuando-se apenas a alimentação da repetição do processo II (7,5Bar) onde o valor obtido foi de $2,2 \times 10^1$ (Tabela 37).

Tabela 37. Qualidade Microbiológica dos Sucos Permeados em Membranas de PS de 50 KDa

Amostra	Bolores e Leveduras UFC/mL	Coliformes Fecais NMP/mL	Contagem Padrão em Placas	Bactérias Lácticas	Salmonella
Portaria 451/97	< 100	Max 10	-	-	Ausência 25 g/ml
P I					
Alimentação	$2,56 \times 10^3$	<3	$1,44 \times 10^2$	$2,45 \times 10^3$	Ausência
Permeado	$<1,0 \times 10$	<3	$<1,0 \times 10$	0	Ausência
R-P I					
Alimentação	$1,65 \times 10^3$	$1,1 \times 10^2$	$2,26 \times 10^2$	0	Ausência
Permeado	$<1,0 \times 10$	<3	$<1,0 \times 10$	0	Ausência
P II					
Alimentação	$3,32 \times 10^2$	0,73	$1,9 \times 10$	0	Ausência
Permeado	$1,27 \times 10^2$	<3	$1,1 \times 10$	0	Ausência
R-P II					
Alimentação	$2,2 \times 10$	<3	$3,9 \times 10^2$	0	Ausência
Permeado	$<1,0 \times 10$	<3	$<1,0 \times 10$	0	Ausência

A CPP também apresentou valores de $1,4 \times 10^2$; $2,2 \times 10^2$ (I e repetição) e, $3,9 \times 10^2$ (II) bem como foi observada a presença de bactérias lácticas na alimentação do processo I ($2,45 \times 10^3$). Na alimentação da repetição do processo I foi detectada a presença de coliformes fecais ($1,1 \times 10^2$), valor este acima daquele preconizado. Porém, após a permeação nas membranas, foi reduzido à níveis aceitáveis para consumo (1NMP/mL). Todos os sucos permeados encontravam-se dentro dos padrões da legislação brasileira.

4.1.6. Avaliação Microbiológica dos Sucos Permeados em Membrana de PVdF de 30 – 80KDa

O experimento realizado com membrana tubular de fluoreto de polivinilideno de 30-80KDa à 1,5Bar, também demonstrou a seletividade efetiva da mesma na redução da carga microbiana do suco de abacaxi hidrolisado (Tabela 38) porém, os baixos fluxos de

permeabilidade hidráulica obtidos inviabilizaram sua utilização apenas com a finalidade de se obter a esterilidade comercial.

Tabela 38. Qualidade Microbiológica do Suco Permeado em Membrana de PVdF de 30-80KDa

Amostra	Bolores e Leveduras UFC/mL	Coliformes Fecais NMP/mL	Contagem Padrão em Placas	Bactérias Lácticas	Salmonella
P I					
Alimentação	$1,7 \times 10^1$	< 3	8	$1,7 \times 10$	Ausência
Permeado	$<1,0 \times 10^2$	< 3	<3	0	Ausência

4.1.7. Avaliação Microbiológica dos Sucos Permeados em Membranas de PS de 100KDa

No processo de permeação com membranas de 100KDa, houve também aumento na contagem de bolores e leveduras e na CPP no suco proveniente da alimentação do sistema, isto é, após a hidrólise enzimática.

Este fato pode ser atribuído à recontaminação do suco de abacaxi por ser um processo descontínuo, envolvendo manipulação e troca de recipientes para a hidrólise enzimática, embora todas as medidas de higiene tenham sido observadas, isto é, todos recipientes e equipamentos foram devidamente higienizados antes de serem utilizados.

Na Tabela 39, são apresentados os valores encontrados para bolores e leveduras, coliformes fecais, CPP, bactérias lácticas e Salmonella, nos sucos das alimentações e nos permeados dos processos realizados no sistema Quadro e Placas com membrana de polissulfona (PS) de 100KDa operados à PTMs de 6,0 (I e R-I) e 7,5Bar (II e R-11).

Observa-se que todos os sucos da alimentação apresentaram valores acima daqueles permitidos pela legislação para bolores e leveduras sendo de $5,7 \times 10^2$; $3,5 \times 10^2$; $4,4 \times 10^2$ e $4,8 \times 10^2$, respectivamente. Os permeados obtidos apresentaram redução para $1,0 \times 10^1$, mostrando que a esterilização foi efetiva.

Apesar de não existir um limite máximo para CPP e bactérias lácticas, todos os permeados tiveram esses valores reduzidos após permeação com membranas de 100KDa, não havendo diferença nessa redução, de acordo com as PTMs aplicadas.

A utilização de membranas de polissulfona de 100KDa parece ser promissora para promover a esterilidade comercial.

Tabela 39. Qualidade Microbiológica dos Sucos de Abacaxi Permeados em Membranas de 100 KDa

Amostra	Bolores e Leveduras UFC/mL	Coliformes Fecais NMP/mL	Contagem Padrão em Placas	Bactérias Lácticas	Salmonella
Portaria 451/97	Max. 10.000 < 100	Máx. 10 1	-	-	Ausência 25g/mL
P I					
Alimentação	$5,7 \times 10^2$	<3	$3,4 \times 10^2$	-	Ausência
Permeado	< $1,0 \times 10$	<3	< $1,0 \times 10^1$	0	Ausência
R-P I					
Alimentação	$3,5 \times 10^2$	<3	$1,3 \times 10^2$	$5,5 \times 10^2$	Ausência
Permeado	< $1,0 \times 10$	<3	$2,1 \times 10^2$	0	Ausência
P II					
Alimentação	$4,4 \times 10^2$	<3	$2,1 \times 10^2$	-	Ausência
Permeado	< $1,0 \times 10$	<3	< $1,0 \times 10$	0	Ausência
R-P II					
Alimentação	$4,8 \times 10^2$	<3	$2,8 \times 10^2$	$4,9 \times 10^2$	Ausência
Permeado	< $1,0 \times 10$	<3	<3	0	Ausência

Os resultados observados revelaram que todos os sucos permeados apresentaram redução acentuada no que diz respeito a microorganismos contaminantes iniciais. Os sucos permeados nos diferentes sistemas de membranas bem como aqueles da alimentação não apresentaram contaminação por coliformes fecais e Salmonella.

Os valores máximos e mínimos para CPP variaram de $3,4 \times 10^2$ a $< 1,0 \times 10^1$; de $5,7 \times 10^2$ a $1,0 \times 10^1$ para bolores e leveduras; de $5,3 \times 10^2$ para <10 e de $5,3 \times 10^2$ a $< 1,0 \times 10^1$ para bactérias lácticas, nos processos I e repetição a 6,0Bar, enquanto que nos processos II e repetição (7,5 Bar), estes valores foram reduzidos de $4,8 \times 10^2$ e $4,4 \times 10^2$ para $< 1,0 \times 10^1$

quanto a bolores e leveduras; de $2,8 \times 10^2$ e $2,1 \times 10^2$ para $<1,0 \times 10^1$ na CPP e de $5,5 \times 10^2$ a $< 10^1$ quanto a bactérias lácticas.

HEARTERBELL (1977 e 1984) e VRIGNAUD (1983) comprovaram a eficácia de membranas de UF e de MF na obtenção de sucos de maçã na obtenção da esterilidade comercial a frio.

ITOUA-GASSAYE *et al.*, (1991) obtiveram suco de abacaxi comercialmente estéril, utilizando membranas orgânicas e minerais UF/MF a temperatura de 30°C , a partir de sucos hidrolisados enzimaticamente e não hidrolisados.

CONSTENLA & LOZANO, (1995) obtiveram estabilidade e qualidade microbiológica desejável em sucos de maçã clarificados em membranas de polissulfona de 50 e 100KDa.

5. CONCLUSÕES

- Os processos realizados com as membranas de MF e de UF reduziram a contaminação microbiana dos sucos de abacaxi hidrolisado mostrando-se eficientes e, de acordo com o tamanho de poro de membrana, a esterilidade comercial a frio pode ser alcançada.
- As membranas de PS de $0,45\mu$ não demonstraram eficiência na redução da carga microbiana inicial do suco da alimentação do sistema, acreditando-se que, se PTMs menos elevadas puderem ser aplicadas, essa redução pode atingir níveis aceitáveis pela legislação brasileira.
- A concentração de polarização, apesar de ser fator limitante aos processos com membranas obstruindo os poros internamente e inviabilizando o processo, observada durante processos limitou a passagem de microrganismos para os permeados porém, em alguns casos, esta compactação não reduziu substancialmente o tamanho dos poros para que se obtivesse permeados límpidos e estéreis.

6. CONCLUSÕES GERAIS

- A manutenção dos constituintes nos sucos permeados foi maior naqueles obtidos em membrana de 0,3 μ .
- As substâncias voláteis dos sucos permeados foram mais recuperadas após os processos que utilizaram membranas de polissulfona de 0,1 μ e 50KDa, em todas as PTM aplicadas possivelmente pelo menor tempo de processo, tendo havido menores perdas por volatilização.
- Os melhores fluxos foram obtidos nos processos com membranas tubulares de 0,3 μ e 30-80KDa.
- Nas condições estudadas, a MEFS se mostrou eficiente na extração das substâncias voláteis dos sucos de abacaxi, sendo um método simples e rápido a ser implantado como análise de rotina.
- Os sucos preferidos foram aqueles obtidos em membranas de menor tamanho de poro: 30-80, 50 e 100KDa.
- Os processos de UF e MF reduziram a contaminação inicial do suco hidrolisado comprovando que a esterilidade comercial a frio pode ser obtida.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Embora, de uma forma geral, os melhores resultados tenham sido obtidos com membranas tubulares, o custo por unidade é bastante elevado (US\$ 900.00) enquanto que membranas planas de polissulfona possuem custo mais acessível (US\$ 300.00 por 40 membranas) porém menos resistentes.
- Na presente tese foi utilizada, pela primeira vez, a MEFS como método rápido na extração de substâncias voláteis de sucos de abacaxi hidrolisado e permeados em membranas, contribuindo desta forma para que a mesma venha a ser mais investigada quanto a esses constituintes em sucos de frutas, uma vez que a literatura não reporta trabalhos nessa área.
- Por outro lado, o Mapa Interno da Preferência revelou-se uma ferramenta útil na identificação de segmentos de consumidores dispostos a consumir sucos clarificados.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**, ed. by Kenneth Helrich, 15 ed., Arlington, 1990, v 2, 683 p.

ADLARD, E.R. & DAVENPORT, J.N. **A study of some of the parameters in purge and trap gas chromatography**. *Chromatographia*, 17 (8), August., 1983.

AKYNIELE, O.I. & KENSHIRO, O. O. **Tropical fruits as source of vitamin C**. *Food Chemists*, 5: 163-167, 1990.

AKYNIELE, O.I.; KENSHIRO, O. O. & AKINNAWO, O.O. **Nutrient losses during and after processing of pineapples and oranges**. *Food Chemistry*, 37: 181 -188, 1990.

ALASE, O.A. (1973) **Effects of processing on the vitamin C content of some canned fruit products of the Lafia Canning Factory**, Project report for the postgraduate diploma in Nutrition. University of Ibadan, Nigeria

ALEMÁN, G.D.; TING, E.Y.; MORDRE, S.C.; HAWES, A.C.O.; WALKER, M.; FARKAS, D.F. & TORRES, J.A. **Pulsed ultra-high pressure for pasteurization of pineapple juice**. *J. of Food Science*, 61(2): 388-390, 1996.

ALLEGRONI, G. & BARBENI, M. **Identification of volatile components of caja (*Spondias lutea* L.) and chiral analysis of 3-hidroxy aliphatic esters**. *Flavour and Fragrance J.*, 7: 337342, 1992.

ANDRADE, N.J. & PINTO, C.L.O. **Higienização de membrana de ultra filtração na indústria de laticínios**. *Higiene Alimentar*, 8 (34); 9-13, 1994.

ANONIMO. **Il succo di frutta**. *Pasticceria Interniaz.*, 99:78-80, 1994.

ARDITI, S. **Preference Mapping. A case study**. *Food Quality and Preference*, 8 (5/6):323-327, 1997.

ARROYO, G & PRESTAMO, G. **Respuesta de los microorganismos contaminantes de productos vegetales a la acción de las altas presiones.** *Alimentaria*, junho, 273:103 –108, 1996.

ARTHUR, C.L.; POTTER, D.W.; BUCHHOLZ, K.D.; MOTLAGH, S. & PAWLISZYN, J. **Solid-phase microextraction for the direct analysis of water: theory and practice,** LC-GC, 10:656, 1992.

ASMUND O, C. N.; ARENA, E.; MURATORE, G.; CATALDILUP O, M. C.; CAMPISI, S. & PULVIRENTI, A. **Production of clear juices from blood oranges.** *Industrie delle Bevande*, 28(159):10-12, 1999.

BAGLIONI, F.; GUMERATO, H.F. & MASSAGUER, P. R. **Ocorrência de fungos filamentosos termo-resistentes em polpa de tomate envasada assepticamente.** *Cienc. Technol. Aliment.*, 19(2): 258-263, 1999.

BAIRD, A.C. & KOOLMAN, W, J. **Bebidas no alcoolicas, zumos de frutas naturales, concentrados e mermeladas.** In: *Ecologia microbiana de los alimentos 2*. V.11. Productos alimenticios. ICMSF (*International Commission on Microbiological Specifications for Foods*), Ed. Acribia, Zaragoza, 1985.

BARCAROLO, R.; CASSON, P & TUTTA, C. **Analysis of the volatile constituents of food by headspace GC-MS with reversal of the carrier gas flow during sample.** *J. of High Resolution Chromatography*, 15:307-311, 1992.

BAREFOOT, S.F.; TAI, H.Y.; BRANDON, S.C. & THOMAS, R. **Production of microbiologically Stable apple juice by metallic membrane ultrafiltration.** *J. of Food Sci.*, 45(2):40 8-41 1, 1989.

BARRICHELO, A. **Uso de membranas filtrantes na indústria de alimentos.** São Paulo: USP, 1987. 281 p. (Tese de Mestrado em Alimentos).

BARTELT, R.J. **Calibration of a commercial solid-phase microextraction device for measuring headspace concentrations of organic volatiles.** *Analytical Chemistry*, 69 (3): 364–372, 1997.

BARTOLOME, A.P.; RUPEREZ, P. & FUSTER, C. **Non volatile organic acids, pH and titratable Acidity changes in pineapple fruit slices during frozen storage.** *J. Sci. Food Agric.*, 70:475-480, 1996.

BEATON, C.B. **Ultrafiltration and reverse osmosis in the dairy industry - An introduction to sanitary considerations.** *J. Food Protect*, 42 (7): 584-590, 1979.

BEHRENS, J.H.; SILVA, M.A. A.P. & WAKELING, N.I. **Avaliação da aceitação de vinhos brancos varietais brasileiros através de testes sensoriais e técnica multivariada de mapa de preferência interno.** *Cien. Technol. Aliment.*, 19(2):214-220, maio/agosto, 1999.

BELARDI, R & PAWLISZYN, J. **The application of chemically modified fused silica fibers in the extraction of organic water matrix samples and their rapid transfer to capillary columns.** *Water Pollution Res. J Canada*, 24:179, 1989.

BEN AMAR, R.; GUPTA, B.B. & JAFFRIN, M.Y. **Apple juice clarification using mineral membranes: fouling control by backwashing and pulsating flow.** *J. Food Science*, 55 (6), 1620-1625, 1990.

BEUCHAT, L.R. **Extraordinary heat resistance of *Talaromyces flavus* and *Neosartorya fischeri* ascospores in fruit products.** *J. Food Science*, 51 (6):1506-1510, 1986.

BLANCH, G.P.; REGLERO, G.; HERRAIZ, M. & TABERA, J. **A comparison of different extraction methods for the volatile components of grape juice.** *J. Chromatographic Sci.*, 29, January, 11-15, 1991.

BLEINROTH, E.W. **Instituto de Tecnologia de Alimentos. Série: Frutas Tropicais.** Campinas, 69-94, 1985.

BOELEN, M.H. **Volatile character-impact sulfur compounds and their sensory properties.** *Perfumers & Flavorist*, 18:29-39, 1993.

BONENSTEGEL, F.; SOLTANI, N. & BALTES, W. **Headspace analysis with large sample volumes. Influence of sampling device volume, analyte concentration and sample matrix.** *J. Chromatography A*, 655, Elsevier Science Publishers B.V., pp.249-255, 1993.

BOWEN, W.N. & HALL, N.J. **Properties of microfiltration membranes: Mechanisms of flux loss in the recovery of an enzyme.** *Biotechnol. Bioeng.*, 46:28-35, 1995.

BOYD-BOLAND, A. **Solid-phase microextraction: solvent -free sample preparation for CG and HPLC.** *Chemistry in Australia*, 65(4): 10-12, 1998.

BRASIL, I.M.; MAIA, G.A. & FIGUEIREDO, R.W. **Estudo do rendimento do suco de goiaba extraído por tratamento enzimático.** *Cienc. Tecnol. Aliment.*, 16(1):57-61, 1996.

BRESLAU, B.R.; MILNES, B. A.; SHORT, J. L. & TUMP, J. **Ultrafiltration cuts fruit juices processing costs.** *Pro-Biotech-Processes - Suppl. Proc. Biochem.* : iv, vii, viii e ix, 1984.

BRUNTON, N.P.; CRONIN, D.A.; MONAHAN, F.J. & DURCAN, R. **A comparison of solid phase microextraction (SPME) fibres for measurements of hexanal and pentanal in cooked turkey.** *Food Chemistry*, 68 (3): 339 - 345, 2000.

CÁLDERON-MIRANDA, M.L.; GONZÁLEZ, M.F.S.M.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. & SWANSON, B.G. **Métodos no térmicos para procesamiento de alimentos: variables e inactivación microbiana.** *Revista Bras. de Tecnologia de Alimentos*, 1 (1, 2): 3-11, 1998.

CALLE, G.D.; REICHENBAECHER, M. & DANZER, K. **Classification of wines by means of multivariate data analysis using SPME/CGC-chromatograms of volatile aroma compounds.** *Vitis*, 37 (4): 181-188, 1999.

CÁMARA, M.; DÍEZ, C. & TORIJA ISASA, E. **Chemical characterization of pineapple juices and nectars. Principal components analysis.** *Food Chemistry*, 54: 93 –100, 1995.

CÁMARA, M.; DÍEZ, C. & TORIJA ISASA, E. **Influencia del tiempo de almacenamiento en zumo comercial de piña.** *Alimentation: Equipos y Tecnologia*, junho: 45 – 49, 1994.

CAMPOS, G.; NAPPI, G. U.; RASLAN, D.S. & AUGUSTI, R. **Substâncias voláteis em mel floral e mel de melato.** *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 20(1):18-22, 2000.

CAPANELLI, G.; BOTTINO, A.; MUNARI, S.; BALLARINO, G.; MIRZAIAN, H.; RISPOLI, G.; LISTER, D.J. & MASCHIO, G. **Ultrafiltration of fresh orange and lemon juices.** *Lebensm. Technol.*, 25(6): 518-522, 1992.

CARDELLO, H.M.A.B. & FARIA, J.B. **Análise da aceitação de aguardentes de cana por testes afetivos e mapa da preferência interno.** *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 20(1):32-36, 2000.

CARDOSO, M.H.; JACKIX, M.N.H.; MENEZES, H.C.; GONÇALVES, E.B. MARQUES, S.V.B. **Efeito da associação de pectinase, invertase e glicose isomerase na qualidade de suco de banana.** *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 18(3): 275-282, 1998.

CARVALHO, L.M.J. **Clarificação de suco de abacaxi (*Ananas comosus* L. Merr.) por ultrafiltração e microfiltração.** Tese de Mestrado. UFRRJ - Itaguaí - RJ, 1994.

CARVALHO, L.M.J.; SILVA, C.A.B. & PIERUCCI, A P.T.R. **Clarification of pineapple juice (*Ananas comosus* L. Merrill) by ultrafiltration and microfiltration: physicochemical evaluation of clarified juices, soft drink formulation and sensorial evaluation.** *J. Agric. Food Chem.*, 46(6):2185-2189, 1998.

CHAMCHONG, M & NOOMHORM, A. **Effect of enzymatic treatment on microfiltration and ultrafiltration of tangerine juice.** *J. of Food Process Engin.*, 14:21-24, 1991.

CHAO, H.W.; WEN, S.K. & FANG, T.T. **Influência da ultrafiltração e da osmose reversa na qualidade do suco de maracujá (Passion fruit) concentrado.** *J. Chin. Agric. Chem. Soc.* 30(3): 413-431, 1992.

CHEN, C.C.; KUO, M.C.; HWANG, L.S.; SWI-BEA, J. & WU, C.M. **Headspace components of passion fruit Juice.** *J. Agric. Food Chem.*, 30, 1211-1215, 1982.

CHENCHIN, A.; YUGAWA, A. & YAMAMOTO, H. Y. **Enzymic degumming of pineapple mill juices.** *J. Food Sci.*, 49: 1327-1329, 1984.

CHEN-TANG; HEYMAN, H. & FU-HUNG-HSIEH. **Alternative to data averaging of consumer preference data.** *Food Quality and Preference*, 11 (1/2): 99 – 104, 2000.

CHERYAN, M. **Ultrafiltration Handbook.** Technomic Publishing Company, Inc. 1986. 375 p.

CHEYNIER, V. & VAN HULST, M. W. J. **Oxidation of transcaftaric acids and 2-S-glutathionylcaftaric acid in model solutions.** *J. Agric. Food Chem.*, 36: 10-15, 1988.

CHIN, H.W.; BERNHARD, R.A. & ROSENBERG, M. **Solid-phase microextraction for cheese volatile compounds analysis.** *J. Food Scie.*, 61(6): 1118-1122, 1996.

CHITWOOD, R.L. PANGBORN, R.M. & JENNINGS, W. **GC/MS and sensory analysis of volatiles from three cultivars of capsicum.** *Food Chem.*, 11: 201-216, 1983.

CHYAU, C.C.; CHEN, S.Y. & WU, C.M. **Difference of volatile and nonvolatile constituents between mature and ripe guava (*Psidium guajava* Linn.) fruits.** *J. Agric. Food Chem.* 40, pp.846-849, 1992.

CILLIERS, J.J.L. & SINGLETON, V. L. **Nonenzymic autoxidative phenolic browning reactions in a caffeic acid model system.** *J. Agric. Food Chem.*, 37: 890, 1989.

CLASADONTE, M.T.; GIUFRIDDA, R.; ZERBO, A. & CIRAIOLO, L. **Determination of benzene and toluene by solid phase microextraction (SPME) and HPLC.** *Rassegna Chimica*, 49 (5): 345 – 352, 1997.

CONFRUCTA - **Classical filtration process in the production of fruit juices.** Technical state, 1984/85.

CONSTENLA, D.T. & LOZANO, J.E. **Effect of ultrafiltration on concentrated apple juice colour and turbidity.** *Intern. J. Food Scie. Techn.*, 30: 23-30, 1995.

CONSTENLA, D.T. & LOZANO, J.E. **Predicting stationary permeate flux in the UF of apple juice.** *Lebensm. Wiss.u. Technol.*, 29: 587-592, 1996.

CONTARINI, G & LEARDI, R. **Use of experimental design to optimize the analysis of volatile compounds by dynamic *headspace* extraction followed by cold trapping and capillary GC.** *J. of High Resolution Chromatography*, 17: 91-94, fey, 1994.

COSTELL, E.; VICENTA-PASTOR, M.; IZQUIERDO, L. & DURAN, L. **Relationships between acceptability and sensory attributes of pech nectars using internal preference mapping.** *European Food Research and Technology*, 211 (3): 199 - 204, 2000.

CRANDALL, P.G.; DAVIS, K.C.; CARTER, RD. & SADLER, G.D. **Viscosity reduction by homogenization of orange concentrate in a pilot plant TASTE evaporator.** *J. Food Sci.*, 53: 1477-1481, 1988.

CRUESS, W.V. & CELMER, R. **Utilization of surplus apples.** *Fruit Products J.*, 17 (11): 326-328, 1938.

CZERWINSKI, J.; ZYGMUNT, B. & NAMIESNEK, J. **Headspace solid-phase microextraction for the GC-MS analysis of terpenoids in herb based formulations.** *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 356 (1): 80 - 83, 1996.

DAILLANT-SPINLER, B.; MACFIE, H.J. H.; BEYTS, P.K. & HEDDERLEY, D. **Relationships between perceived sensory properties and major preference directions of 12 varieties of apples from Southern Hemisphere.** *Food Quality and Preference*, 7 (2): 113 – 126, 1996.

DAVIN, A. & BEN AMIN, R. **Resultats recents dans l'utilisation des techniques a membrane appliquees aux jus de fruits.** XXI Symposium Internationale des Producteurs de Jus de Fruit :397-405, 1991.

DEAK, T & BEAUCHAT, L.R. **Yeasts associated with fruit juice concentrates.** *J. of Food Protection*, 56: 777-782, 1993.

DEIBLER, K.D.; ACREE, T.E. & LAVEN, E.H. **Solid-phase microextraction application in gas chromatography/olfactometry dilution analysis.** *J. Agric. Food Chem.*, 47 (4): 1616 – 1618, 1999.

DELIZA, R. 1996. **The role of expectation on sensory perception and acceptance.** PhD Thesis.

DELIZA, R.; CABRAL, L.C.; VIEIRA, C.R. **Preferência do consumidor para patê de “tofu”.** *Anais do XVI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Rio de Janeiro, RJ. p. 486, 1998.

DELIZA, R.; CABRAL, L.C.; VIEIRA, C.R. & WAKELING, I. **Mapa da Preferência: Avaliação de produtos de soja.** *Anais do III Congresso Latino-americano de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, SP, p..208, 1999.

DEVER, M.C.; CLIFF, M. & LAU, L.O. **Maturity and ripening effects on chemical and sensory properties of apple juice.** *J. of Sci. Food Agric.*, 60: 355-360, 1992.

DIAZ, N & RIVERA, J. **Tentative identification of volatile compounds of pineapple juice from Red Spanish and PR1-67.** *J. Agric. of University of Puerto Rico*, 73(3): 189-194, 1989.

DIJKSTERHUIS, G. **Multivariate data analysis in sensory and consumer science: An overview of developments.** *Trends in Food Science and Technology*, 61- June: 206 – 211, 1997.

DOKO, M.B.; VALENTE, M.; JACOB, M. & PUECH, A. **Consequences of *fouling* and macromolecule adsorption onto ultrafiltration membrane for pineapple juice processing.** *J. Food Process. Engine.*, 14: 279-289, 1991.

DUBE, M.K. & PETERSON-DALY, J. **A unique approach to the analysis and discrimination of aroma across a wide variety of samples types.** IFT, 108, 1996.

DUXBURY, D.D. **Specialty pectinase enzyme increases juice yields 10-13%.** *Food Processing*: 14, dec., 1986.

ELMORE, J.S.; ERBAHADIR, M. A. & MOTTRAM, D. S. **Comparison of dynamic headspace concentration on Tenax with solid phase microextraction for the analysis of aroma volatiles.** *J. Agric. Food Chem.*, 45 (7): 2638-2641, 1997.

ELMORE, J.R.; HEYMANN, H.; JHONSON, J. & HEWETT, J.E. **Preference Mapping: relating acceptance of “creaminess” to a descriptive sensory map of a semi-solid.** *Food Quality and Preference*, 10 (6): 465 - 475, 1999.

ENIGL, D.C.; KING JR, A.D. & TOROK, T. ***Talaromyces trachyspermus*, a heat-resistant mold isolated from fruit juice.** *J. Food Protection*, 56, december, 1039-1041, 1993.

ESKEN, N.A.M. **Biochemical changes in raw foods: Fruits and vegetables.** In: *Biochemistry of Food*, Academic Press, California, 2^a edição, 69-165, 1990.

ESTEBAN, J.L; MARTINEZ-CASTR0, I. & SANZ, J. **Evaluation and optimization of the automatic thermal desorption method (ATD) in the gas chromatographic determination of plant volatile compounds.** *J. Chromatography A*, 657: 155-164, 1993.

ETIÉVANT, P.X. 1991. **Wine**. In: **Volatile Compounds in Food and Beverages**. Ed. H. Maarse):506-509, Marcel Dekker, New York.

EWADDH, E. H. **Studies on commercially canned juices produced locally in Saudi Arabia: Part 3 – Physicochemical, organoleptic and microbiological assessment**. *Food Chemistry*, 44: 103-111, 1992.

FANE, A.G. **Pressure-driven membrane process-microfiltration, ultrafiltration and reverse osmosis**. *1st Latin American School on Membrane Processes*, 3-6 august, 1994, Rio de Janeiro.

FEITOSA, T.; BASTOS, M. S.R; OLIVEIRA, M.E.B.; MUNIZ, C.R; LEMOS, T. & OLIVEIRA, S.C.A. **Avaliação microbiológica e microscópica em polpa de frutas tropicais**. *Bol. SBCTA*, 33(1):33-37, 1999.

FLAVOR BASE. Version 2.5. Copyright 1989-1994 by John C. Leffingwell.

FOGARTY, J.L.F. & WARD, P.P. **Pectinases and pectic polysaccharides**. *Progress in Industrial Microbiology*, 13:59-119, 1974.

FORBES, M. **Crossflow microfiltration**. *Australian J. of Biotechnol*, 1: 30-33, 1987.

FORGET, D & DELTEIL, D. **Example of use of preference mapping for adaption of the profile of a wine to the intended market**. *Revue des Oenologues et des Techniques Vitivinicoles et Oenologiques*, 88: 25 - 26, 1999.

FRANCO, M.R.B. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. **Trapping of soursop (*Annona muricata*) juice volatiles on Porapak Q by suction**. *J. Sci. Food Agric.*, 34, 293-299, 1983.

FRANCO, M.R.B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. & DAMASIO, M.H. **Volatile components and flavor of papaya (*Carica papaya* L.)**. *Food Flavor, Ingredients and Composition*. Elsevier Science Publishers B.V., pp.371-379, 1993.

FRANCO, M.R.B. & RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **Componentes voláteis de duas espécies de mamão.** *Arq. Biol. Tecnol.* 36(3), pp.613-632, setembro, 1993.

FRANK, H.K. **Diffusion of aflatoxin in foodstuff.** *Industrie delle Bevande*, 14:599-606, 1968.

FUCHS, G.; HODSOMMER, H.J.; KNECHTEL, W.; NEUHAUSER, K. & WALLRAUCH, S. *Flussiges Obst.*, 60: 166-170, 1993.

GAO, L.; BEVEREDGE, T. & REID, C.A. **Effects of processing and packaging conditions on haze formation in apple juices.** *Lebensm. Wiss.u. Technol.*, 30:23-29, 1997.

GARRIDO, V. M.; SIMS, C. A.; MARSHALL, M.R. & BATES, R. P. **Factors influencing ellagic acid precipitation in muscadine grape juice during storage.** *J. of Food Sci.*, 58(1): 193-196, 1993.

GARZA, S.; PIRO, A.; VINAS, I. & SANCHIS, V. **Isolation and identification of spoilage organisms in commercial peach puree.** *Italian J. of Food Science*, 3: 351-355, 1994.

GARZA, G.S. & IBARZ, A. **Comportamiento reológico de cremogenado de melocotón.** *Braz. J. Food Technol.*, Campinas, 1(1, 2): 12-24, jan/dez. 1998.

GARZA, S. & SANCHIS, V. **Principales agentes microbiológicos causantes de alteraciones em zumos, concentrados y cremogenados de frutas.** *Alimentaria*, setembro: 31-35, 1998.

GAVA, J.R. **Clarificação de suco de maracujá (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Deg.) por microfiltração e sua aplicação em refrigerante.** UFRT: RJ, 1996. 115 p. (Tese de Mestrado em Alimentos).

GEHLERT, G. LUQUE, S. & BELFORT, G. **Comparison of ultra and microfiltration in the presence and absence of secondary flow with polysaccharides, proteins, and yeasts suspensions.** *Biotechnol. Prog.*, 14: 931-942, 1998.

GHERARDI, S.; CARERI, M.; BOLZONI, L.; ALDINER, & TRIFIRO, A. **Influenza dei processi di ultrafiltrazione e di osmosi inversa sulla composizione aromatica di puree di pera e di pesca.** *Industrie Conserve*, 64: 199-206, 1989.

GHERARDI, S.; DALL'AGLIO, G.; CARPI, G. & VERSITANO, A. **Sulla composition del succo di ananas da frutti di diversa provenienza.** *Industrie Conserve* 47(4): 283-286, 1972.

GHERARDI, S.; LARATTA, B.; LOUIDICE, R.; TRIFIRO, A.; ADDARIO, G.; ZANOTTI, A. & CASTALDO, D. **Sulla tecnologia di produzione del succo di ananas: composizione del succo e termoresistenza della pectin-metilestearasi.** *Industrie Conserve*, 69:19-203, 1994.

GIRARD, B. & FUKUMOTO, L.R. **Apple juice clarification using microfiltration and ultrafiltration polymeric membranes.** *Lebensmittel- Wissenschaft und Technologie*. 32 (5): 290 – 298, 1999.

GOKMEN, V.; BORNEMAN, Z & NIJHUIS, H. **Improved ultrafiltration for color reduction and stabilization of apple juice.** *J. Food Sci.*, 63(3):504-507, 1998.

GOMES-RUIZ, L.; GARCIA-GARIBAY, M. & BARZANA, E. **Utilization of endopoligalacturonase from *Kluyveromyces fragilis* in the clarification of apple juice.** *J. Food Sci.*, 53(4):1236-1240, 1988.

GÓMEZ, E.; LEDBETTER, A.C. & HARTSELL, L.P. **Volatile compounds in apricot, plum, and their interspecific hybrids.** *J. Agric. Food Chem.*, 1993, 41, 1669-1676.

GRIMM, C.C.; LLOYD, S.W.; MILLER, J.A. & SPANIER, A.M. **The analysis of food volatiles using direct thermal desorption.** In: *Techniques for Analyzing Food Aroma*. Ed. Ray Marili. New York, 1997, 384p.

GUIDOTTI, M & VITALI, M. **Identification of volatile organic compounds present in different honeys through SPME and GC/MS.** *Industrie Alimentari*, 37 (368):351 -356, 1998.

GUINARD, J.X.; UOTANI, B. & SCHILICH, P. **Internal and external mapping of preferences for commercial lager beers: comparison of hedonic ratings by consumers blind versus with knowledge of brand and price.** *Food Quality and Preference*, 12:243-255, 2001.

HARMON, D.A. **Solid-phase microextraction for the analysis of flavors.** In: *Techniques for Analyzing Food Aroma*. Ed. Ray Marsili, 1997, 384p.

HAWTHORNE, S.B.; MILLER, D.I.; PAWLISZYN, J. & ARTHUR, C.L. **Solventless determination of caffeine in beverages using solid-phase microextraction with fused-silica fibers.** *J. Chromatogr.*, 603: 185-191, 1992.

HASHIZUME, T. & LATTIMIER, O. T. **Utilização de ULTRAZYM 100 na clarificação de suco de uva.** *Coletânea do Inst. Tecn. Alimentos*, 5: 117-127, 1973/1974.

HEATHERBELL, D.A.; SHORTS. & STRUEB, P. **Apple juice clarification by ultrafiltration.** *Confructo*, 22: 157-169, 1977.

HEATHERBELL, D.A. **Fruit juice clarification and fining.** *Confructo*, mai/juni, III: 192-197, 1984.

HERNANDEZ, E.; CHEN, C.S.; SHAW, E.; CARTER, R.D. & BARROS, S. **Ultrafiltration of orange juice: effect on soluble solids, suspended solids, and aroma.** *J. Agric. Food Chem.*, 40: 986-988, 1992.

HERNANDEZ, E.; CHEN, C.S.; JOHNSON, J. & CARTER, R.D. **Viscosity changes in orange juice after ultrafiltration and evaporation.** *J. Food Engin.*, 25: 387-396, 1995.

HIRVI, T. & HONKANEN, E. **The volatiles of two new strawberry cultivars, “annelie” and “alaska pionne”, obtained by backcrossing of cultivated strawberries with wild strawberries, *fragaria vesca*, *rugen* and *fragaria virginiana*.** *Z. Lebensm. Unters Forsch*, 175, 113-116, 1982

HOFFMANN, F. L. ; GARCIA-CRUZ, C.H. ; PAGNOCCA, F. C. ; VENTURIM, T.M. & MANSOR, A.P. **Microrganismos contaminantes de polpas de frutas.** *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 17 (1):32-37, jan-abr. 1997.

HORTINEWS. *Instituto de Estudos de Conjuntura e Desenvolvimento.* Ano IX, n.º. 2: 7, julho, 1998.

HUELSEN, U. **Alternative heat treatment processes.** *European Dairy Magazine.* 3: 20, 22 e 24, 1999.

HULME, A.C. **The biochemistry of Fruits and Theirs Products.** V.2. Academic Press., 763p., 1971.

HURTADO, C.M.M.; MARQUES, C.D. & ISASA, T.M.E. **Influencia del tiempo de almacenamiento en zumo comercial de piña.** *Alimentacion, Equipos y Tecnol.*, 45-49, junho, 1994.

MARZ, A.; GONZALEZ, C.; ESPLUGAS, S. & VICENTE, M. **Rheology of clarified fruit juices. I: Peach juices.** *J. Food Engin.*, 15:49-61, 1992.

IBGE. 2000. Produção de Abacaxi e de Suco de Abacaxi. Consulta via internet de 27/06/200. home page: www.ibge.org.

ISLAM, M.N. COLON, T. & VARGAS, T. **Effects of solar exposure on the vitamin C contents of tropical fruits.** *Food Chemistry*, 48: 75 -78, 1993.

ITOUA-GASSAYE, S.; COURTOIS, T.; MIETTON-PEUCHOT, M.; DAVIN, A. & BEN AIM, R. **Résultats récents dans l'utilisation des techniques à membrane appliquées aux jus de fruits.** *Symposium of the Intern. Federation of Fruit Juice Producers XXI* - Paris, 16/18 maio de 1990.

ITOUA-GASSAYE, S.; DAVIN, A.; MIETTON-PEUCHOT, M. & BEN AMIN, R. **Interet des techniques a membrane dans la production de jus tropicaux (cas de jus clarifies de'**

ananas) B - Evolution des composants a caractere organoleptique au cour du procede. *Fruits* 46 (4): 453-459, 1991.

ITOUA-GASSAYE, S; DAVIN, A & MIETTON-PEUCHOT, M. **Facteurs influencant la retention des aromes en filtration tangentielle des jus de fruits.** *Recents Prog. Genie Procedes*, 5 (15), 1991.

JARVENPAA, E.P.; ZHOUYAO, Z; HUOPALAHTI, R. & KING, J.W. **Determination of fresh onion (*Allium cepa* L.) volatiles by solid-phase microextraction combined with gas chromatography mass spectrometry.** *Food and Research Technol.*, 207 (1): 39 -43, 1998.

JAYATILAKA, A.P.; POOLE, S.K. & POOLE, C.F. **Solid-phase microextraction of flavor compounds from cinnamon and their separation by series coupled-column GC for the identification of botanical origin of cinnamon commerce.** Abstract of the 1995 Pittsburg Conf., 472 pp, New Orleans, March 5-10, 1995.

JELLEN, H.H.; OBUCHOWSKA, M.; ZAWIRSKA-WOJTASIAK, R. & WASOWICZ, E. **Headspace solid-phase microextraction use for the characterization of volatile compounds in vegetable oils of different sensory quality.** *J. Agric. Food Chem.*, 48 (6):2360-2367, 2000.

JIRARATANON, D.; UTTAPAP, D. & TANGAMORNSIKSUN, C. **Self-forming dynamic membrane for ultrafiltration of pineapple juice.** *J. Membrane Science*, 129: 135-143, 1997.

JOHNSON, J.R.; BRADDOCK, R.J. & CHEN, C.S. **Flavor losses in orange juice during ultrafiltration and subsequent evaporation.** *J. Food Sci.*: 61 (3) 540-543, 1996.

JONES, P.R.H.; EWEN, R.J. & RATCLIFFE, N.M. **Simple methods for the extraction and identification of amine from spoiled foodstuffs.** *J. Food Composition and Analysis*, 11 (3): 274-279, 1998.

JUAREZ, M.S. & PAREDES-LOPEZ, O. **Studies on jicama juice processing.** *Plant Foods for Human Nutrition*, 46:P 127 - 131, 1994.

KAWAKAMI, M.; KOBAYASHI, A & KATOR, K. **Volatile constituents fo rooibos tea (*Aspathus linearis*) as affected by extraction process.** *J. Agric. Food Chem.*, 41, pp.633-636, 1993.

KEEFE, R.J. **The US\$ 370, 000 Question. Ultrafiltration/Economics.** *Food Engin.* July, 73-76, 1984.

KIM, J.H.; HUR, S.S. & CHOI, Y.H. **Studies on the efficient clarification process of apple juice with ultrafiltration process.** *Foods and Biotechnol.*, 4 (2): 79-84, 1995.

KIRK, D.E; MONTGOMERY, M.W. & KORTEKAAS, M.G. **Clarification of apple juice by hollow fiber ultrafiltration.** *J. Food Sci.*, 48: 1663-1666, 1983.

KONDRASHOV, G.A. & KONDRASHOVA, R.G. **Microfiltration of fruit juice.** *Izvestiya Vyschikh Uchebnykh Zavedenii, Pishchevaya Tekhnologiya*, 1/2, 42-43, 1996.

KOOIMAN, W.J. **Microbiological aspects of soft drinks and fruits spreads.** In: Ecologia microbiana de los alimentos 2, V. 11. *Produtos alimentácios.* ICMFS, Ed. Acribia, 1985.

KOSEOGLU, S.S.; LAWHON, J.T. & LUSAS, E.W. **Uses of membranes in citrus juice processing.** *Food Techn.*, december, 90-97, 1990.

KOULIBALY, A.; SAKHO, M. & CROUZET, J. **Variability of free and bound volatile terpenic compounds in mango.** *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, 25, 374-379, 1992.

KRUEGER, D.A.; KRUEGER, G.R. & MACIEL, J. **Composition of pineapple juice.** *J.A.O.A.C. Intern.*, 75 (2) :280-282, 1992.

KUO, M.C.; CHEN, S.L.; WU, C.M. & CHEN, C.C. **Changes in volatile components of passion fruit juice as affected by centrifugation and pasteurization.** *J. Food Sci.*, 50: 1208-1210, 1985.

LAJURAND, M. & SMIT, H.C. **Comparison of sample concentration methods and correlation chromatography for polymer dynamic *headspace* studies.** *Chromatographia*, 39, 3/4, august.:210-215, 1994.

LATRASSE, A.; RIGAUD, J. & SARRIS, J. **L'arome du cassis (*Ribes nigrum* L.) odeur principale et notes secondaires.** *Sciences des Aliments*, 2: 145-162, 1982.

LAWRENCE, J.F. **Food constituents and food residues. Their chromatographic determination.** Ed. Dekker, USA. 184.

LEA, A.G. H. **Tannin, color and, stability in fruit products: The effects of polyphenols.** in: HEMINGWAY, R.W. and LAKS, P. E. (eds.), *Plant Polyphenols*. New York, NY: Plenum Press, p. 827 (1992).

LENGGENHAGER, T. & LYNDON, R. **Profit generating benefits of ultrafiltration and adsorber technology.** *Fruit Processing - Juice Treatmen*. 150-256, 1998.

LOSANO, L.E.; CONSTENLA, D.T.; SORRIVAS, V. & FORBITO, P.R. **Hollow fiber ultrafiltration of apple juice. Microscopic approach.** *IFT International Meeting*. Book of Abstracts. 207, 1996.

LOW, N. H.; BRAUSE, A. & WHIHELMSSEN, E. **Normative data for commercial pineapple juice from concentrate.** *J. A. O. A. C. Intern.*, 77(4): 965 – 975, 1994.

LUM, O.L.; WONG, M.K. & LEE, C.K. **A simple *headspace*-gas chromatographic method for the quantitative determination of organic volatiles of fresh orange juice.** *Food Chem.*, 37: 313-317, 1990.

MACFIE, H.J. & BRATCHELL, N. **Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests.** *J Sensory Studies*, 4: 129-148, 1989.

MACKU, C. & SHD3AMOTO, T. **Applications of simultaneous purging and solvent extraction technique for flavour monitoring of natural products.** *Food Chem.*, 42: 121-127, 1991.

MALDONADO, J. **Membranas e processos de separação.** Instituto Nacional de Tecnologia, Rio de Janeiro, 1991.

MANS, J. **Next generation membrane systems find new applications.** *Prepared Foods*, april: 69-70, 1988.

MARCINKOWSKY, A.E.; PHILIPS, H.O. & SHON, J.S. **Hyperfiltration studies (IV) salt rejection by dynamically formed hydrous oxide membrane.** *J. Am. Chem. Soc.*, 88, 5744, 1966.

MARSHALL, C. R. & WALKEY, V.T. **Some aspects on microbiology applied to commercial apple juice production. V. Thermal death rates of spoilage organisms in apple juice.** *Food Research*, 17: 204-211, 1952.

MARSILI, R.T. **SPME-MS-MVA as an electronic nose for the study of off-flavors in milk.** *J. Agric. Food Chem.*, 47(2): 648-654, 1999.

MARTIN, J.J. SOLANES, E.; BOTA, E. & SANCHO, J. **Evolucion quimica y organoleptica del zumo de naranja pasterizado.** *Alimentaria*. :59-63, abril, 1985.

MATHEIS, J.P.; T, D.A. & FELLMAN, J.K. **Volatile compounds by sweet cherries (*Prunus avium* Cv. Bing) during fruit development and ripening.** *J. Agric. Food Chem.*, 40, pp.471-474, 1992.

MATICH, A.J.; ROWAN, D.D. & BANKS, N. H. **Solid-phase microextraction for quantitative *headspace* sampling of apple volatiles.** *Analytical Chemistry*, 68 (23): 4114 - 4118, 1996.

MAWELE SHAMAILA, M.; POWRIE, W. D. & SKURA, B.J. **Analysis of volatile compounds from strawberry fruit stored under modified atmosphere packaging (MAP).** *J. Food Sci.*, 57, n.5, 1992, 1173-1176.

McGRATH, M.J. & KARAHADIAN, C. **Evolution of headspace of volatiles and sensory characteristic of ripe pawpaws (*Asimina triloba*) from selected cultivars.** *Food Chemistry* 51, pp.255-262, 1994.

MERLO, C.A.; ROSE, W.W. & EWING, N.L. **Membrane filtration handbook/Selection guide.** *National Food Processor Association*, Dublin, august, 1993, 281 p.

MICHAELS, A.S. **Ultrafiltration: an adolescent technology.** *CHEMTECH* jan.: 36-46, 1981.

MÍKOVA, K.; HAVLÍKOVÁ, L.; VÉLISEK, J.; VÍEDEN, I. & PUDIL, F. **Neutral flavour components of eldeberries and eldeberry products.** *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, 17: 311-313, 1984.

MILLIPORE - Pharmaceutical process filtration catalogue. 1992/1993.

MILNES, B.A.; BRESLAU, B.R. & REARDON, P.C. **The application of ultrafiltration to apple juice processing.** *Process Biochem.*, 21 (4, Supplement): viii-xi, 1986.

MILNES, B.A.; AGMON, G. & MASET, R. **Opportunities for upgrading of citrus juice and by products using combined technology.** IFT Annual meeting. Book of Abstracts: 108, 1996.

MINISTERIO DA SAUDE. Portaria n° 12 de 02 de janeiro de 2001. Secretaria de Vigilância Sanitária.

MISHARINA, T.A.; GOLOVNYA, R.V. & BELETSKY, I.V. **Comparison of the efficiency of isolation of volatiles from foodstuffs by co-distillation and Likens-Nickerson methods.** *Trends in Flavour Research*, Elsevier Science B.V., 1994, pp.

MIYAKE, T. & SHIBAMOTO, T. **Quantitative analysis of acetaldehyde in foods and beverages.** *J. Agric. Food Chem.*, 41: 1968 - 1970, 1993.

MODESTA, R.C.D. **Manual de Analise Sensorial de Alimentos e Bebidas. Tomo I – Geral.** EMBRAPA, Rio de Janeiro, 1994.

MONTANA, C.M.; DIEZ, C.; ESPERANZA, T.M. & CANO, M.P. **HPLC determination of organic acids in pineapple juices and nectars.** *Zeitschrift-für-Lebensmittel-Untersuchung-und-Forschung*; 198 (1) 52-56, 1994.

MONTELEONE, E.; FREWER, L.; WAKELING, I & MELA, D.J. **Individual differences in starchy food consumption: The application of preference mapping.** *Food Quality and Preference*, 9 (4): 211 – 219, 1998.

MORALES, A.L.; ALBARRACIN, D.; RODRIGUEZ, J. DUQUE, C.; RIAJSIO, L.E. & ESPITALA, J. **Volatile constituents from Andes berry (*Rubus glaucus*, Benth.).** *J. High Resolution Chromatogr.*, 19:585-587, 1996.

MOSHONAS, M.G. & SHAW, P. E. **Qualitative analysis of orange juice flavor volatiles by direct injection gas chromatography.** *J. Agric. Food Chem.*, 35: 161-165, 1987.

MOSLANG, H. **Ultrafiltration in the fruit juice industry.** *Confructa Studien* 28 (3): 219-224, 1984.

MULLER, G. 1981. **Microbiologia de los alimentos vegetales.** Ed. Acribia. Saragoza.

MURRAY, K. E.; SHIPTON, J. & WHITFIELD, F. B. **The chemistry of food flavor. I. Volatile constituents of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims.)** *Australian J. Chem.*, 25: 1921-1933, 1972.

NARAIN, N. & BORA, S.P. **Post-harvest changes in some volatile flavour constituents of yellow passion fruit (*Passiflora edulis*, f. *flavicarpa*).** *J. Sci. Food Agric.*, 60, 529-530, 1992.

- NGUYEN, M.H. **Australian developments in membrane processing of liquid foods.** *Food Austr.*, 48 (5): 232-233, 1996.
- NISPERO-CARRLEDO, M.O. & SHAW, P.E. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 1048-1052, 1990.
- NÚÑEZ, A.J.; BEMELMANS, J.M.H. & MAARSE, H. **Isolation methods for the volatile components of grapefruit juice. distillation and solvent extraction methods.** *Chromatographia*, 18 (3), 153-158, march., 1984.
- O'SULLIVAN, T. **High quality utilities in the food and beverage industry.** *Daily, Food and Environmental Sanitation*, april: 216-219, 1992.
- OGIHARA, H.; HORIMOTO, Y.; WANG, Z.H.; SKURA, B.J. & NAKAI, S. **Solid-phase microextraction/gas chromatography of Salmonella-infected beef.** *J. of Agric. Food Chem.*, 48(6): 2253-2259, 2000.
- OKE, O. L. **Ascorbic content of some Nigerian foodstuffs.** *West African Pharmacists*, 8 (5); 92-95, 1966.
- OLIAS, J.M.; SANZ, C.; RIOS, J.J. & PÉRES, A.G. **Substrates specificity of alchool acyltransferase from strawberry and banana fruits.** In: *Fruit Flavors*. ACS Symposium Series, 596: 135-141, 1995.
- ONG, P.K.C. & ACREE, T.E. **Similarities in the aroma chemistry of Gewuerztraminer variety wines and lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit.** *J. Agric. Food Chem.*, 47 (2): 665-670, 1999.
- ORTEGA, A.G.; PINO, J.A.; MARBOT, R; ROSADO, A. & GONZÁLEZ, G. **Estudio de los componentes volatiles y perfil sensorial de cuatro cultivares de guayaba (*Psidium guajava* L.).** *Alimentaria*, diciembre, 31 – 35, 1998.
- OSZMIANSKI, J. & LEE, C.Y. **Enzymatic oxidative reaction of catechin and chlorogenic acid in a model system.** *J. Agric. Food Chem.* 38: 1202, 1990.

PADILLA-ZACOUR, O. & MCLELLAN, M.R. **Molecular weight cut-off of ultrafiltration membranes and the quality and stability of apple juice.** *J. Food Sci.* 54 (5): 1250-1254, 1989.

PADILLA-ZACOUR, O. & MCLELLAN, M.R. **Optimization and modeling of apple juice crossflow microfiltration with ceramic membrane.** *J Food Sci.*, 58 (2):369-388, 1993.

PAGE, B.D. **An overview of analytical methods for phthalate esters in food.** ACS Symposium Ser. Am. Chem. Soc. Washington DC: The Society: 118 - 135, 1988.

PAGE, B.D. & LACROIX, G. **Application of solid-phase microextraction to the headspace gas chromatographic analysis of halogenated volatiles in selected foods.** *J. Chromatogr.*, 603:199, 1993.

PAIK, J.S. & VENABLES, A.C. **Analysis of package orange juice volatiles using headspace gas chromatography.** *J. Chromatography*, 540: 456 - 463, 1991.

PASTOR, M.V.; COSTELL, E.; IZQUIERDO, L. & DURAN, L. **Optimizing acceptability of a high fruit-low sugar peach nectar using aspartame and guar gum.** *J. Food Science*, 61 (4) 852 – 855, 1996.

PAWLISZYN, J. **Solid-phase microextraction: theory and practice;** Wiley – UHC; New York, NY, 1997, 450p.

PELEGRINE, D.H.; VIDAL, J.R.M. & GASPARETTO, C.A. **Estudo da viscosidade aparente das polpas de manga (Keitt) e abacaxi (Perola).** *Cienc. TecnoL Aliment.*, 20(1): 128-131, jan/abr., 2000.

PENTON, Z.E. **Sample preparation for gas chromatography with solid phase extraction and solid-phase microextraction.** *Advances in Chromatography*, 37: 205 – 236, 1997.

PEPPARD, L.T. **Volatile flavor constituents of *Monstera deliciosa*.** *J. Agric. Food Chem.*, 40, 257-252, 1992.

PEPPER, D. **From cloudy to clear.** *Food, Flavouring, Ingredients, Packaging and Processing*, 9 (10): 65-68, 1987.

PETERSEN, M.A.; POLL, L. & LARSEN, M. **Comparison of volatiles in raw and boiled potatoes using a mild extraction technique combined with GC odour profiling and GC-MS.** *Food Chemistry*, 61 (4): 461-466, 1993.

PIGGOT; J.R.; PATERSON, A. & CLYNE, J. **Prediction of flavour intensity of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) soft drinks from compositional data on fruit concentrates by partial least squares regression.** *Intern. J. Food Sci. Techn.*, 28: 629-637, 1993.

PILANDO, L.S. & WROLSTAD, R.E. **Compositional profiles of fruit juice concentrates and sweeteners.** *Food Chemistry*; 44 (1): 19-27, 1992.

PINO, J.A.; BORGES, P. & RONCAL, E. **Diferenciacion del aceite esencial de cuatro especies de oregano por cromatografia gas-liquido.** *Alimentaria*, julho/agosto: 105-107, 1993.

PINO, J.A. **Los componentes volatiles del cacao: metodos de analisis y resultados cualitativos.** *Alimentaria*, dezembro, pp.85-92, 1993.

PINO, J. A.; CASTRO, D.; RONCAL, E. & ROSADO, A. **Componentes volatiles de la piña: metodo para su analysis en relacion com cambios debidos a la deshidratacion osmotica.** *Alimentaria*, december: 61 – 63, 1995.

PINO, J.A. **Los constituyentes volatiles de las frutas tropicales IV. Kiwi, Carambola y Mangostán.** *Alimentaria*, octubre: 47 –50, 1997.

PINO, J.A. **Los constituyentes volatiles del tamarindo. (*Tamarindus indica* L.).** *Alimentaria*, 292: 85-87, maio, 1998.

PINO, J. A. ; RO S A D O, A. ; RONCAL, E. ; MARB OT, R. ; ARGUERO, J. & GONZALEZ, G. **Estudio de los componentes responsables del aroma y sabor de frutas del genero *Annona*. *Alimentaria*, diciembre: 81 - 84, 1998.**

POLL, L. & FLINK, J.M. **Aroma analysis of apple juice: influence of salt addition on *headspace* volatile composition as measured by gas chromatography and corresponding sensory evaluations. *Food Chem.*, 13, 193-207, 1984.**

PONS, M.N.; PICHON, D. & AMBER, M. **Monitoring of alcoholic fermentation of fruit juices via a gas membrane sensor. *J. Fermentation and Bioengineering*, 68(4): 282 – 285, 1989.**

PRICE, M.L. & BUTLER, L.G. 1967 **Tannins and Nutrition**. Station Bulletin, 272, Department of Biochemistry. Agricultural Experiment Station. Purdue University, West Lafayette, Indiana, U.S.A. 37p.

PROSEN, H.; ZUPANCIC, K.L. **Solid-phase microextraction. *Trends in the Analytical Chemistry*, 18 (4): 272-282, 1999.**

QUACH, M.L.; CHEN, D.X. & STEVENSON, R.J. **Headspace sampling of whey protein concentrate solutions using solid phase microextraction. *Food Research International*, 31 (5): 371 – 379, 1998.**

QUÍROS, A.I.R.B.; CASTRO, M.J.G.; HERNÁNDEZ, J.L. & LOZANO, J.S. **Técnicas analíticas aplicadas a la determinación de compuestos aromáticos en alimentos vegetales. *Alimentaria*, 73-78, 1998.**

RADFORD, T.; KAWASHIMA, K.; FRIEDEL, P.K.; POPE, L.E. & GIANTURCO, M. A. **Distribution of volatile compounds between pulp and serum of some fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 22 (6): 1066-1070, 1974.**

RAO, M.A.; ACREE, T.E.; COOLEY, H.J. & ENNIS, R.W. **Clarification of apple juice by hollow fiber ultrafiltration: fluxes and retention of odor-active volatiles.** *J. Food Sci.* 52 (2): 375-377, 1987.

RASMASWANY H.S. & BASAK, S. **Pectin and raspberry concentrate effects on the rheology of stirred commercial yogurt.** *J. Food Sci.* 57 (2): 357-360, 1992.

REEDL, K.M.; LENCKI, R.W. & GIRARD, B. **Effect of membrane and fouling layer morphology on permeate flux during apple juice microfiltration.** *IFT Annual Meeting. Book of Abstracts*, 174p., p. I082, 1996.

RIZZOLO, A.; POLESELLO, A. & POLESELLO, S. **Use of headspace capillary gc to study the development of volatile compounds in fresh fruit.** *J. High Resolution Chromatography*, V.15, July, 1992, pp.472-477.

ROBERTS, D.D.; POLLIEN, P. & MILO, C. **Solid-phase microextraction method development for headspace analysis of volatile flavor compounds.** *J. Agric. Food Chem.*, 48 (6): 2430-2437, 2000.

ROBERTS, J.J. **Membrane technology: basic principles, latest developments and applications.** *Food Indust. South Africa*, April, 27-29, 1994.

ROBERTS, D.D.; POLLIEN, P. & MILLO, C. **Solid-phase microextraction method development for headspace analysis of volatile flavor compounds.** *J. Agric. Food Chem.*, 48 (6):2430-2437, 2000.

RODRIGUEZ-B ERNALDO DE QUEIRÓS, A. I. ; GONZALEZ-CASTRO, M. J. ; LOPEZ-HERNANDEZ, J. & SIMAL-LOZANO, J. **Técnicas analíticas aplicadas a la determinación de compuestos aromáticos en alimentos vegetales.** *Alimentaria*, diciembre, 73-79, 1998.

RUIZ, J.; CAVA, R.; VENTANAS, J. & JENSEN, M.T. **Headspace microextraction for the analysis of volatiles in a meat product: dry cured Iberian ham.** *J. Agric. Food Chem.*, 46 (11): 4688 - 4694, 1998.

SABAREZ, H.T.; PRICE, W.E. & KORTH, J. **Volatile changes during dehydration of d'Agen prunes.** *J. Agric. Food Chem.*, 48 (5): 1838 - 1842, 2000.

SAGRERO-NIEVES, L.; BARTLEY, J.P. & PROVIS-SCHWEDE, A. **Supercritical extraction of the volatile components from the leaves of *Psidium guajava* L. (Guava).** *Flavour and Fragrance J.*, 9: 135-137, 1994.

SAKHO, M.; CHASSAGNE, D.; JAUS, A.; CHIARAZZO, E. & CROUZET, J. **Enzymatic maceration: effects on volatile components of mango pulp.** *J. Food Sci.*, 63(6), 1998.

SAS Institute. SAS User's Guide: statistics. Cary, USA: SAS Inst., 1993.

SAURA, D., ROS, J.M.; CANOVAS, J.A. GOMEZ, E. & LAENCINA, J. **Tangential flow filtration with enzymatic treatment in clarification of lemon juice.** *Mededelingen-vcm-de-Faculteit-Landbouwwetenschappen-Rijksuniversiteit-Gent*, 56 (4b), 1705-1707, 1991.

SCHNEIDER, T. & CZECH, B. **Fruit Juice Processing – A view to advanced strategies.** *Fruit Processing*, 10: 302-306, 1994.

SCHOLS, H. A.; VELD, P. A.; VEM DEELEN, W. & VORAGEN, A.G.J. **The effect of the manufacturing method on the characteristics of apple juice.** *Z. Lebenm. Unters Forsch*, 192: 142-148, 1991.

SCHULTZ, T.H.; FLATH, R.A.; MON, T.R.; EGGLING, S.B. & TERANISHI, R. **Isolation of volatile components from a model system.** *J. Agric. Food Chem.*, 25 (3), 446-449, 1977.

SHAMAILA, M.; SKURA, A.B.; DAUBENY, H. & ANDERSON, A. **Sensory, chemical and gas chromatographic evaluation of five raspberry cultivars.** *Food Research Intern.*, 26, pp.443-449, 1993.

SHAW, P.E.; BUSLIG, B.S. & MOSHONAS, M.G. **Classification of commercial orange juice types by patterns recognition involving volatile constituents quantified by gas chromatography.** *J. Agric. Food Chem.*, 41: 809-813, 1993.

SHAW, P.E.; MOSHONAS, M.G. & BALDWIN, E.A. **Volatile constituents of *Cocolobo Uvifera*** *Phytochemistry*, 31, pp.3495-3497, 1992.

SHAW, P.E.; MOSHONAS, M.G.; NISPEROS-CARRIEDO, M.O.&CARTER, R.D. **Controlled atmosphere treatment of freshly harvested oranges at elevated temperature to increase volatile flavor components.** *J. Agric. Food Chem.*, 40, 1041-1045, 1992.

SHAW, F.C.; CARDEAL, Z.L. & CARVALHO, C.R. **Determinação de pesticidas organofosforados em água usando microextração em fase sólida e CGAR-EM.** *Química Nova*, 22(2): 1999.

SHAW, P.E.; LEBRUN, M.; DUCAMP, M.N.; JORDAN, M.J. & GOODNER, K.L. **Pineapple juice concentrated by osmotic evaporation.** Oral communication, 2000.

SHEU, M.J.; WHILEY, R.C. & SCHLIMME, D.V. **Solute and enzyme recoveries in apple juice clarification using ultrafiltration.** *J. Food Sci.*, 52(3): 732-736, 1987.

SHEU, M.J.; WHILEY, R.C. & SCHLIMME, D.V. **Fruits of some South America passion flowers.** *Fruchtsaft-Ind*, 7: 93-107, 1962.

SHIMODA, M. SHIRATSUCHI, H.; NAKADA, Y.; WU, Y & OSAJIMA, Y. **Identification of volatile and sensory characterization of volatile flavor compounds in sesame seed oil.** *J. Agric. Food Chem.*, 44: 3909-3912, 1997.

SHINOHARA, A.; SAT, A.; ISHII, H. & ONDA, N. **Capillary headspace – gas chromatography for the characterization of the flavour of fresh vegetables.** *Chromatographia*, 32, 7/8, October: 357 –363, 1991.

SHIOTA, H. **New steric component in the volatiles of banana fruit (*Musa sapientum* L.).** *J. Agric. Food Chem.*, 41, pp.2056-2062, 1992.

SHIRATSUCHI, H.; SHIMODA, M.; MINEGISHLY & OSAJIMA, Y. **Isolation and identification of volatile compounds in non-fermented coarse-cut sausage. *flavor* as a quality factor of non-fermented sausage 1.** *J. Agric. Food Chem.*, 41, pp.647-652, 1993.

SHORT, J.L. **Juice clarification by ultrafiltration.** Pro-Biotech-Separation, *Pro-Biotech*, out.: vi, 1983.

SILVA, F.C.; CARDEAL, Z.L. & CARVALHO, C.R. **Determinação de pesticidas organofosforados em água usando microextração em fase solida e CGAR-EM.** *Química Nova*, 22(2), 1999.

SIMS, C.A.; JOHNSON, R.P. & BATES, R.P. **Quality of a non-sulfited *Vitis rotundifolia* and a Euvitis hybrid white wine produced from ultrafiltered juices.** *American J. Etiology and Viticulture*, 40(4): 272 – 276, 1989.

SINHA, K.N.; GUYER, E.D.; GAGE, A.D. & LIRA, T.C. **Supercritical carbon dioxide extraction onion *flavors* and their analysis by gas chromatography-mass spectrometry.** *J. Agric. Food Chem.*, 1992, 40, 842-845.

SNYDER, J.M. & KING, J.W. **Analysis of volatile compounds from supercritical extracted soybeans by *headspace* gas chromatography and thermal desorption of a polymer adsorbent.** *J. Sci. Food. Agric.*, 1994, 64, 257-263.

SONG, J.; GARDNER, B.D.; HOLLAND, J.F. & BEAUDRY, R. M. **Rapid analysis of volatile *flavor* compounds in apple fruit using SPME and CG/time-of-flight mass spectrometry.** *J. Agric. Food Chem.*, 45 (5): 1801-1807, 1997.

SPENCER, G & THOMAS, R. **Fouling, cleaning and rejuvenation of formed-in-place membranes.** *Food Technology*, 45: 98-99, 1991.

SPLITTSTOESSER, D.F.; LEE, C.Y. & CHUREY, J.J. **Control of Alicyclobacillus in the Juice Industry.** *Dairy Food and Environmental Sanitation*, 19: 585-587, 1998.

SREENATH, H.K.; SUDARSHANAKRISHNA, K.R. & SANTHANAM, K. **Improvement of juice recovery from pineapple pulp/residue using cellulaese and pectinases.** *J. Fermentation and Bioengineering*, 78(6):486-488, 1994.

STEFFEN, A. & PAWLISZYN, J. **Analysis of flavor volatiles using headspace solid-phase microextracttion.** *J. Agric. Food Chem.*, 44: 2187 - 2193, 1996.

STUTZ, C. **The use of enzymes in ultrafiltration.** *Fruit Processing*, 7:248-252, 1993.

SU, S.K.; LIU, J.C. & WELEY, R.C. **Cross flow microfiltration with gas backwash of apple juice.** *J. Food Sc.*: 58 (3) 638-641, 1993.

SUAREZ, M. & DUQUE, C. **Change in volatile compounds during lulo (*Solanum vestissimum* d.) Fruit Maturation.** *J. Agric. Food Chem.*, 40: 647-649, 1992.

SWAINE, R.L.; MYERS, S.T.; FISCHER, M.C. MEYER, N. & POHLKAMP, B. **The formation of off-flavors in fortified juice-containing beverages: identification of 4-methyl-2-isopropylthiazole.** *Perfum and Flavourist*, 22, september/october:57 – 64, 1997.

SWANSON, K.M.J. 1989.**Microbiology and preservation.** In: Processed apple products, Dowling, D.L. (ed.) AVI Van Nostrand, New York.

SWIENTEK, R.J. **Ultrafiltration's expanding role in food and beverage processing.** *Food Processing*, 4:71, abril, 1986.

SZAJER, I. & SZAJER, C. **Clarification of apple juice by pectin-lyase from *Penicillium paxilli*.** *Biotechnol. Letters*, 4 (9): 553-556, 1982.

SZANIAWSKI, A. & SPENCER, H. G. **Effects of pectin concentration and crossflow velocity on permeability in the microfiltration of dilute pectin solutions by macroporous titania membranes containing immobilized pectinase.** *Biotechnol. Prog.*, 12: 403-405, 1996.

TAKEOKA, G.R.; BUTTERY, R.G.; TERANISHI, R.; FLATH, R.A. & GUENTERT, M. **Identification of additional pineapple volatiles.** *J. Agric. Food Chem.*, 39, 1848-1851, 1991.

TAKEOKA, G.R.; FLATH, R.A.; MON, T.R; TERANISM, R & GITENTERT, M. **Volatile constituents of apricot (*Prunus armeniaca*).** *J. Agric. Food Chem.*, 38, 471-477, 1990.

TAKEOKA, G.; BUTTERY, R.B.; FLATH, R.A; TERANISHI, R; WHEFLFR, E.L.; WIECZORECK, R.L. & GUENTER, M. **Volatile constituents of pineapple (*Ananas comosus* L. Merrill)** in: *Flavor Chemistry Trends and Developments*. Edited by Roy Teranishi, Ron G. Buttery and Fereidon Shahidi. ACS Symposium Series 388, Washington, 1989.

TAKEOKA, G.R.; BUTTERY, R.G. & FATH, R.A. **Volatile constituents of asian pear (*Prunus serotina*).** *J. Agric. Food Chem.*, 40, pp.1925-1929, 1992.

TARLERTON, E.S. & WALKERMAN, R.J. **Understanding flux decline in crossflow microfiltration: Part I – Effects of particles and pore size.** *Transm I Chem. Eng.*, 71: 399–409, 1993.

TATSUKA, K.; SUEKANE, S.; SAKAI, Y. & SUMITANI, H. **Volatile constituents of Kiwi - fruit flowers: simultaneous distillation and extraction versus headspace sampling.** *J. Agric. Food Chem.*, 38:2176-2180, 1990.

TCHANGO TCHANGO, J.T.; TAILLIEZ, R; EB, P.; NJINE, T. & HORNEZ, J.P. **Heat resistance of the spoilage yeasts *Candida peliculosa* and *Kloeckera apis* and pasteurization values for some tropical juices and nectars.** *Food Microbiology*, 14:93-99, 1997.

TCHANGO TCHANGO, J. T.; NJINE, T.; TAILLIEZ, R.; EB, P.; & HORNEZ, J.P. **Identification and growth of some spoilage yeasts in tropical fruit juices and nectars.** *Fruits*, 53 (2): 119 – 126, 1998.

THOMAS, R.L.; WESTAFALL, P.H.; LOUVIERI, Z.A. & ELLIS, N.D. **Production of apple juice by single pass metallic membrane filtration.** *J. Food Sci.* 51 (3): 559-563, 1986.

TODISCO, S.; PERA, L. DRIOLI, E. & TALLARICO, P. **Analysis of the fouling mechanism in microfiltration of orange juice.** *J. Food Process. Preservation*, 20: 453-466, 1996.

TOURNAS, V. & TRAXLER, R.W. **Heat resistance of a Neosartorya fischeri strain isolated from pineapple juice frozen concentrate.** *J. Food Protection*, 57, september: 814 - 816, 1994.

TRIFIRO, A.; SACCANI, G.; GHERARDI, S.; VICINI, E.; SPOTTI, E.; PREVIDI, M. P.; NDAGIJIMANA, M.; CAVALLI, S. & RESCHIOTTO, C. **Use of ion chromatography for monitoring microbial spoilage in the fruit juice industry.** *J. Chromatography*, 770: 243-252, 1997.

TULEY, L. **High tech comes to filtration.** *Food Manufact.*, jun.:45-47, 1988.

ULRICH, D.; KRUMBEIN, A.; SCHONHOF, I & HOBERG, E. **Comparison of two preparations techniques for sniffing experiments with broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica* Plenck).** *Nahrung*, 42 (6): 392 – 394, 1998.

UMANO, K.; HAGI, Y.; NAKAHARA, K.; SHOJI, A. & SHIBAMOTO, T. **Volatile constituents of green and ripened pineapple (*Ananas comosus* L. Merril).** *J. Agric. Food Chem.*, 40: 599603, 1992.

VALENTE, A.L.P.; AUGUSTO, F.; MONTERO, L. & ROCHA, E.C. **Aplicação de SPME (Solid-Phase Micro-Extraction) na análise de águas potáveis de três localidades do Estado de São Paulo.** *Química Nova*, 21(6), 1998.

VALENTE, A.L.P. & AUGUSTO, F. SPME: **Microextração em Fase Sólida**. *Química Nova*, 23 (4):523-530, 2000.

VAS, G. & LORINCZ, G. **Determination of volatiles from red wines made by carbonic maceration using solid phase microextraction (SPME) technique**. *Acta Alimentaria*, 28 (1): 95 -101, 1999.

VENDRAMINI, A.L.A. **Estudo de componentes de acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) em diferentes estágios de maturação**. Tese de Mestrado, 85p., 1997.

VÍQUEZ, F.; LASTRETO, C. & COOKE, R.D. **A study of the production of clarified banana juice using pectinolytic enzymes**. *J. Food Techn.*, 16: 115-125, 1981.

VOILLEY, A.; LAMER, C.; DUBOIS, P. & FEUILLAT, M. **Influence of macromolecules and treatments on the behavior of aroma compounds in a model wine**. *J. Agric. Food Chem.*, 38: 248-251, 1990.

Volatile Compounds in Food. Qualitative and Quantitative Data – Supplement 3 (H. Maarse and C.A. Visscher, eds.), TNO Nutrition and Food Research Institute, 14.1-14.8, 1996.

VOLG, K. & SAMANN, H. **Influence of crossflow filtration by means of microfiltration and ultrafiltration membranes on sensorically and analytically ascertainable parameters with apple juices and fruit wines**. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 46: 8 -29, 1996.

VRIGNAUD, Y. **Nouvelles techniques de clarification des jus de fruits par ultrafiltration**. *Ind Alimentaires et Agricoles*: 245-250, 1983.

WALLRAUCH, S. **Composition and evaluation of pineapple juices**. *Fluesssiges-Obst*; 59 (1) 20-26, 1992.

WEBB, T. A. & MUNDT, J. O. **Molds on vegetables at the time of harvest**. *Applied and Environmental Microbiology*, 35:655-658, 1978.

WILEY/NBS **Registry of Mass Spectral Data**. Wiley, New York, 1989.

WILL, F. **Characterization of colloids from pineapples juices**. *Deutsche-Lebensmittel-Rundschau*; 90 (4) 103-107, 1994.

WILL, F. **Cloud composition and stability of pineapple juices**. *Fluessiges-Obst*; 62 (6), 258262, 1995.

WOSIACKI, G.; CHIQUETTO, N.C. & KIRCHNER, C.L. **Avaliação do uso de maçã. Parte Características de qualidade de suco clarificado de cinco variedades; Anna, Gala, Ohio Beuty, Pome-3 e Rainha colhidas na safra 1988/89**. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 12(2):160-173, jul/dez., 1992.

WU, M.L.; ZALL, R.R. & TZENG, W.C. **Microfiltration and ultrafiltration comparison for apple juice clarification**. *J Food Sci.*, 55 (4): 1162 – 1163, 1990.

WU, P.; KUO, M.C.; HARTMAN, T.G.; ROSEN, R.T. & HO, C.T. **Free and glicosidically bound aroma compounds in pineapple (*Ananas comosus* L. Merrill.)**. *J. Food Sci.* 1991.

WYLLIE, S.G. & LEACH, D.N. *J. Agric. Food Chem.*, 40:253-256, 1992.

YANG, C. & PEPPARD, T. **Solid-phase microextraction for flavor analysis**. *J. Agric. Food Chem.*, 42 (9): 1925 – 1930, 1994.

YILDIZ, F.; BOZKURT, M. & WILEY, R.C. **Comparison of reverse osmosis and evaporation process on the quality characteristics of tomato concentrates**. *Food Control*, 4 (3): 155-158, 1993.

YEN, C.G.; LIN, H.T. & YANG, P. **Changes in volatile flavor compounds of guava puree during processing and frozen storage**. *J. Food Sci.*, v.57, n.3, 1992, 679-685.

ZOZYROD, R. P. **A survey of plasticizer migrations into foods**. *J. Food Protection*, Aug. 52: 578 - 580, 1989.