

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CAMPUS DE ARARAQUARA**

**OTIMIZAÇÃO PARA A OBTENÇÃO DE EXTRATO AQUOSO
DE TREMOÇO BRANCO (*Lupinus albus* L.)
ADICIONADO DE SUCO DE PITANGA**

JULIANA APARECIDA BOTARO

ARARAQUARA - SP

2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CAMPUS DE ARARAQUARA**

**OTIMIZAÇÃO PARA A OBTENÇÃO DE EXTRATO AQUOSO
DE TREMOÇO BRANCO (*Lupinus albus* L.)
ADICIONADO DE SUCO DE PITANGA**

JULIANA APARECIDA BOTARO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Área de Ciência dos Alimentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para a obtenção do Título de Mestre em Alimentos e Nutrição, Área de Ciência dos Alimentos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. José Paschoal Batistuti

ARARAQUARA - SP

2010

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

B748o Botaro, Juliana Aparecida
Otimização para a obtenção de extrato aquoso de tremoço branco
(*Lupinus albus* L.) adicionado de suco de pitanga / Juliana Aparecida
Botaro. – Araraquara, 2010.
99 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de
Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação
em Alimentos e Nutrição

Orientador: José Paschoal Batistuti

1. Tremoço branco (Extrato aquoso). 2. Suco de pitanga. 3. Análise
sensorial. I. Batistuti, José Paschoal, orient. II. Título.

CAPES: 5070006

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Paschoal Batistuti (Orientador)

Prof^a. Dr^a. Alice Yoshiko Tanaka

Prof. Dr. Rubens Monti

Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Junior

Prof. Dr. João Bosco Faria

ARARAQUARA – SP

2010

***Dedico este trabalho aos meus pais
Lauro e Lucia, às minhas irmãs Valéria
e Natália e ao meu irmão Matheus.***

**“A vida está cheia de desafios que, se aproveitados
de forma criativa, transformam-se em
oportunidades e vitórias”**

Maxwell Maltz

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida e saúde, e por te me dado forças nos momentos mais difíceis durante a realização deste trabalho.

Aos meus pais Lauro e Lucia, pela educação, incentivo e apoio, fundamentais para terminar esta etapa. Às minhas irmãs Valéria e Natália e ao meu irmão Matheus, pela amizade verdadeira.

Ao Murilo, pelo amor, incentivo e pela contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Dr. José Paschoal Batistuti, pela amizade, dedicação, conhecimentos transmitidos e confiança depositada na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Dionisio Borsato, da UFP, pela gentileza, prontidão e imensa contribuição com o delineamento experimental e análise estatística do meu trabalho.

Ao Ademir Alves Ferreira, do IAPAR, pela atenção e prontidão no fornecimento das sementes de tremoço.

À minha prima Elaine C. B. Mendonça, pelo apoio e incentivo durante os anos que moramos juntas em Araraquara.

À Cristiane M. R. Vazquez, pela ajuda na interpretação dos dados estatísticos do meu trabalho.

À Juliana P. Molina, pela amizade conquistada e pela imensa ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

À Daniele F. Perez, pela disposição, dedicação e valiosa ajuda na análise sensorial.

Ao Gustavo G. Fontanari, pela contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

À Nadiége D. P. Silveira, pela atenção e contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

À Lica, pela atenção, prontidão e valiosa ajuda nas análises laboratoriais.

À Mara, à Adriana e à Roseli, pela atenção e ajuda.

Aos professores do Departamento de Alimentos e Nutrição, pelo aprendizado.

Às funcionárias da Pós-graduação Cláudia, Laura e Sônia, pelo suporte durante a elaboração deste trabalho.

Aos funcionários da Biblioteca, pela atenção e ajuda.

Aos membros da banca, pela prontidão, gentileza, correções e sugestões.

Ao Prof. Rubens Ferracine Jr., do Centro Universitário Barão de Mauá, pela indicação do Departamento de Alimentos e Nutrição da UNESP de Araraquara.

À CAPES, pela bolsa de estudo concedida.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Tremoço branco (<i>Lupinus albus</i>), tremoço azul (<i>Lupinus angustifolius</i>) e tremoço amarelo (<i>Lupinus luteus</i>).....	18
Figura 2 -	Vagem e semente de tremoço branco (<i>Lupinus albus</i>).....	19
Figura 3 -	Estrutura química dos principais alcaloides quinolizidínicos do tremoço branco (<i>Lupinus albus</i>).....	28
Figura 4 -	Pitanga (<i>Eugenia uniflora</i> L.).....	35
Figura 5 -	Fluxograma do processo utilizado para a redução do teor de alcaloides das sementes de tremoço branco.....	43
Figura 6 -	Fluxograma do processo de produção do extrato aquoso de tremoço.....	46
Figura 7 -	Representação gráfica dos resultados de aceitação (“aparência”) das formulações de suco de pitanga a base de tremoço.....	59
Figura 8 -	Representação gráfica dos resultados de aceitação (“aroma”) das formulações de suco de pitanga a base de tremoço.....	59
Figura 9 -	Representação gráfica dos resultados de aceitação (“sabor”) das formulações de suco de pitanga a base de tremoço.....	60
Figura 10 -	Representação gráfica dos resultados de aceitação (“impressão global”) das formulações de suco de pitanga a base de tremoço.....	61
Figura 11 -	Superfície de Resposta para o atributo “aparência”.....	63
Figura 12 -	Curvas de contorno para a resposta “aparência”.....	64
Figura 13 -	Otimização da resposta “aparência” utilizando o software Statistica (2006).....	65
Figura 14 -	Superfície de Resposta para o atributo “aroma”.....	67
Figura 15 -	Curvas de contorno para a resposta “aroma”.....	68
Figura 16 -	Otimização da resposta “aparência” utilizando o software Statistica (2006).....	69
Figura 17 -	Superfície de Resposta para o atributo “sabor”.....	71
Figura 18 -	Curvas de contorno para a resposta “sabor”.....	72

Figura 19 - Otimização da resposta “sabor” utilizando o software Statistica (2006).....	73
Figura 20 - Superfície de Resposta para o atributo “impressão global”.....	75
Figura 21 - Curvas de contorno para a resposta “impressão global”.....	76
Figura 22 - Otimização da resposta “impressão global” utilizando o software Statistica (2006).....	77
Figura 23 - Otimização conjunta das respostas “aparência”, “aroma”, “sabor” e “impressão global” utilizando o software Statistica (2006).....	78
Figura 24 - Representação gráfica dos resultados de aceitação (aparência, aroma, sabor e impressão global) da formulação 2 e 9 de suco de pitanga a base de tremoço.....	79
Figura 25 - Representação gráfica da atitude de compra do produto otimizado.....	83
Figura 26 - Representação gráfica do hábito de consumir tremoço.....	84
Figura 27 - Representação gráfica do hábito de consumir pitanga (fruta, suco, sorvete, etc).....	85
Figura 28 - Representação gráfica dos resultados de aceitação do “leite” de soja original, do suco de fruta com “leite” de soja e do suco de pitanga.....	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição química do tremço branco (<i>Lupinus albus</i>).....	22
Tabela 2 -	Composição de mono e dissacarídeos do tremço branco (<i>Lupinus albus</i>) e proporções de açúcares individuais em relação ao açúcar total.....	22
Tabela 3 -	Perfil de ácidos graxos do tremço (<i>Lupinus albus</i>).....	23
Tabela 4 -	Composição centesimal aproximada (base seca) da farinha de trigo, grãos de tremço e de soja.....	25
Tabela 5 -	Total de alcaloides presentes nas sementes de tremço em (% em base seca).....	27
Tabela 6 -	Análise do leite de vaca, leite de soja e leite de tremço (<i>L. campestris</i>).....	31
Tabela 7 -	Variáveis independentes e níveis utilizados no estudo do perfil de otimização.....	49
Tabela 8 -	Delineamento experimental para a preparação do suco de pitanga a base de tremço.....	49
Tabela 9 -	Composição química da farinha integral e decorticada de tremço branco (<i>Lupinus albus</i>).....	53
Tabela 10 -	Composição química da farinha decorticada e da farinha decorticada com redução do teor de alcaloides de tremço branco (<i>Lupinus albus</i>).....	55
Tabela 11 -	Caracterização físico-química do extrato aquoso de tremço branco (<i>Lupinus albus</i>).....	56
Tabela 12 -	Médias dos resultados experimentais de aceitação (“aparência”, “aroma”, “sabor” e “impressão global”) das 11 formulações de extrato aquoso de tremço com suco de pitanga, segundo delineamento fatorial 3 ²	58
Tabela 13 -	Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo matemático e valor de “p” para o atributo “aparência”.....	62
Tabela 14 -	Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo matemático e valor de “p” para o atributo “aroma”.....	66
Tabela 15 -	Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo matemático da resposta análise sensorial “sabor”.....	70

Tabela 16 - Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo matemático e valor de “p” para o atributo “impressão global”.....	74
Tabela 17 - Valores médios de aceitação para a resposta “aparência” experimental e “aparência” predita pelo modelo, diferença entre eles e diferença percentual.....	80
Tabela 18 - Valores médios de aceitação para a resposta “aroma” experimental e “aroma” predita pelo modelo, diferença entre eles e diferença percentual.....	80
Tabela 19 - Valores médios de aceitação para a resposta “sabor” experimental e “sabor” predita pelo modelo, diferença entre eles e diferença percentual.....	80
Tabela 20 - Valores médios de aceitação para a resposta “impressão global” experimental e “impressão global” predita pelo modelo, diferença entre eles e diferença percentual.....	81
Tabela 21 - Valores médios de aceitação para a resposta “aparência” experimental e prevista pelo modelo e desvios.....	81
Tabela 22 - Valores médios de aceitação para a resposta “aroma” experimental e prevista pelo modelo e desvios.....	82
Tabela 23 - Valores médios de aceitação para a resposta “sabor” experimental e prevista pelo modelo e desvios.....	82
Tabela 24 - Valores médios de aceitação para a resposta “impressão global” experimental e prevista pelo modelo e desvios.....	82
Tabela 25 - Caracterização físico-química do produto otimizado.....	87

SUMÁRIO

Resumo

Abstract

1	Introdução.....	16
2	Revisão Bibliográfica.....	18
2.1	Tremoço (<i>Lupinus</i> spp).....	18
2.1.1	Características agronômicas.....	18
2.1.2	Composição química e aspectos nutricionais.....	21
2.1.3	Fatores antinutricionais.....	26
2.1.4	Processamento do tremoço.....	29
2.1.4.1	Métodos utilizados na redução dos fatores antinutricionais.....	29
2.1.4.2	Obtenção de extrato aquoso.....	30
2.1.4.3	Uso do tremoço no preparo de alimentos.....	31
2.2	Pitanga (<i>Eugênia uniflora</i> L.).....	33
2.3	Metodologia de superfície de Resposta.....	38
3	Objetivos.....	41
3.1	Objetivos específicos.....	41
4	Material e Métodos.....	42
4.1	Material.....	42
4.2	Métodos.....	42
4.2.1	Preparo da farinha integral.....	42
4.2.2	Preparo da farinha decorticada.....	42
4.2.3	Redução do teor de alcaloides através de tratamento térmico aquoso.....	42
4.2.4	Preparo da farinha decorticada com redução do teor de alcaloides.....	44
4.2.5	Caracterização físico-química da farinha integral, decorticada decorticada com redução do teor de alcaloides.....	44
4.2.5.1	Umidade.....	44
4.2.5.2	Teor protéico.....	44
4.2.5.3	Lipídeos.....	44
4.2.5.4	Cinzas.....	44
4.2.5.5	Fibra.....	44

4.2.5.6	Carboidratos totais.....	44
4.2.6	Obtenção do extrato aquoso.....	45
4.2.6.1	Caracterização físico-química do extrato aquoso.....	47
4.2.6.1.1	Umidade.....	47
4.2.6.1.2	Teor protéico.....	47
4.2.6.1.3	Lipídeos.....	47
4.2.6.1.4	Cinzas.....	47
4.2.6.1.5	Carboidratos totais.....	47
4.2.6.1.6	Sólidos solúveis (como °Brix).....	47
4.2.6.1.7	pH.....	47
4.2.6.1.8	Viscosidade.....	47
4.2.7	Planejamento Experimental e Metodologia de Superfície de Resposta (MSR).....	48
4.2.7.1	Delineamento estatístico.....	48
4.2.7.2	Respostas.....	50
4.2.7.2.1	Análise sensorial (Teste de Aceitação – “aparência”, “aroma”, “sabor” e “impressão global”).....	50
4.2.8	Caracterização físico-química do produto otimizado.....	51
4.2.8.1	Umidade.....	51
4.2.8.2	Teor protéico.....	51
4.2.8.3	Cinzas.....	51
4.2.8.4	Carboidratos totais.....	51
4.2.8.5	Sólidos solúveis (como °Brix).....	51
4.2.8.6	Determinação do pH.....	51
4.2.8.7	Determinação da viscosidade.....	51
4.2.9	Validação do modelo preditivo estabelecido pela metodologia de superfície de resposta.....	51
4.2.10	Análise estatística dos dados.....	52
5	Resultados e Discussão.....	53
5.1	Caracterização físico-química da farinha integral e decorticada.....	53
5.2	Método de redução do teor de alcaloides através do tratamento térmico aquoso.....	54
5.3	Obtenção e caracterização físico-química do extrato aquoso de	

	tremoço.....	56
5.4	Análise das respostas observadas.....	57
5.4.1	Análise sensorial.....	57
5.4.2	Otimização conjunta das variáveis dependentes (“aparência”, “aroma”, “sabor” e “impressão global”.....	78
5.5	Validação do produto otimizado.....	79
5.5.1	Análise sensorial.....	79
5.5.2	Caracterização físico-química do produto otimizado.....	87
6	Conclusões.....	88
7	Referências Bibliográficas.....	89
	Apêndices.....	98

RESUMO

Recentemente, a indústria de alimentos está preocupada em desenvolver novos produtos, usando ingredientes inovadores, que promovam benefícios à saúde. O uso de proteínas de leguminosas como uma alternativa para a proteína animal tem sido estudada. O tremoço branco (*Lupinus albus* L.) apresenta elevada concentração de proteína e óleo, principalmente ácidos graxos insaturados e poliinsaturados, fibra alimentar, açúcares e vitaminas B₁ e B₂. Por outro lado, o tremoço não pode ser consumido diretamente porque possui alcaloides, que além de serem tóxicos, atribuem gosto amargo ao grão. Como a maioria dos alcaloides é solúvel em água, a quantidade de alcaloide do grão pode ser diminuída através de água corrente, fervente ou salmoura. Sucos de frutas são bastante consumidos no Brasil, especialmente no verão, não somente pelo sabor, mas como fonte de hidratação e por serem ricos em nutrientes. Os sucos de frutas tropicais conquistam cada vez mais o mercado consumidor, sendo o Brasil, um dos principais produtores. A pitanga, fruto da pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) é uma planta frutífera nativa do Brasil (das regiões Sul e Sudeste e que tem se adaptado favoravelmente às condições climáticas e edáficas da região Nordeste), da Argentina e do Uruguai. A pitanga é uma fruta cuja polpa apresenta excelentes condições para industrialização, devido ao seu alto rendimento, aroma agradável e sabor exótico. O objetivo do presente estudo foi o de verificar, através da metodologia de superfície de resposta, as melhores condições para a utilização simultânea de extrato aquoso de tremoço branco e de suco tropical de pitanga, no desenvolvimento de uma bebida. Para tanto, as variáveis independentes foram representadas pelo volume de extrato aquoso de tremoço (mL) e pelo volume de suco de pitanga (mL). As variáveis dependentes (respostas) foram obtidas através de teste sensorial de aceitação (“aparência”, “aroma”, “sabor” e “impressão global”). A otimização conjunta das variáveis apontou o ensaio 2 (50 mL de extrato aquoso de tremoço e 30 mL de suco de pitanga) do planejamento experimental, como sendo a ótima. Pode-se concluir que foi possível obter uma bebida com características sensoriais atrativas, utilizando extrato aquoso de tremoço branco e suco tropical de pitanga. O tratamento térmico aquoso, utilizado para a diminuição do teor de alcaloides das sementes de tremoço, resultou não apenas na quase eliminação total dos alcaloides, como também no aumento do conteúdo de proteína. A utilização da MSR possibilitou a determinação de regiões de máxima aceitação para cada atributo avaliado do suco de pitanga a base de tremoço, com um número reduzido de ensaios.

Palavras-chave: tremoço branco (*Lupinus albus* L.), tratamento térmico aquoso, extrato aquoso, suco de pitanga, metodologia de superfície de resposta, análise sensorial.

ABSTRACT

Recently, the food industry is concerned about developing new products, using innovative ingredients that promote health benefits. The use of vegetable protein as an alternative to animal protein is being studied. The white lupine (*Lupinus albus* L.) has high concentrations of protein and oil, especially non saturated fatty acids and polynonsaturated fats, dietary fiber, sugars and vitamins B1 and B2. On the other hand, the lupine bean can't be consumed straight because it has alkaloids which besides being toxic, add a bitter taste to the bean. As most alkaloids are water soluble, the amount of alkaloid in the beans can be reduced by running water, boiling or brine. Fruit juices are widely consumed in Brazil, especially in the summer, not only for their flavor, but as a source of hydration and because they are rich in nutrients. The tropical fruit juices are conquering the market more and more, with Brazil being one of the main producers in the world. The Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) is the fruit of the Pitangueira, a native plant of southern Brazil (which has adapted positively to weather and soil conditions in the country's Northeast), Argentina and Uruguay. Pitanga is a fruit which pulp presents excellent conditions for industrialization, due to its high yield, pleasant aroma and exotic flavor. The aim of the present study was to verify, through the response surface methodology, the optimum conditions for the combined use of aqueous extract of white lupine and tropical pitanga juice in the development of a drink. Therefore, the independent variables were represented by the volume of aqueous extract of lupine (mL) and by the volume of pitanga juice (mL). The dependent variables (responses) were obtained through sensory test of acceptance ("appearance", "aroma", "taste" and "overall acceptability"). The combined optimization of the variables pointed the second formulation (50 mL of aqueous extract of lupine and 30 mL of pitanga juice) of the experimental project as the most adequate. In conclusion it was possible to get a drink with attractive sensory characteristics using aqueous extract of white lupine and tropical pitanga juice. The aqueous thermal treatment used to reduce the level of alkaloids in lupine beans, not only resulted in almost total elimination of the alkaloids, but also in the increase of protein content. The use of MSR allowed determination of regions of maximum acceptance for each evaluated feature of the lupine based pitanga juice, with a reduced number of tests.

Keywords: white lupine (*Lupinus albus* L.); aqueous thermal treatment, aqueous extract, pitanga juice; response surface methodology; sensory analysis.

1 INTRODUÇÃO

As plantas da família das leguminosas compreendem aproximadamente 590 a 620 gêneros com 12.000 a 17.000 espécies. Destas, as cultivadas como fontes de alimentos pertencem à subfamília *Papilioideae*, da qual apenas cerca de 20 espécies são alimentos. Os gêneros mais utilizados na alimentação são: *Pisum*, *Vicia*, *Lens*, *Dolichos*, *Vigna*, *Cajanus* e *Phaseolus*. No Brasil as leguminosas mais consumidas diretamente na dieta são o feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), seguido pela ervilha (*Pisum sativum* L.) e lentilha (*Lens culinaris*) (LOURENÇO, 2000).

O tremoço (*Lupinus albus* L.) é uma espécie do gênero *Lupinus* e da família *Leguminosae*. As principais espécies de tremoço cultivadas no mundo são *Lupinus albus*, *Lupinus angustifolius*, *Lupinus luteus* e *Lupinus mutabilis*. O tremoço é usado como alimento para animais, na rotação de cultura, melhorando a estrutura do solo, e na alimentação humana, devido à alta concentração de proteína e óleo (FALUYI et al., 2000; HUYGHE, 1997). As sementes de tremoço são ricas em carboidratos (30 a 40%), óleo (5 a 15%) e proteína (30 a 40%) (FALUYI, et al., 2000; HUYGHE, 1997; ERBAS et al., 2005).

O tremoço possui um conteúdo de proteína e de lipídios similar ao da soja, porém, seu uso como alimento tem sido restrito devido a alta concentração de alcaloides quinolizidínicos. Os alcaloides são compostos amargos e tóxicos que devem ser eliminados antes que a proteína do grão possa ser utilizada na indústria de alimentos (GARCÍA LÓPEZ et al., 2001). Como a maioria dos alcaloides é solúvel em água, a quantidade de alcaloide do grão de tremoço pode ser diminuída ou eliminada usando água corrente, água fervente, tratamento térmico aquoso e tratamento térmico alcalino (RAHMA; RAO, 1984; JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al., 2000; HADDAD et al., 2006).

O tremoço (*L. albus*) é uma cultura muito nutritiva, a qual não é consumida frequentemente como outras leguminosas. A elevada proteína, fibra dietética, óleo e carboidratos presentes no grão de tremoço fazem desta leguminosa um excelente alimento com alto valor nutricional, o qual pode ser incorporado como fonte de proteína em diversos tipos de alimentos (ERBAS et al., 2005).

O tremçoço (*Lupinus* sp) também pode ser usado como suplemento na alimentação de vários animais, como salmão, truta, camarão, ovelhas e porcos (SUDARYONO et al., 1999; FERGUSON et al., 2003; GLENCROSS et al., 2004; MASUCCI et al., 2006). Ele também pode ser usado como ingrediente no preparo dos mais diversos tipos de alimento, como pão, espaguete, iogurte, muffin, macarrão, biscoito, bolacha de chocolate, barra de cereal, produtos de carne, bebidas entre outros (MUBARAK, 2001; JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al., 2003; HALL; JOHNSON, 2004; DOXASTAKIS et al., 2007; TORRES et al., 2007; RESTA et al., 2008).

As frutas contêm, além dos nutrientes essenciais e de micronutrientes como minerais, fibras e vitaminas, diversos compostos fenólicos (HARBONE; WILLIAMS, 2000). A maior conscientização dos consumidores sobre os efeitos da inclusão de sucos de frutas na dieta aumentou sua exigência em relação ao número de atributos desejáveis no produto, principalmente sob o aspecto nutricional e sensorial. (VALIM et al., 2003).

Segundo Franzão; Melo (2008) existem grandes perspectivas de crescimento no mercado das misturas entre sucos de espécies de frutas diferentes (“mixed juices”), principalmente com os de sabor exótico, como a pitanga. Ela também pode ser utilizada como aditivo em bebidas lácteas e, ainda, nas formas de produtos como refresco em pó e néctar.

A pitanga (*Eugenia uniflora* L.) é um fruto tropical nativo das regiões Sul e Sudeste do Brasil e que tem se adaptado favoravelmente às condições climáticas e edáficas da região Nordeste (CONSOLINI; SARUBBIO, 2002; BEZERRA et al., 2000). No Brasil, a pitanga tem um bom desenvolvimento, apresentando-se como uma arvoreta de até oito metros de altura. A pitanga é uma baga, com cerca de 30 mm de diâmetro, a polpa é vermelha, sucosa, macia, doce ou agridoce e perfumada. Há pitangas vermelhas, rubras, brancas, roxas e quase pretas (AGROV, 2009).

Diante das evidências encontradas por alguns autores sobre a eficiência de certos tratamentos para a retirada dos compostos amargos presentes no tremçoço e a grande necessidade de incorporar alimentos ricos em proteínas na dieta da nossa população, este estudo teve por finalidade desenvolver, através da metodologia de superfície de resposta, as melhores proporções de extrato aquoso de tremçoço branco (*Lupinus albus* L.) e de suco tropical de pitanga (*Eugenia uniflora* L.), em uma bebida com características sensoriais atrativas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 TREMOÇO (*Lupinus spp*)

2.1.1 CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS

O tremoço branco (*Lupinus albus* L.) é uma espécie do gênero *Lupinus*, da classe *Genisteeae* e da família *Leguminosae* (HYUGHE, 1997).

É uma planta herbácea, anual, ereta, altura em torno de 45 centímetros e adaptada às condições de clima frio (clima temperado) a ameno (clima subtropical). As folhas são compostas geralmente de sete folíolos na mesma altura do pecíolo (digitadas), alongados e de cor verde. As flores são brancas, azuis ou amarelas, formadas em inflorescência (cacho), ereta e vistosa, conforme apresentadas na Figura 1. Os frutos são do tipo vagem com pelos e contém sementes brancas e achatadas no seu interior, conforme apresentadas na Figura 2 (GLOBO RURAL, 2009).



Figura 1 - Tremoço branco (*Lupinus albus*), tremoço azul (*Lupinus angustifolius*) e tremoço amarelo (*Lupinus luteus*).

Fonte: AGRÁRIA (2009).



Figura 2 - Vagem e semente de tremço branco (*Lupinus albus*).

Fonte: BRAGA et al. (2006).

O gênero *Lupinus* possui mais de 400 espécies conhecidas, sendo que as espécies de tremço mais cultivadas são *Lupinus albus* L. (tremço branco), *Lupinus angustifolius* L. (tremço azul), *Lupinus luteus* L. (tremço amarelo) e *Lupinus mutabilis* L. (tremço pérola). Essas espécies são cultivadas no mundo com três principais utilidades: para nutrição humana, devido a sua alta concentração de proteína e óleo e presença de fibra dietética; para adubação verde, contribuindo para o melhoramento da estrutura do solo, aumentando a matéria orgânica e acumulando nitrogênio e fósforo em solos arenosos e pobres; e para alimentação e/ou suplemento de proteína na dieta de ruminantes, como gado de corte e gado de leite, através de forragem verde em áreas de cultivo tradicional (HUYGHE, 1997).

Embora o tremço seja bem conhecido atualmente, ele foi amplamente utilizado por antigas culturas no Mediterrâneo e Planaltos Andinos. Esta cultura chegou à Itália por volta de 1780 e se expandiu por toda a Europa provavelmente por se adaptar as mais diferentes condições climáticas e por apresentar propriedades nutricionais especiais (GLADSTONES, 1974).

Os principais países produtores de tremço são a Austrália (*Lupinus angustifolius*), Rússia (*Lupinus luteus*) e Polônia (*Lupinus luteus*) (REINHARD et al., 2006).

Na Europa, seu cultivo antecedeu o cultivo de outras leguminosas, sendo especialmente o *L. albus* e *L. luteus*, utilizados como forragem verde, como adubação ou na alimentação humana (REINHARD et al., 2006). Na Polônia, em solo fértil, principalmente feijão-cavalo, feijão-largo e ervilha, competem com o tremço, que é cultivado sobre baixas condições de fertilidade do solo (SUJAK et al., 2006).

No leste do Canadá e norte dos Estados Unidos o tremço branco (*Lupinus albus*) tem mostrado um considerável potencial de rendimento como uma semente de leguminosa cultivada nestas regiões (FALUYI et al., 2000).

Na América do Sul, o tremço branco (*L. albus*) é cultivado principalmente no Chile e na Argentina; na Austrália e na África do Sul há um aumento na produção do tremço branco (HUYGHE, 1997).

Um estudo sobre práticas de plantio de *L. albus* no leste do Canadá mostrou que tanto a concentração de proteína como a concentração de óleo da semente do tremço é influenciada pela época de plantio e que a escolha da cultivar é muito importante (FALUYI et al., 2000).

No Brasil, as diferentes espécies de *Lupinus* são cultivadas principalmente como adubo verde, forrageiras e ornamentais. O tremço é considerado um excelente adubo verde porque produz muita massa verde e fixa o nitrogênio do ar, que é uma característica das plantas da família das leguminosas. Além disso, suas raízes descompactam e reduzem a erosão do solo e, com isso, aumenta a infiltração da água. Portanto, é uma planta que melhora as características físicas, químicas e biológicas do solo (GLOBO RURAL, 2009).

De acordo com Golveia; Almeida (1997) quando o objetivo é a adição de nitrogênio orgânico ao solo, o tremço branco, seguido pelo feijão de porco, ervilhaça comum e ervilha forrageira são as espécies com maior acúmulo de nitrogênio, respectivamente nessa ordem.

Corsato et al. (2007) verificaram o efeito alelopático do tremço branco (*L. albus* L.) sobre a germinação de sementes de alface, soja e picão preto, com o intuito de indicá-lo ou não como adubo verde. O extrato aquoso de folhas frescas de tremço branco interferiu negativamente na porcentagem de germinação e comprimento médio da alface a partir da concentração do extrato a 20%. Já as sementes de soja, foram afetadas somente na velocidade média de germinação e mesmo assim, esta foi reduzida apenas na presença do extrato a 80%. As sementes de picão preto sofreram forte inibição para os parâmetros porcentagem e velocidade média de germinação juntamente com o comprimento médio de raiz a partir da concentração do extrato à 20%. Por isso, é possível indicar a adubação verde do tremço branco para a soja, pois houve baixa toxicidade do extrato aquoso deste vegetal sobre a soja e por outro lado uma das maiores invasoras desta cultivada, o

picão preto, pode ser controlado de modo natural com menor agressão ao meio ambiente.

Kanthack et al. (1991) conduziram dois experimentos na região de Assis - SP, para verificar o efeito da adubação nitrogenada em cobertura para milho, após a cultura de tremoço (*Lupinus albus*). Em uma das áreas o tremoço foi cortado na época de florescimento e na outra foi efetuada a colheita das sementes, deixando-se no solo, os restos culturais. Os resultados mostraram que o tratamento com colheita do tremoço, além de proporcionar maior produção do milho, permitiu obter uma renda com a venda das sementes de tremoço. Dessa forma, apesar dos custos de produção terem sido maiores do que o custo do tratamento com o corte do tremoço no estágio de florescimento, o sistema com colheita de sementes apresentou uma renda líquida maior.

Benassi; Abrahão (1991) estudaram o efeito de épocas de semeadura e espaçamentos sobre as produções de fitomassa de tremoço (*Lupinus albus*) no município de Bandeirantes - PR. Os tratamentos utilizados foram quatro épocas de semeadura e quatro espaçamentos entre linhas, mantendo-se a densidade populacional de dez plantas por metro linear em todos os tratamentos. Verificou-se que as produções de massa verde e matéria seca aumentaram com a antecipação da época de semeadura, sendo recomendado a semeadura em fins de março e início de abril. Para as semeaduras efetuadas em maio e junho, a principal limitação para o desenvolvimento do tremoço foi a deficiência pluvial. As produções de massa verde e matéria seca aumentaram com a diminuição do espaçamento entre linhas de semeadura, sendo recomendado o espaçamento de 0,30m entre linhas.

2.1.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ASPECTOS NUTRICIONAIS

A elevada concentração de proteína e óleo, principalmente de ácidos graxos insaturados e polinsaturados, a presença de fibra alimentar, açúcares e vitaminas B₁ e B₂ no tremoço (*Lupinus albus* L.), fazem desta leguminosa um excelente alimento, com alto valor nutricional, o qual pode ser incorporado como fonte de proteína não somente na alimentação de animais, mas também na alimentação humana, nos mais diversos tipos de alimentos processados (ERBAS et al., 2005).

A composição química, a composição de monossacarídeos e dissacarídeos e o perfil de ácidos graxos do tremço branco (*Lupinus albus*) estão apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1 - Composição química do tremço branco (*Lupinus albus*).

<i>Componentes</i>	<i>Valores médios^b (%)</i>
Umidade	8,32 ± 0,03
Proteína^a	32,2 ± 1,10
Fibra^a	16,2 ± 1,51
Lipídeos^a	5,95 ± 0,09
Cinzas^a	2,65 ± 0,18

^a Os valores são relatados em relação a matéria seca.

^b Valores médios ± desvio padrão, n = 3.

Fonte: ERBAS et al. (2005).

Tabela 2 - Composição de mono e dissacarídeos do tremço branco (*Lupinus albus*) e proporções de açúcares individuais em relação ao açúcar total.

<i>Mono e dissacarídeos^a</i>	<i>Valores médios (mg/kg)^b</i>	<i>Porção do total (%)</i>
Sacarose	41151 ± 1543	70,7
Galactose	4880 ± 319	8,4
Glicose	3902 ± 269	6,7
Ribose	3352 ± 43	5,8
Maltose	2955 ± 234	5,1
Frutose	1609 ± 39	2,8
Xilose	312 ± 48	0,6
Total	58170	

^a Base seca

^b Valores médios ± desvio padrão, n = 3.

Fonte: ERBAS et al. (2005).

Tabela 3 - Perfil de ácidos graxos do tremçoço (*Lupinus albus*).

Ácido graxo	Valor médio^a (%)
Ácido palmítico (16:0)	11,6 ± 0,9
Ácido esteárico (18:0)	1,9 ± 0,5
Ácido oléico (18:1)	55,4 ± 1,2
Ácido linoléico (18:2)	22,4 ± 0,9
Ácido linolênico (18:3)	8,7 ± 0,6

^a Valores médios ± desvio padrão, n = 3.

Fonte: ERBAS et al. (2005).

Ruiz-López et al. (2000) determinaram a composição química de três espécies de tremçoço (*L. exaltatus*, *L. reflexus* e *L. mexicanus*). As sementes dos tremçoços apresentaram 38,4; 38,8 e 36,7% de proteína, respectivamente, 7,11; 6,61 e 8,02% de lipídeos, 18,5; 15,2 e 16,8% de fibra e 3,8; 7,2 e 4,1% de cinzas.

García-López et al. (2001) avaliaram a composição química de algumas variedades de tremçoços mexicanos (*L. mexicanus*, *L. exaltatus*, *L. montanus* e *L. stipulatus*). A quantidade de proteína e de fibra variaram entre 334 a 467 e 106 a 172 g/Kg, respectivamente. Todas as variedades apresentaram alta concentração de ácido palmítico e linolênico (175 a 287 e 324 a 517g/Kg, respectivamente).

Jiménez-Martínez et al. (2003) avaliaram a composição química da semente e do “leite” do *Lupinus campestris* e verificaram que estes apresentavam 40 e 58% de proteína, 13,1 e 29,4% de lipídeos, 14,7 e 0,07% de fibra, 24,7 e 9,18% de carboidratos, 3,5 e 3,34% de cinzas e 3,53% de umidade, respectivamente.

A farinha integral de *Lupinus albus* cultivar Multolupa, seguida pela farinha decorticada e a farinha decorticada desengordurada apresentou 10,5; 8,26 e 10,75% de umidade, 33,70; 42,45 e 48,66% de proteína, 6,40; 11,16 e 2,25% de extrato etéreo e 3,16; 3,45 e 3,73% de cinzas (RODRIGUES, 2005).

Uzun et al. (2007) verificaram que a semente de *Lupinus albus* L. possui 10,74% de lipídeos, sendo que os ácidos graxos oléico representam 47,6%, o linoléico 0,3%, o linolênico 9,2%, o palmítico 7,6% e o esteárico 1,5%.

Jiménez-Martínez et al. (2000) avaliaram a composição de aminoácidos da semente de *Lupinus campestris* e verificaram que, assim como outras variedades de tremçoço, a proteína da semente apresentou deficiência nos aminoácidos sulfurados.

Os aminoácidos isoleucina, leucina, lisina e treonina estavam presentes em proporções menores do que a recomendada pelas normas da FAO/WHO (1985) para crianças de dois anos de idade. Contudo, quase todos os aminoácidos estavam presentes em concentrações acima da recomendação para adultos, como outras leguminosas. Isoleucina, fenilalanina, tirosina, treonina, valina e histidina estavam presentes em grandes proporções.

A análise de aminoácidos do “leite” de tremçoço (*Lupinus campestris*) e do iogurte preparado com “leite” de tremçoço indicou que, assim como em outras leguminosas, a quantidade de aminoácidos sulfurados é limitada (JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al., 2003).

Sujak et al. (2006) avaliaram a composição nutricional de diversas sementes de tremçoço (*L. luteus*, *L. angustifolius* e *L. albus*) cultivados na Polônia e mostraram que todas as espécies apresentavam pequena deficiência de metionina. Lisina, triptofano e valina também estavam presentes em quantidades muito pequenas, porém todas as espécies apresentaram uma quantidade satisfatória de leucina. O tremçoço branco, seguido pelo azul, seguido pelo tremçoço amarelo foi caracterizado pela alta concentração de aminoácidos essenciais e óleos, e menos alcalóides que as outras espécies, sendo o mais adequado para alimentação de animais e humanos, e também, para a produção de suplementos de proteína e concentrados protéicos utilizados no enriquecimento de alimentos.

Cascas e farinha de tremçoço (*Lupinus luteus*, *Lupinus albus* e *Lupinus angustifolius*) demonstraram atividade antioxidante (LAMPART-SZCZAPZ et al., 2003), assim como foi observada elevada atividade antioxidante nos extratos da farinha e da proteína isolada de tremçoço (*L. Albus* spp. Graecus) devido a presença de compostos fenólicos e fosfolípídeos em alta concentração nas sementes (TSALIKE et al., 1999).

A extração de α -galactosídeos produziu sementes de *L. albus* e *L. luteus* com propriedades funcionais e alto valor nutricional, devido à alta concentração de proteína, fibra, óleo, tiamina, riboflavina e vitamina E. Esta farinha pode ser incorporada como ingrediente funcional em diversos alimentos, sem riscos de problemas de flatulência (MARTÍNEZ-VILLALUENGA et al., 2006).

El-Adawy et al. (2001) compararam a qualidade nutricional e a propriedade funcional da proteína isolada de tremçoço doce (*Lupinus albus*) e da proteína isolada de tremçoço amargo (*Lupinus termis*). O estudo sugeriu um possível uso, tanto da

proteína isolada de tremçoço doce quando de tremçoço amargo, como um suplemento nutritivo e agente funcional em diversos alimentos.

A propriedade emulsificante da proteína de *Lupinus albus* e a capacidade de formação de gel do tremçoço (*Lupinus* sp) indicaram que há possibilidade de utilização destes produtos como alternativa tecnológica na elaboração de novos produtos emulsificantes e na formação de produtos cárneos e substitutos de carne (CHAPLEAU; LAMBALLERIE-ANTON, 2003; MAKRI et al., 2005; DRAKOS et al., 2007).

Masucci et al. (2006) verificaram que a inclusão de grãos de tremçoço (*L. albus*) na dieta de ovelhas em lactação influenciou a produção de leite, com aumento no conteúdo de triglicerídeos de cadeia de tamanho médio, o que os autores consideram resultados promissores como o auxílio no tratamento de doenças cardiovasculares.

A fração globulina majoritária de tremçoço doce (*Lupinus albus* L.) var. Multolupa apresentou peso molecular de 162,5 +/- 10,0KDa, composta de várias subunidades na faixa de 20 a 70Kda e com características de solubilidade típicas de proteínas de reserva de leguminosas. Os valores de digestibilidade *in vitro* e *in vivo* das frações protéicas indicaram que a globulina total é mais bem digerida, seguida da fração glutelina, albumina e por último, a farinha (NEVES, 2006).

A Tabela 4 apresenta a composição centesimal da farinha de trigo, grãos integrais de tremçoço e grãos integrais de soja.

Tabela 4 - Composição centesimal aproximada (base seca) da farinha de trigo, grãos integrais de tremçoço e de soja.

Componentes	Trigo¹	Tremçoço²	Soja³
Proteína (%)	12,3	44,0	42,04
Lipídeos (%)	1,09	13,1	18,63
Cinzas (%)	1,21	3,5	4,60
Fibra (%)	1,29	14,47	6,56
Carboidratos totais (%)	83,8	24,7	28,17

¹ Fonte: (MUBARAK, 2001).

² Fonte: (JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al., 2000).

³ Fonte: (WANG et al., 2005).

2.1.3 FATORES ANTINUTRICIONAIS

O tremçoço (*Lupinus* sp) possui fatores antinutricionais como oligossacarídeos (JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al., 2000; FERGUSON et al., 2003; MARTÍNEZ-VILLALUENGA et al., 2005), alcaloides quinolizidínicos e taninos (JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al., 2001; TORRES et al., 2002; RESTA et al., 2008), e quantidades insignificativas de inibidores de tripsina (VASILAKIS; DOXASTAKIS, 1999; GUILLAMÓN et al. (2008)).

O tremçoço (*Lupinus* sp) contém fatores que causam flatulência, conhecidos como α -galactosídeos ou rafinose, da família dos oligossacarídeos, os quais variam de 7% a 15% nas sementes cruas (MARTINEZ-VILLALUENGA et al., 2005).

Os oligossacarídeos são açúcares de baixo peso molecular, como rafinose e estaquiase, conhecidos como flatulentos, não metabolizáveis no intestino humano devido à ausência de α -galactosidase. Entretanto, estes são fermentados pela flora intestinal, principalmente por *Clostridium perfringes*, provocando flatulência. Esta pode ser acompanhada de diarréias, dores de cabeça, dispepsia, confusão mental e diminuição da capacidade de concentração no trabalho (GÓES; RIBEIRO, 2002).

Gdala; Buraczewska (1996) verificaram que estaquiase foi o α -galactose encontrado em maior quantidade em algumas cultivares de tremçoço amarelo (*L. luteus* L.) e tremçoço branco (*L. albus* L.) e de tremçoço azul (*L. angustifolius* L.).

Os principais α -galactosídeos encontrados em três espécies de tremçoço (*L. exaltatus*, *L. reflexus* e *L. mexicanus*) foram rafinose, estaquiase, verbacose e ajucose (RUIZ-LÓPEZ et al., 2000).

Ferguson et al. (2003), em uma pesquisa realizada com porcos, observaram que, quando dada a opção de escolha entre dietas a base de soja e dietas a base de tremçoços (*L. albus* e *L. angustifolius*), há uma preferência significativa pela dieta sem tremçoço entre os porcos. Os autores concluíram que esta rejeição ao tremçoço está relacionada aos fatores antinutricionais, que incluem alta concentração de oligossacarídeos, rafinose e estaquiase.

De acordo com Vasilakis; Doxastakis (1999), a quantidade de inibidores de tripsina do tremçoço (*Lupinus albus*) é muito pequena, variando de 0,1 a 0,2 mg/g.

Guillamón et al. (2008) estudaram a presença de inibidores de tripsina em diferentes espécies e cultivares de leguminosas. O conteúdo de inibidores de

tripsina variou de insignificante no gênero *Lupinus* spp. para alto na espécie *Glycine max*.

Porém, as principais substâncias antinutricionais encontradas na semente do tremoço são vários alcaloides do grupo quinolizidina. Estes componentes amargos deixam as sementes com um sabor desagradável e algumas vezes tóxica (WYSOCKA; BRUKWICKI, 1998; TORRES et al., 2002; MICHAEL, 2003).

Por outro lado, os tremoços são classificados em variedades doces, com baixo teor de alcaloides, variedades amargas, com teor de alcaloides de normalmente 1 a 3% e um pequeno número com teores de alcaloides acima de 4% (CHANGO et al., 1993).

Como a maioria dos alcaloides é solúvel em água, a quantidade de alcaloide do grão de tremoço (0,5 a 4,0%) pode ser diminuída para 0,04% usando água corrente, salmoura ou água fervente (TSALIKI et al., 1999; VASILAKIS; DOXASTAKIS, 1999).

A Tabela 5 apresenta o total de alcaloides presentes em quatro espécies diferentes de tremoço.

Tabela 5 - Total de alcaloides presentes nas sementes de tremoço em (% em base seca).

Especificação	Alcaloides
<i>Lupinus albus</i>^a	0,039
<i>Lupinus angustifolius</i>^a	0,065
<i>Lupinus luteus</i>^a	0,118
<i>Lupinus campestris</i>^b	2,74
<i>Lupinus mutabilis</i>^b	3,10

Fonte: ^aSUJAK et al. (2006).

^bJIMÉMENEZ-MARTÍNEZ et al. (2000).

Os alcaloides quinolizidínicos, principalmente esparteína e lupanina (Figura 3) conferem um gosto amargo ao tremoço, além de causar problemas de respiração e outros perigos à saúde. Porém, estas substâncias não são tóxicas em baixas concentrações (TORRES et al., 2002).

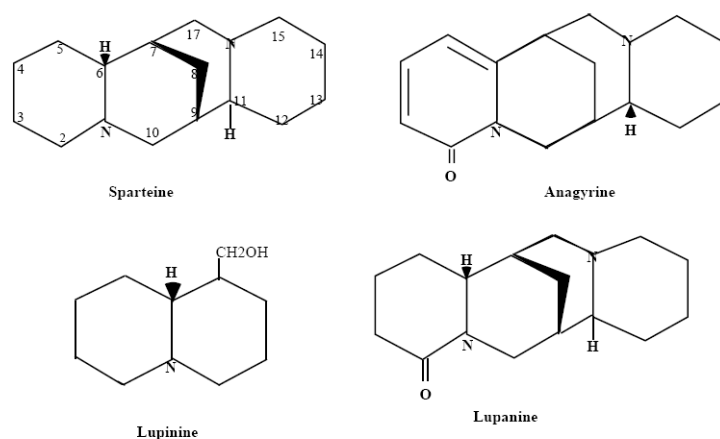


Figura 3 - Estrutura química dos principais alcaloides quinolizidínicos do tremço branco (*Lupinus albus*).

Fonte: FOODSTANDARDS (2001).

Os alcaloides quinolizidínicos representam uma importante questão de segurança de produtos à base de tremço. São metabólitos sintetizados pelo tremço e outras espécies vegetais como mecanismo de defesa contra insetos e herbívoros. Em mamíferos, a intoxicação é caracterizada por tremores, agitação, excitação e convulsão. Lupanina e esparteína mostraram moderada toxicidade oral aguda devida a efeitos neurológicos, levando à perda de coordenação motora e controle muscular (FOODSTANDARDS, 2001).

O extrato de alcaloide de *L. albus* e *L. luteus* contendo lupanina apresentou uma grande ação bactericida contra *Pseudomonas syringae* P. V. *phaseolicola*, *Pseudomonas syringae* P. V. *tomato*, *Pseudomonas putida*, *Erwinia carotovora* var. *carotovora* (VEGA et al., 1996).

Alguns genótipos de *L. angustifolius* com diferentes concentrações de alcaloides apresentaram maior tolerância a herbívoros do que o *L. albus* (VILARIÑO; RAVETTA, 2008).

Resta et al. (2008) avaliaram o conteúdo de alcaloide do grupo quinolizidina em vários produtos como farinha, proteína isolada e produtos disponíveis no mercado (bebidas, aperitivos, biscoitos e espaguetes) a base de *L. albus* e *L. angustifolius*. Os alcaloides encontrados foram: esparteína, albina, angustifolina, α -isolupanina, lupanina, multiflorina, 13 α -hidroxilupanina, 13 α -angeloiloxilupanina e 13 α -

tigloiloxilupanina. Todas as amostras respeitaram o limite máximo de segurança de 200 mg/Kg fixado pelas Autoridades de Saúde da Austrália, Nova Zelândia, Grã-Bretanha e França.

Boschin et al. (2008) avaliaram a presença de alcaloides em algumas variedades de *L. albus* e *L. angustifolius* e verificaram que todas as amostras de tremoço apresentaram lupanina como o alcalóide do grupo quinilizina mais abundante, seguido pela albina e 13 α -hidroxilupanina para o *L. albus* e 13 α -hidroxilupanina e angustifolina para o *L. angustifolius*.

13-hidroxilupanina, tetrahidrorhombifolina, angustifolina, lupanina, 13 α -tigloiloxilupanina e 4 α -angeloil-3 β -hidroxilupanina foram os principais alcaloides encontrados no *Lupinus hintonii* (TORRES et al., 2002).

A concentração de alcaloide do *Lupinus leucophyllus* foi medida em três diferentes anos e em diferentes partes das plantas ao longo do seu desenvolvimento. Os níveis de anagirina foram altos no tecido floral, lupanina acumulou a maior parte no tecido vegetativo e 5,6-dehidrolupanina acumulou principalmente no caule (LEE et al., 2007).

2.1.4 PROCESSAMENTO DO TREMOÇO

2.1.4.1 MÉTODOS UTILIZADOS NA REDUÇÃO DOS FATORES ANTINUTRICIONAIS

Rahma e Rao (1984) utilizaram um método tradicional do Egito para retirar os alcaloides das sementes de tremoço (*Lupinus termis*). As sementes secas eram mantidas em água durante a noite, eram aquecidas na temperatura de fervura por 20 minutos (a água de fervura era substituída por água na temperatura ambiente) e deixadas de molho durante quatro dias. Durante o procedimento, a água era trocada a cada 3 horas.

Jiménez-Martínez et al. (2000) utilizaram o tratamento térmico aquoso e o tratamento térmico alcalino (solução de NaHCO₃ 0,5%), para reduzir ou eliminar os níveis de alcaloides e os fatores antinutricionais das sementes de *Lupinus campestris*. O processo consistiu em deixar as sementes de molho por 6 horas, mantendo a temperatura de 82°C para eliminar os fatores antinutricionais, sendo a solução trocada

a cada 20 minutos. O teor de alcaloide, que no início era de 2,74%, foi reduzido a níveis inócuos nos dois tratamentos (menor que 0,4 a 0,5%). O tratamento térmico aquoso reduziu a quantidade de alcaloide para 0,036%, enquanto que o tratamento térmico alcalino reduziu o conteúdo de alcaloides para 0,002%. O conteúdo de taninos foi reduzido a 71% com o tratamento térmico aquoso e 77% com o tratamento térmico alcalino.

Haddad et al (2006) utilizaram um tratamento para redução da quantidade de alcaloide de duas espécies de tremoço que consistiu em uma queda de pressão controlada instantaneamente seguida de extração aquosa por duas horas. A quantidade inicial de alcaloide do *Lupinus albus* e do *Lupinus mutabilis* respectivamente era de 0,025 e 5,5%. O tratamento mostrou ser eficaz, pois diminuiu o conteúdo de alcaloide de 0,025 para 0,0075% do *L. albus* e de 5,5 para 2,2% do *L. mutabilis*.

2.1.4.2 OBTENÇÃO DE EXTRATO AQUOSO

Jiménez-Martínez et al. (2003) preparam um extrato aquoso “leite” de tremoço (*Lupinus campestris*).

Cerca de 1 Kg de sementes de tremoço limpas, apresentando 44% de proteína e 13,1% de óleo tiveram seu teor de alcaloides reduzidos através de tratamento com solução de NaHCO₃ na temperatura de ebulição por seis horas. 2,5 Kg de sementes com teor de alcaloides reduzido, apresentando 52,8% de proteína e 22,8% de óleo em base seca, foram descascadas manualmente. As cascas, cerca de 0,92 Kg (23%) foram descartadas. 1,58 Kg de cotilédones limpos, apresentando 57% de proteína e 29,4% de óleo, foram triturados em liquidificador por 5 minutos (3 minutos em velocidade lenta, 1 minuto em velocidade média e 1 minuto em velocidade rápida), até que a suspensão pudesse passar por peneira de 0,25 e 0,025. A solução foi aquecida a 82°C por 20 minutos. A proporção de sementes e água foi de 1:9. Uma solução de NaOH 0,1 N foi adicionada até pH 6,8-7,0. O “leite”, apresentando 6,3% de proteína e 3,24% de óleo foi termicamente tratado a 82°C por 20 minutos, para inativar as lipoxigenases, e em seguida resfriado a 4°C para armazenamento.

A Tabela 6 apresenta a análise do leite de vaca, do leite de soja e do leite de tremoço.

Tabela 6 - Análise do leite de vaca, leite de soja e leite de tremoço (*L. campestris*)^a.

<i>Componentes</i>	<i>Leite de Vaca</i>	<i>Leite de Soja</i>	<i>Leite de Tremoço</i>
Proteína (Nx6,38) ^b	2,62 ± 0,01	3,91 ± 0,01	5,80 ± 0,04
Gordura ^b	1,34 ± 0,06	0,70 ± 0,01	2,94 ± 0,04
Fibra ^b	-	0,01 ± 0,00	0,07 ± 0,00
Carboidratos ^b	5,48 ± 0,00	4,76 ± 0,00	0,92 ± 0,00
Cinzas ^b	0,56 ± 0,04	0,61 ± 0,02	0,33 ± 0,01
Umidade ^c	89,00 ± 0,06	89,00 ± 0,00	89,00 ± 0,02

^a Os resultados são as médias ± desvio padrão das determinações em triplicata.

^b % em base seca.

^c Umidade do leite reconstituído, (%).

Fonte: JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al. (2003).

2.1.4.3 USO DO TREMOÇO NO PREPARO DE ALIMENTOS

Recentemente, a indústria de alimentos, preocupada em desenvolver novos produtos usando ingredientes inovadores que promovam benefícios à saúde, tem estudado o uso de proteínas de leguminosas como uma alternativa para a proteína animal (NUNES et al., 2003).

O aumento da aceitabilidade e utilização da soja pela indústria de alimentos é limitado devido ao alto custo de produção. Há a necessidade de investigar a possibilidade de usar outra leguminosa como fonte de proteína, que seja mais viável economicamente e com valor nutritivo comparado ao da soja (SUDARYONO et al., 1999).

A proteína de tremoço (*Lupinus* sp) está substituindo a proteína animal em diversos alimentos, tal como produtos de padaria, imitação de leite, produtos de carne e bebidas (RESTA et al., 2008).

A farinha de tremoço branco (*Lupinus albus* L.) pode ser usada para melhorar e fortificar a qualidade tecnológica e nutricional de diferentes tipos de alimentos, como massas, pães, biscoitos, batatas e leite (MUBARAK, 2001; CHAPLEAU; LAMBALLERIE-ANTON, 2003; HALL; JOHNSON, 2004).

A forma mais comum de consumo do tremço no Brasil é a conserva salgada, como aperitivo (GLOBO RURAL, 2009).

Ribeiro (2006) verificou que a farinha decorticada e desengordurada de tremço doce pode ser usada na elaboração de uma bebida tipo “shake”.

A proteína isolada e a proteína concentrada do *Lupinus angustifolius* podem ser usadas no preparo da refeição para salmão e para truta, apresentando uma boa digestibilidade (GLENCROSS et al., 2004).

As farinhas de *Lupinus angustifolius* e de *Lupinus albus* podem ser incluídas nas dietas de camarões (*Penaeus monodon*), sendo que a farinha de *L. angustifolius* é a mais preferida entre os camarões (SUDARYONO, 1999).

Farinha, proteínas isoladas e proteínas concentradas de tremço *Lupinus albus* podem ser uma excelente escolha para melhorar o valor nutricional de pães. A adição desses ingredientes na concentração de 6 e 9% na farinha de trigo melhora a digestibilidade *in vitro* da proteína, eleva o conteúdo de proteína e aminoácidos essenciais, especialmente lisina, sem alterar as propriedades sensoriais dos pães (MUBARAK, 2001).

O “leite” de tremço (*Lupinus campestris*) foi usado na preparação de iogurte semelhante ao leite de vaca e ao “leite” de soja. Foi obtido um iogurte com pH 4,02, 0,87% de ácido láctico e viscosidade similar ao produto comercial. A análise de aminoácidos indicou que a quantidade de aminoácidos sulfurados é limitada. A avaliação sensorial do iogurte indicou que a adição de sabor morango aumentou a aceitação do produto. Esses resultados ofereceram uma boa possibilidade para a utilização desta leguminosa na nutrição humana através da elaboração de produtos similares aos encontrados no mercado (JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al., 2003).

Cinco tipos de produtos como pão, bolacha de chocolate, massa, muffin e barra de cereal contendo farinha de *Lupinus angustifolius* em três concentrações diferentes, um controle, feito com farinha de trigo e outro com farinha de soja, foram ofertados a 54 provadores, que avaliaram a aparência, o sabor, a textura e a impressão global dos produtos. Todos os produtos foram aceitos pelos consumidores, sendo que a bolacha de chocolate e a barra de cereal tiveram aceitabilidade semelhante aos mesmos produtos preparados com farinha de trigo e com farinha de soja. Para os outros produtos avaliados, foi sugerida uma baixa incorporação de

farinha de tremço. O sabor e a textura dos produtos foram as características mais afetadas pela incorporação da farinha de tremço (HALL; JOHNSON, 2004).

A farinha de tremço *L. angustifolius* livre de α -galactosídeos tem sido utilizada como ingrediente no preparo de massas. A proporção de 80 g/Kg de farinha de *L. angustifolius* var. Emir ou 100 g/Kg da var. Troll foram selecionadas. A massa suplementada apresentou elevada concentração de proteína, fibra alimentar, vitamina B1, cálcio, fósforo, magnésio e zinco, aumentando a capacidade antioxidante das massas, além de ter sido bem aceita entre os consumidores (TORRES et al., 2007).

A adição de 5% de proteína isolada de tremço (*Lupinus* sp) na semolina de trigo usada para o preparo de espaguete permitiu obter um alimento funcional, com características satisfatórias tanto de cozimento quanto nutricionais (DOXASTAKIS et al., 2007).

2.2 PITANGA (*Eugenia uniflora* L.)

As frutas contêm nutrientes essenciais para manter uma ótima saúde e assim o bom funcionamento de todo o corpo. Estes nutrientes são substâncias químicas classificadas em macro e micronutrientes. Os macronutrientes são aqueles que o corpo precisa em maior quantidade, como os carboidratos, as proteínas, as fibras, os lipídios e água. Os micronutrientes, que são as vitaminas e os minerais, são necessários somente em pequenas quantidades, mas fazem parte do grupo dos alimentos chamados reguladores, que como o próprio nome diz, regulam o equilíbrio de todas as funções orgânicas (MELO; ALMEIDA, 2008).

Recentemente, observam-se novas tendências na utilização de sucos, que vão desde o consumo direto, como suco ou refresco, até a elaboração de misturas (*blends*) e *drinks*, passando por toda a gama de bebidas formuladas e enriquecidas, gaseificadas ou não, entre outros (VAILLANT et al., 1999).

O mercado de sucos tende a crescer muito porque o uso de frutas e dos sucos está sendo muito divulgado, levando ao menor consumo de refrigerante. O apelo para uma vida mais saudável, com o incentivo ao uso de bebidas funcionais, é um dos fatores do crescimento. Mesmo assim, o percentual de consumo no Brasil é muito pequeno ainda – 3 a 4 litros por habitante/ano, em média. Na Argentina, o

consumo é de mais de 10 litros por habitante/ano, que é pequeno também quando comparado com a quantidade consumida na Alemanha, que é mais de 40 litros por habitante/ano (IBRAF, 2008).

O consumo per capita de bebidas de frutas industrializadas prontas para o consumo (sucos, néctares e refrescos de frutas) praticamente dobrou no Brasil de 2003 a 2008, segundo estimativa da Associação Brasileira de Refrigerantes e Bebidas Não Alcoólicas (ABIR). Em 2003 esse mercado era de somente 3,5 litros/ano por brasileiro e atingiu 6,6 litros/ano em 2008 (HORTIFRUTA BRASIL, 2009).

Os sucos de frutas tropicais conquistam cada vez mais o mercado consumidor, sendo o Brasil, um dos principais produtores. Existe grande diversidade de produtos derivados de frutos e constante inserção de novos produtos no mercado de consumo, os quais, na maioria das vezes, ainda não foram devidamente pesquisados com respeito às suas propriedades e atividades benéficas à saúde (KUSKOSKI et al., 2006).

A pitanga, fruto da pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) pertence à família botânica das Myrtaceae. É uma planta frutífera nativa do Brasil (das regiões Sul e Sudeste e que tem se adaptado favoravelmente às condições climáticas e edáficas da região Nordeste), da Argentina e do Uruguai (BEZERRA et al., 2000).

O seu nome vem da palavra tupi "pyrang", que significa "vermelha". Já era apreciada pelos colonizadores que a cultivavam em suas residências, e de seus frutos que produziam doces e sucos, além de utilizarem suas folhas na medicina popular. Apesar de sua origem tropical, seu cultivo já se encontra difundido por diversos países, podendo ser encontrada no sul dos Estados Unidos, nas ilhas do Caribe e em alguns países asiáticos (BEZERRA et al., 2000).

Seus frutos estão ganhando popularidade no mundo inteiro devido ao seu valor nutricional e ao seu sabor exótico (OGUNWANDE et al., 2005).

No Brasil, a pitanga tem um bom desenvolvimento, apresentando-se como uma arvoreta de até oito metros de altura. As folhas são opostas, verde-escuras, brilhante, glabras, perfumadas, ovais, onduladas, inteiras, com pecíolo curto e fino. As folhas novas são cor de vinho. Flores brancas, suavemente perfumadas, melíferas abundantemente providas de pólen, hermafroditas, dispostas na axila das folhas. Possuem quatro pétalas e muitos estames amarelos. A pitanga é uma baga,

com cerca de 30 mm de diâmetro, conforme apresentada na Figura 4, formosa de um vermelho intenso quando bem madura, a polpa é vermelha, sucosa, macia, doce ou agridoce, perfumada, saborosa. A fruta prende-se a arvoreta por meio de um pedúnculo com dois a três cm de comprimento (AGROV, 2009).



Figura 4 - Pitanga (*Eugenia uniflora* L.).

Fonte: WIKIPÉDIA (2009) e ARARA (2009).

A pitangueira frutifica de outubro a janeiro e, no Brasil, não se conhecem variedades perfeitamente definidas de pitangueiras, e é comum encontrar frutos de coloração que variam desde o alaranjado, vermelho escuro até o roxo, ou quase preto (LIMA et al., 2002; VIZZOTTO, 2008).

A pitanga é uma fruta cuja polpa apresenta excelentes condições para industrialização, devido ao seu alto rendimento, aroma agradável e sabor exótico. A polpa constitui-se numa das principais matérias-primas para a fabricação de sucos, sorvetes, geléias e licores. Em razão da dificuldade no comércio da fruta *in natura*, devido à alta perecibilidade e susceptibilidade a danos físicos durante o transporte a distâncias, as agroindústrias regionais apresentam-se como solução, por propiciar a sua comercialização na forma de polpa e sucos congelados ou no engarrafamento do suco integral (BEZERRA et al., 2000).

A pitanga madura é bastante vulnerável à depreciação, tornando-se de difícil conservação e armazenamento ao natural, o que dificulta o seu transporte e comercialização a grandes distâncias. Além do mais, como o fruto cai no solo após atingir a maturação plena, é aconselhável realizar colheitas periódicas, já que a queda provoca estragos e compromete a sua qualidade. Os frutos completamente maduros são muito frágeis e qualquer choque ou atrito provoca ruptura da película, e a polpa

entra rapidamente em fermentação. Após a colheita os frutos suportam no máximo 24 horas em temperatura ambiente (FRANZÃO; MELO, 2009).

Existem boas perspectivas de comercialização para os frutos da pitangueira, principalmente em nichos de mercados ávidos por novidades. Além da possibilidade da exportação para consumo dos frutos *in natura* e pela agroindústria, também vem despertando o interesse da indústria farmacêutica, com esforços na busca de substância antioxidantes, dentre outras, como antocianinas e óleos essenciais que podem ser extraídos das folhas e de outras partes da planta (FRANZÃO, 2008).

Na indústria alimentícia brasileira, a pitanga tem sido utilizada principalmente para a produção de suco, o que demonstra bom potencial econômico decorrente da sua alta concentração de compostos antioxidantes, como antocianinas (LIMA et al., 2002); além da composição de óleo obtido a partir de suas folhas e frutos (OLIVEIRA et al., 2006).

Estudos têm mostrado que os frutos e as folhas da pitanga podem ser úteis na prevenção de doenças humanas (OGUNWANDE et al., 2005).

Rica em vitaminas, principalmente A, a pitanga também pode ser uma aliada no combate ao câncer. Ainda em fase inicial, um projeto conjunto da Universidade da Carolina do Sul (EUA), da Embrapa Clima Temperado e da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul vai avaliar se as antocianinas, os carotenóides e os fenóis presentes na fruta podem reduzir o processo de disseminação de células cancerígenas no organismo humano (BOTELHO, 2007).

Lima et al. (2002) quantificaram os teores de compostos fenólicos e de carotenóides totais presentes na pitanga roxa e vermelha. A pitanga roxa apresentou 325 mg/100g de fenólicos totais e 111 $\mu\text{g/g}$ de carotenóides totais, e a pitanga vermelha apresentou 257 mg/100g de fenólicos totais e 104 $\mu\text{g/g}$ de carotenóides totais. Os teores de carotenóides totais, antocianinas e flavonóis da pitanga roxa madura estão mais concentrados na película do que em sua polpa.

Jacques et al. (2007) quantificaram o teor de carotenóides nas pitangas roxa, vermelha e laranja (*Eugenia uniflora*) fornecidas pela Embrapa Clima Temperado/RS, da safra de 2007. Dentre as três seleções de pitanga, a pitanga vermelha apresentou um teor de carotenóides (152,96 $\mu\text{g/g}$ de β -caroteno), muito superior à pitanga roxa (45,3 $\mu\text{g/g}$ de β -caroteno) e da pitanga laranja (30,35 $\mu\text{g/g}$ de β -caroteno).

A TACO (2006) apresenta a composição de alimentos por 100 gramas de parte comestível da pitanga (*Eugenia uniflora*) crua: 88,3% de umidade, 41 Kcal de energia, 0,9 g de proteína, 0,2 g de lipídeo, 10,2 g de carboidratos, 3,2 g de fibra alimentar, 0,4 g de cinza e 18,0 mg de cálcio.

Os parâmetros físico-químicos exigidos pela Instrução Normativa nº12 de 04 de Setembro de 2003 para o suco tropical de pitanga são: polpa de pitanga (g/100g) – 60,00 (mínimo); sólidos solúveis em °Brix, a 20°C – 5 (mínimo); acidez total expressa em ácido cítrico (g/100g) – 0,50% (mínimo); açúcares totais (g/100g) – 8,60 (máximo); cor variando de alaranjada a vermelha; sabor e aroma próprios (BRASIL, 2003).

Pio et al. (2005) analisaram as características físico-químicas de frutos de pitangueira em função de sua disposição na copa da planta em Lavras/MG, no mês de dezembro de 2002. Plantas de pitangueira vermelha foram divididas em terço basal, mediano e apical. Os frutos da pitangueira situados no terço apical da planta apresentam melhores características de comprimento (1,28 cm), relação comprimento/diâmetro (0,71), rendimento de polpa (89%) e sólidos solúveis totais (14,97°Brix).

Desde 1985 a Embrapa Clima Temperado começou os primeiros trabalhos com as fruteiras nativas do Sul do Brasil e entre elas, a pitangueira. Nos anos seguintes, a coleção dessa espécie foi ampliada e começaram os trabalhos de avaliação e seleção de germoplasma. Dentre as características observadas, além da produção por planta, destacam-se a cor da película, cor da polpa, número de lóbulos, tamanho e peso médio do fruto, tamanho da semente, sabor e adstringência. Com base nas avaliações efetuadas ao longo dos anos, hoje se tem seleções aptas a serem multiplicadas e disponibilizadas aos produtores; além de algumas seleções promissoras, como as seleções 15, 33, 61, 62, 75 e 161, as quais apresentam características desejáveis (RASEIRA; RASEIRA, 2006).

Raseira et al. (2007) compararam 66 seleções de pitangueiras, em teste na Embrapa Clima Temperado. A seleção 15 foi a mais produtiva, com uma média de 24,4 Kg/planta, com frutas de película alaranjada e de tamanho médio. A seleção 68 foi a menos produtiva. Porém, os autores concluíram que a maioria das seleções estudadas permitiu altas produções por hectare.

O Brasil é um dos principais centros de diversidade genética de fruteiras silvestres do mundo. Entretanto, muito pouco se conhece sobre a grande maioria destas espécies. Dentre elas, a pitangueira (*Eugenia uniflora*) é uma das espécies que se destaca com potencial de utilização em cultivos comerciais, principalmente pelas características de seus frutos, de sabor exótico e rico em vitaminas, principalmente vitamina A. Entretanto, algumas medidas são necessárias para que a pitangueira seja introduzida nos sistemas de produção. A oferta de mudas uniformes e de qualidade, trabalhos de melhoramento genético, a difusão de informações que permitam o cultivo desta espécie e escala comercial e de forma economicamente viável, além de estratégias de “marketing”, estão entre as medidas a serem adotadas (FRANZÃO, 2008).

2.3 METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA (MSR)

A necessidade crescente da otimização de produtos e processos, minimizando custos e tempos, maximizando rendimento, produtividade e qualidade de produtos, dentre outros objetivos, tem levado outros profissionais de diferentes formações a buscarem técnicas sistemáticas de planejamento de experimentos (RODRIGUES; IEMMA, 2005).

A metodologia do planejamento fatorial, associada à análise de superfície de respostas, é uma ferramenta fundamentada na teoria estatística, que fornece informações seguras sobre o processo, minimizando o empirismo, que envolve técnicas de tentativa e erro (BOX et al., 1978 citado por RODRIGUES; IEMMA, 2005).

Embora esta metodologia tenha sido proposta por Box na década de 50, somente nos últimos anos ela tem sido mais intensamente utilizada (BOX et al., 1978 citado por RODRIGUES; IEMMA, 2005).

O planejamento experimental, baseado nos fundamentos estatísticos é uma ferramenta poderosa para se chegar às condições otimizadas de um processo, desenvolvimento da formulação de produtos dentro das especificações desejadas ou simplesmente para avaliar os efeitos ou impactos que os fatores têm nas respostas desejadas (RODRIGUES; IEMMA, 2005).

Hough et al. (1997) utilizaram a metodologia de superfície de resposta para otimizar uma formulação de chocolate ao leite em pó com concentrações adequadas de goma e de cacau.

Adbullah; Cheng (2000) utilizaram a metodologia de superfície de resposta para determinar a concentração ótima de abacaxi, mamão e carambola em uma formulação de geléia de frutas com menos calorias. Através da análise sensorial, os autores concluíram que a formulação ótima apresentava 71% de abacaxi, 25% de mamão e 4% de carambola, e apenas 106kcal/100g, que corresponde a um terço do valor calórico da geléia normal.

O tempo e a temperatura ótimos de torrefação do café robusta (*Coffea canephora* Conillon) foram avaliados através da metodologia de superfície de resposta. Vinte e cinco consumidores avaliaram os atributos sensoriais aroma, sabor e cor da bebida. Os resultados foram analisados através da superfície de resposta e mostraram que o tempo ótimo foi de 22 a 28 minutos e a temperatura ótima foi de 225 a 230°C (MENDES et al., 2001).

Valim et al. (2003) desenvolveram uma bebida a base de extrato aquoso de soja e suco de laranja utilizando a metodologia de superfície de resposta para obter um produto com propriedades sensoriais adequadas, visando a análise pela metodologia de superfície de resposta. As variáveis independentes selecionadas foram a concentração de ácido cítrico e a concentração de proteína. A formulação que apresentou maior aceitabilidade pelos provadores foi preparada com 19% de suco de laranja concentrado (0,71g/100mL de ácido cítrico) e 46% de extrato aquoso de soja (1,22g/100mL de proteína).

Freitas; Jackix (2004) desenvolveram um néctar misto de cenoura e laranja, adicionado de frutoligossacarídeo e pectina cítrica, utilizando a metodologia de superfície de resposta. Vinte e dois provadores avaliaram a bebida nos atributos sensoriais de aparência, sabor, corpo e impressão global. As condições ótimas de aceitação enquadraram-se na faixa entre 0,2 e 0,8% de pectina e 1 a 19% de frutoligossacarídeo.

Grizotto et al. (2005) utilizaram um delineamento experimental associado a metodologia de superfície de resposta para investigar os parâmetros relevantes no processo de estruturação da polpa concentrada de mamão (16°Brix). Os resultados mostraram ser possível obter uma fruta estruturada com teor elevado de polpa de

mamão concentrada (672g/Kg) e quantidade mínima de sacarose (364g/Kg). O glicerol na concentração de 100g/Kg suprimiu a atividade de água dos géis de polpa concentrada de mamão para 0,922.

Ekpong et al. (2006) compararam dois métodos sensoriais utilizados para a otimização de novos produtos. O produto escolhido para ser otimizado foi uma gelatina de manga. Tanto a escala hedônica estruturada de nove pontos quanto a escala hedônica não-estruturada de 15 cm apresentaram o mesmo resultado, podendo ser usadas na otimização de produtos.

A metodologia de superfície de resposta foi usada para avaliar o efeito de três fatores (edulcorante, pectina de baixo grau de metilação e conteúdo de cálcio) na aceitabilidade de geléia mista de frutas tropicais (abacaxi, banana e maracujá). Cem consumidores avaliaram as quinze amostras de formuladas. Foi possível desenvolver uma geléia com menos de 12 calorias por porção, permitindo ao produto ser rotulado como de “baixa caloria” (ACOSTA et al., 2008).

A metodologia de superfície de resposta tem sido aplicada com sucesso por vários autores para determinar a melhor formulação de um produto alimentar, avaliando os atributos sensoriais e/ou físico-químicos (CATHARINO; GODOY, 2001; BARRETO et al., 2003; MARTÍNEZ et al., 2004; SINGH et al., 2004; ALIZADEH et al., 2005; SIN et al., 2006).

3 OBJETIVOS

Otimizar, através da metodologia de superfície de resposta, a formulação de uma bebida a partir de extrato aquoso de tremoço branco (*Lupinus albus* L.) adicionado de suco tropical de pitanga (*Eugenia uniflora* L.).

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Utilizar o tratamento aquoso com aquecimento, como forma de diminuir o teor de alcaloides dos grãos de tremoço branco (*Lupinus albus* L.).
- Elaborar extrato aquoso a partir de tremoço branco (*Lupinus albus* L.).
- Avaliar usando análise sensorial, a aceitação pelos consumidores das bebidas formuladas.
- Validar o produto otimizado através da análise sensorial (teste de aceitação) na condição considerada ótima.
- Avaliar as características físico-químicas da farinha integral, decorticada, decorticada com redução do teor de alcaloide, do extrato aquoso e do produto otimizado.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

As sementes de tremçoço branco (*Lupinus albus* L.) foram obtidas junto à Estação Experimental do Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), Londrina, PR. O suco tropical de pitanga foi obtido no mercado local de Araraquara, SP.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 PREPARO DA FARINHA INTEGRAL

Os grãos secos foram selecionados manualmente e lavados. Cerca de 300 g de sementes de tremçoço foram secas a 50 °C durante 12 horas, em estufa com circulação de ar. Posteriormente, as sementes foram trituradas em moinho de facas dotado de peneira com abertura de 1 mm e em seguida, a farinha foi uniformizada em tamiz de 60 mesh.

4.2.2 PREPARO DA FARINHA DECORTICADA

Os grãos secos foram selecionados manualmente e lavados. Cerca de 300 g de sementes de tremçoço foram entumecidas em água destilada por 24 horas a 4 °C, e, posteriormente, descascadas manualmente. Os cotilédones e os embriões foram secos a 50 °C durante 12 horas, em estufa com circulação de ar. Em seguida, as sementes foram trituradas em moinho de facas dotado de peneira com abertura de 1 mm e em seguida, a farinha foi uniformizada em tamiz de 60 mesh.

4.2.3 REDUÇÃO DO TEOR DE ALCALOIDES ATRAVÉS DE TRATAMENTO TÉRMICO AQUOSO

As sementes secas de tremçoço foram selecionadas e lavadas manualmente.

Cerca de 2,5 Kg de sementes foram adicionadas de aproximadamente 18 L de água e, posteriormente, foram submetidas ao aquecimento até 50 °C e mantidas a temperatura ambiente.

Este procedimento foi realizado três vezes por dia, durante cinco dias, sendo que na terceira vez, as sementes foram submetidas ao aquecimento até 80 °C e mantidas a temperatura ambiente “overnight”.

O fluxograma que mostra o procedimento utilizado para a redução do teor de alcaloides das sementes de tremçoço branco (*Lupinus albus*) é apresentado na Figura 5.

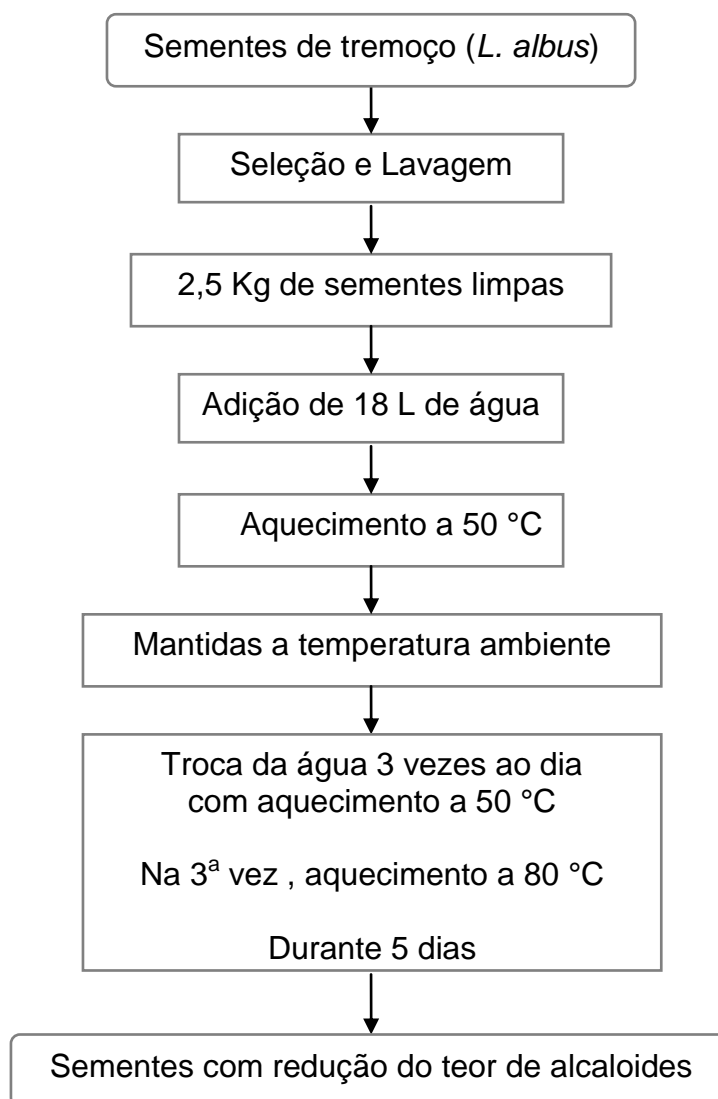


Figura 5 - Fluxograma do processo utilizado para a redução do teor de alcaloides das sementes de tremçoço branco (*Lupinus albus*).

4.2.4 PREPARO DA FARINHA DECORTICADA COM REDUÇÃO DO TEOR DE ALCALOIDES

Após o tratamento térmico aquoso das sementes de tremoço, foi efetuada a retirada da casca, manualmente.

Cerca de 300 g de sementes decorticadas foram secas a 50 °C durante 12 horas, trituradas em moinho de facas dotado de peneira com abertura de 1 mm e em seguida, a farinha foi uniformizada em tamiz de 60 mesh.

4.2.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA FARINHA INTEGRAL, DECORTICADA E DECORTICADA COM REDUÇÃO DO TEOR DE ALCALOIDES

4.2.5.1 UMIDADE: para a determinação do teor de umidade utilizou-se o método da secagem em estufa com circulação de ar a 105 °C, até peso constante (AOAC, 1995).

4.2.5.2 PROTEÍNA: a determinação do teor protéico foi realizada pelo método de Kjeldahl. O teor de nitrogênio foi convertido em proteína utilizando-se o fator 6,25 (AOAC, 1995).

4.2.5.3 LIPÍDEOS: o teor de lipídeos foi determinado pelo método de Bligh-Dyer, através da extração com mistura de solventes a frio (BLIGH; DYER;1959).

4.2.5.4 CINZAS: o teor de cinzas foi determinado por meio de incineração da amostra em mufla entre 550 e 600 °C, até peso constante (AOAC, 1995).

4.2.5.5 FIBRA: o teor de fibras foi determinado com o auxílio do extrator de fibras ANKON e incineração da amostra em mufla a 600 °C, até peso constante (AOAC, 1995).

4.2.5.6 CARBOIDRATOS TOTAIS: a concentração de carboidratos foi determinada por diferença em relação aos demais.

4.2.6 OBTENÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE TREMOÇO (*Lupinus albus*)

Cerca de 100 g de grãos tratados para extração de alcaloide e descascados foram homogeneizados com auxílio de 500 mL de água destilada, no liquidificador, durante cerca de 5 minutos, com rotação de aproximadamente 10.000 rpm.

Em seguida, o extrato aquoso de tremoço foi submetido à fervura por 30 minutos, resfriado a temperatura de 30 °C e, posteriormente, peneirado em peneira de 60 mesh, até um volume de 500 mL de extrato aquoso.

Foi adicionado o soro de leite na concentração de 8% (40 g) e em seguida, aquecido por 10 minutos a 50 °C.

A mistura foi resfriada e homogeneizada com auxílio de liquidificador por 2 minutos.

Em seguida verificou-se a viscosidade da mistura com auxílio de copo Ford.

Na Figura 6 é apresentado um fluxograma de processamento do extrato aquoso de tremoço branco (*Lupinus albus*).

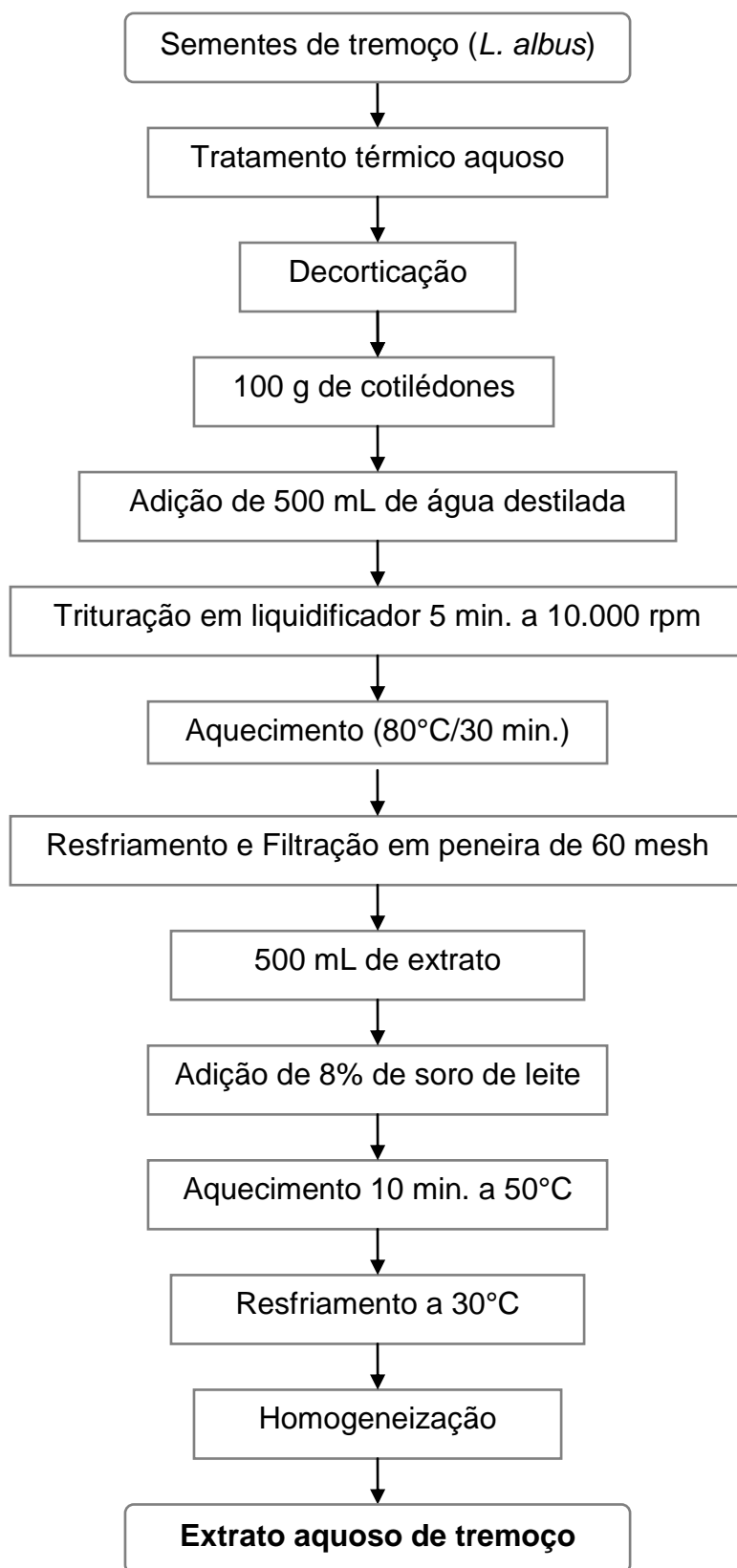


Figura 6 - Fluxograma do processo de produção do extrato aquoso de tremço branco (*Lupinus albus*).

4.2.6.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EXTRATO AQUOSO

- 4.2.6.1.1 UMIDADE: baseado na medida do ângulo de refração da amostra a 20°C em refratômetro automático da marca ATAGO, modelo Master-T (AOAC, 1995).
- 4.2.6.1.2 TEOR PROTÉICO: a determinação do teor protéico nas farinhas de tremoço foi realizada pelo método de Kjeldahl. O teor de nitrogênio foi convertido em proteína utilizando-se o fator 6,25 (AOAC, 1995).
- 4.2.6.1.3 LIPÍDEOS: o teor de lipídeos foi determinado pelo método de Bligh-Dyer, através da extração com mistura de solventes a frio (BLIGH; DYER; 1959).
- 4.2.6.1.4 CINZAS: o teor de cinzas foi determinado por meio de incineração da amostra em mufla entre 550 e 600°C, até peso constante (AOAC, 1995).
- 4.2.6.1.5 CARBOIDRATOS TOTAIS: a concentração de carboidratos foi determinada por diferença em relação aos demais.
- 4.2.6.1.6 SÓLIDOS SOLÚVEIS (como °Brix): baseado na leitura direta dos graus Brix da amostra a 20 °C em refratômetro automático da marca ATAGO, modelo Master-T (AOAC, 1995).
- 4.2.6.1.7 pH: O pH do extrato aquoso foi determinado usando método potenciométrico, pHmetro digital da marca MARCONI, modelo PA200 (AOAC, 1995).
- 4.2.6.1.8 VISCOSIDADE: a viscosidade do extrato aquoso de tremoço foi medida através do viscosímetro Copo Ford (ABNT, 2003).

4.2.7 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA (MSR)

4.2.7.1 DELINEAMENTO ESTATÍSTICO

Foi empregado um planejamento fatorial 3^2 , com duas variáveis e três níveis equidistantes de variação, codificados em -1, 0 e 1. O delineamento foi composto por 9 experimentos com duas repetições no ponto central, totalizando ao todo 11 experimentos (RODRIGUES; IEMMA, 2005). A codificação das variáveis foi feita com base na equação (1).

$$X_i = \frac{Z_i - Z_{\text{ponto central}}}{\text{Faixa de variação}} \dots\dots\dots(1)$$

Faixa de variação

Z = valores reais das variáveis independentes.

As variáveis independentes foram representadas pelo volume do extrato aquoso de tremoço (mL) e pelo volume do suco de pitanga (mL), enquanto que as variáveis dependentes (respostas) referiram-se à aceitação dos produtos através do teste de aceitação (atributos “aparência”, “aroma”, “sabor” e “impressão global”).

A região experimental, ou seja, os limites superior e inferior de cada uma das variáveis independentes utilizadas, foi determinada por ensaios preliminares. As variáveis independentes e os níveis de variação podem ser observados nas Tabelas 7 e 8, onde Z representa as variáveis independentes originais e X as mesmas variáveis codificadas.

O polinômio de segundo grau empregado para o ajuste das variáveis de resposta está representado na equação (2).

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 \dots\dots\dots(2)$$

Onde X_1 e X_2 representam o volume do extrato aquoso de tremoço e o volume do suco de pitanga, respectivamente, expressos em forma codificada; β_0 , β_1 ,

β_2 , β_{11} , β_{22} e β_{12} representam os parâmetros a serem estimados – coeficientes; Y as variáveis dependentes (respostas) dos dados experimentais.

Tabela 7 - Variáveis independentes e níveis utilizados no estudo do perfil de otimização.

Variáveis	Níveis Codificados		
	-1	0	1
Originais			
Z ₁ (mL)	50,00	70,00	90,00
Z ₂ (mL)	10,00	30,00	50,00

Z₁ = volume do extrato aquoso de tremoço (mL); Z₂ = volume do suco de pitanga (mL).

Tabela 8 - Delineamento experimental para a preparação do suco de pitanga a base de tremoço.

Ensaio	Variáveis Codificadas		Variáveis Originais	
	X ₁	X ₂	Z ₁ (mL)	Z ₂ (mL)
1	-1	-1	50,00	10,00
2	-1	0	50,00	30,00
3	-1	1	50,00	50,00
4	0	-1	70,00	10,00
5	0	1	70,00	50,00
6	1	-1	90,00	10,00
7	1	0	90,00	30,00
8	1	1	90,00	50,00
9	0	0	70,00	30,00
10	0	0	70,00	30,00
11	0	0	70,00	30,00

Z₁ = volume do extrato aquoso de tremoço (mL); Z₂ = volume do suco de pitanga (mL).

4.2.7.2 RESPOSTAS

4.2.7.2.1 ANÁLISE SENSORIAL

Os testes de aceitação das bebidas foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial/Departamento de Alimentos e Nutrição/Faculdade de Ciências Farmacêuticas/UNESP, utilizando-se cabines individuais, providas de abastecimento de água e cuspeiras, iluminadas com luz branca.

As formulações processadas foram avaliadas sensorialmente, através do Teste de Aceitação, utilizando-se a escala hedônica não estruturada de nove centímetros, ancoradas à esquerda pelo termo “desgostei muitíssimo” e à direita pelo termo “gostei muitíssimo” (o modelo da ficha de avaliação é apresentado no ANEXO 1), conforme sugerido por Stone; Sidel (1993) e Minim (2006).

Para o atributo intenção de compra, foi aplicada a escala estruturada de cinco pontos, na qual a nota máxima foi representada pela intenção “eu certamente compraria este produto” a nota mínima foi representada pela intenção “eu certamente não compraria este produto”, conforme APÊNDICE 1.

As amostras foram servidas de forma balanceada, sendo que cada amostra foi servida em todas as posições possíveis o mesmo número de vezes, de acordo com MACFIE et al. (1989), em copos plásticos com capacidade para 50 mL, codificando-se cada uma com números de três dígitos, ao acaso e servidas a temperatura de refrigeração (10°C), acompanhando bolacha de água e sal, e água mineral.

Os atributos sensoriais aparência, aroma, sabor e impressão global das bebidas formuladas foram avaliados conforme a aceitação de 100 julgadores não treinados (72 do sexo feminino e 28 do sexo masculino), com idade entre 17 e 61 anos. Todos os voluntários foram recrutados na Faculdade de Ciências Farmacêuticas, sendo, portanto, funcionários, professores, alunos de graduação e alunos de pós-graduação (APÊNDICE 2).

4.2.8 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO PRODUTO OTIMIZADO

4.2.8.1 UMIDADE: baseado na medida do ângulo de refração da amostra a 20 °C em refratômetro automático da marca ATAGO, modelo Master-T (AOAC, 1995).

4.2.8.2 TEOR PROTÉICO: a determinação do teor protéico nas farinhas de tremçoço foi realizada pelo método de Kjeldahl. O teor de nitrogênio foi convertido em proteína utilizando-se o fator 6,25 (AOAC, 1995).

4.2.8.3 CINZAS: o teor de cinzas foi determinado por meio de calcinação da amostra em mufla entre 550 e 600°C, até peso constante (AOAC, 1995).

4.2.8.4 CARBOIDRATOS TOTAIS: a concentração de carboidratos foi determinada por diferença em relação aos demais.

4.2.8.5 SÓLIDOS SOLÚVEIS (como °BRIX): baseado na leitura direta dos graus Brix da amostra a 20 °C em refratômetro automático da marca ATAGO, modelo Master-T (AOAC, 1995).

4.2.8.6 pH: o pH do extrato aquoso foi determinado usando método potenciométrico (pHmetro digital da marca MARCONI, modelo PA200) segundo a AOAC (1995).

4.2.8.7 VISCOSIDADE: a viscosidade do extrato aquoso de tremçoço foi medida através do viscosímetro Copo Ford (ABNT, 2003).

4.2.9 VALIDAÇÃO DO MODELO PREDITIVO ESTABELECIDO PELA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

A formulação otimizada foi avaliada sensorialmente, através do Teste de Aceitação, conforme procedimento descrito no item 4.2.9.2.1., juntamente com a atitude de compra do consumidor, com a finalidade de validar experimentalmente os valores calculados através da metodologia de superfície de resposta.

4.2.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os resultados dos testes de aceitação sensorial foram avaliados com o auxílio do programa SAS (1993), empregando as metodologias estatísticas análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância e o teste de médias de Tukey ($p < 0,05$). As análises estatísticas e os gráficos da Metodologia de Superfície de Resposta foram feitos usando o programa estatístico STATISTICA, 2006.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA FARINHA INTEGRAL E DECORTICADA

A composição química da farinha integral e da farinha decorticada de tremçoço branco (*Lupinus albus*) está apresentada na Tabela 9.

Tabela 9 - Composição química da farinha integral e decorticada de tremçoço branco (*Lupinus albus*).

Componentes	Farinha Integral	Farinha Decorticada
Proteína (%)^a	32,08 ± 0,40	42,25 ± 0,50
Lipídeos (%)^a	11,40 ± 0,02	14,80 ± 1,70
Cinzas (%)^a	3,17 ± 0,03	3,09 ± 0,00
Fibra (%)^a	9,00 ± 0,26	0,94 ± 0,04
Umidade (%)^a	5,27 ± 0,30	6,01 ± 0,36
Carboidratos (%)^b	39,08	32,91

^a Valores médios ± desvio padrão, n = 3.

^b Calculada por diferença.

De acordo com Erbas et al. (2005), a quantidade de proteína do tremçoço branco pode variar de 33% a 47%. O conteúdo de lipídeos pode variar de 6% a 13%, com uma alta concentração de ácidos graxos polinsaturados (HUYGHE, 1997).

A farinha integral (com casca) do tremçoço branco apresentou 32,08% de proteína, conteúdo similar ao encontrado por ERBAS et al. (2005), 32,2% e menor do que o encontrado por MUBARAK (2001), 34,9% e por Sujak et al. (2006), 36,3% para a mesma espécie de tremçoço.

Segundo Sujak et al. (2006), o conteúdo de proteína do *L. albus* (36,3%) é maior que do *L. angustifolius* (33,0%) e menor que o *L. luteus* (46,5%); o *L. campestris* apresenta 44,0 % de proteína (JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al., 2000).

O conteúdo de lipídeos da farinha integral foi de 11,40%, similar ao encontrado por SUJAK et al. (2006), 11,5% e maior do que o encontrado por Erbas et al. (2005), 5,95%.

De acordo com Sujak et al. (2006), o conteúdo de lipídeos do *L. albus* (11,5%) é maior que do *L. angustifolius* (6,8%) e que o *L. luteus* (5,5%); o *L. campestris* apresentou 13,1 % de lipídeos (JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al., 2000).

A quantidade de cinzas da farinha integral foi de 3,17 %, similar ao encontrado por SUJAK et al. (2006) 3,9% e maior do que o encontrado por ERBAS et al. (2005), 2,65%.

Segundo Sujak et al. (2006), o conteúdo de cinzas do *L. albus* (3,9%) é maior que do *L. angustifolius* (3,7%) e menor que o *L. luteus* (4,6%); o *L. campestris* apresentou 3,5% de cinzas (JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al., 2000).

A umidade da farinha integral foi de 5,27%, menor do que o encontrado por Erbas et al. (2005), 8,32%.

A quantidade de fibra bruta encontrada foi de 9,00% na farinha integral, conteúdo menor do que o encontrado por ERBAS et al (2005), 16,2% e por SUJAK et al (2006), 14,4% para a mesma espécie.

Na farinha decorticada (sem casca) o conteúdo de proteína (42,2%), de lipídeos (14,80%), a umidade (6,01%), apresentaram-se maiores do que na farinha integral, enquanto que o conteúdo de cinzas (3,09%) e de fibra (0,94%) apresentou-se menor.

5.2 MÉTODO DE REDUÇÃO DO TEOR DE ALCALÓIDES ATRAVÉS DO TRATAMENTO TÉRMICO AQUOSO

Durante o tratamento térmico aquoso, utilizado para a redução do teor de alcalóides das sementes de *L. albus*, os diferentes componentes das sementes foram modificados em diferentes proporções (Tabela 10).

Tabela 10 - Composição química da farinha decorticada e da farinha decorticada com redução do teor de alcaloides de tremçoço branco (*Lupinus albus*).

Componentes	FD^a	FDR^b
Proteínas (%)^c	42,25 ± 0,50	44,23 ± 0,20
Lipídeos (%)^c	14,80 ± 1,70	16,18 ± 0,10
Cinzas (%)^c	3,09 ± 0,00	1,32 ± 0,03
Fibra (%)^c	0,94 ± 0,04	1,36 ± 0,10
Umidade (%)^c	6,01 ± 0,36	7,78 ± 0,30
Carboidratos (%)^d	32,91	29,13

^a Farinha Decorticada.

^b Farinha Decorticada com Redução do Teor de Alcaloides.

^c Valores médios ± desvio padrão, n = 3.

^d Calculado por diferença.

A proteína da semente do tremçoço aumentou de 42,25% para 44,23% e o conteúdo de lipídeos aumentou de 14,8% para 16,18% devido ao tratamento térmico aquoso. O mesmo foi relatado por JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al. (2000), onde, devido ao tratamento térmico aquoso, o conteúdo de proteína da semente de *L. campestris* aumentou de 44% para 50% e o conteúdo de lipídeos aumentou de 13,1% para 21,2%. A quantidade de proteína do *L. termis* aumentou de 51,5% para 57,7% (RAHMA; RAO, 1984).

A quantidade de cinzas diminuiu de 3,09% para 1,32% e o conteúdo de carboidratos diminuiu de 32,91% para 29,13%. O mesmo foi observado por JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al. (2000), onde o conteúdo de cinzas do *L. campestris* diminuiu de 3,5% para 3,0% e o conteúdo de carboidratos diminuiu de 24,7% para 15,3%.

De acordo com Jiménez-Martínez et al. (2000), o conteúdo de fibras também diminuiu de 14,7% para 12,2%, o mesmo não foi observado neste trabalho, onde o conteúdo de fibras, 0,94% apresentou-se maior, 1,36%.

Este aumento do conteúdo de proteína e lipídeos pode ser devido ao fato de alguns carboidratos e minerais serem eliminados na troca de água durante o processo (JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al., 2000).

5.3 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EXTRATO AQUOSO

Nos últimos anos tem havido um interesse maior em proteínas inovadoras, como a proteína vegetal (RESTA et al., 2008).

As sementes de tremoço são fontes promissoras de ingredientes inovadores, tendo, em média, um teor de proteína semelhante ao da soja (34 – 43%) (SUJAK et al., 2006).

Embora as sementes de tremoço tenham sido usadas principalmente como alimento para animais, elas estão ganhando importância como fontes de proteína vegetal para o consumo humano, particularmente nos países asiáticos (BRENDON et al., 1991).

Contudo, a utilização das sementes de tremoço tem sido limitada pela presença de alcaloides e outros fatores antinutricionais. Estes compostos podem ser eliminados através de diferentes métodos tecnológicos (JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al., 2000).

A Tabela 11 apresenta a análise do extrato aquoso de tremoço branco (*Lupinus albus*).

Tabela 11 - Caracterização físico-química do extrato aquoso de tremoço branco (*Lupinus albus*).

<i>Componentes</i>	<i>Valores médios</i>
Proteínas (%)	2,45 ± 0,3
Lipídeos (%)	0,48 ± 0,06
Cinzas (%)	0,19 ± 0,03
Carboidratos (%)^a	3,98
Umidade (%)	92,9
Sólidos Solúveis (°Brix)	7,1
pH	6,66
Viscosidade^b (s)	27,96

^a Calculado por diferença.

^b Tempo em segundos.

O extrato aquoso de tremoço (*Lupinus albus*) apresentou 2,45% de proteína, 0,48% de lipídeos, 0,19% de cinzas, 3,98% de carboidratos e 92,9% de umidade.

De acordo com Jiménez-Martínez et al. (2003), o leite de *Lupinus campestris* apresentou 5,8% de proteína, 2,94% de lipídeos, 0,33% de cinzas, 0,92% de carboidratos, 0,07% de fibra e 89,0% de umidade.

O leite de soja e outras bebidas desempenham um papel fundamental para atender a demanda como substitutos para o leite bovino e humano nas áreas onde o leite bovino é caro ou para alimentar as crianças que são alérgicas ao leite animal. As bebidas de legumes geralmente contêm de 1,5 a 3,0% de proteína, e seu perfil de aminoácidos essenciais, exceto para metionina, é semelhante ao do leite de vaca (SMITH; CIRCLE apud JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al., 2003).

5.4 ANÁLISE DAS RESPOSTAS OBSERVADAS

5.4.1 ANÁLISE SENSORIAL

As médias dos resultados experimentais para os atributos “aparência”, “aroma”, “sabor” e “impressão global” dos 11 ensaios previstos no delineamento estatístico, estão apresentadas na Tabela 12.

Tabela 12 - Médias dos resultados experimentais de aceitação (“aparência”, “aroma”, “sabor” e “impressão global”) das 11 formulações de extrato aquoso de tremoço com suco de pitanga, segundo delineamento fatorial 3^2 .

Ensaio	Variáveis Independentes Codificadas		Variáveis Independentes Originais		Respostas (Teste de Aceitação)			
	X_1	X_2	Z_1	Z_2	Aparência	Aroma	Sabor	Impressão Global
			(mL)	(mL)				
1	-1	-1	50,00	10,00	4,78	4,36	4,94	4,75
2	-1	0	50,00	30,00	6,08	5,58	5,62	5,72
3	-1	1	50,00	50,00	6,18	5,83	4,95	5,27
4	0	-1	70,00	10,00	4,39	4,11	4,25	4,09
5	0	1	70,00	50,00	5,87	5,20	5,25	5,28
6	1	-1	90,00	10,00	3,62	3,73	3,81	3,65
7	1	0	90,00	30,00	5,47	5,03	5,74	5,58
8	1	1	90,00	50,00	5,88	5,64	5,80	5,80
9	0	0	70,00	30,00	5,87	5,53	5,98	5,84
10	0	0	70,00	30,00	5,84	5,53	6,03	5,81
11	0	0	70,00	30,00	5,31	4,81	5,25	5,30

Z_1 = volume do extrato aquoso de tremoço (mL); Z_2 = volume do suco de pitanga (mL).

O teste de aceitação do suco de pitanga a base de tremoço indicou, com exceção dos ensaios 4 e 6, que as notas foram acima da média (4,5) para todos os atributos de todos os ensaios avaliados, menos para o atributo “aroma” do ensaio 1.

As Figuras 7, 8, 9 e 10 apresentam as médias de aceitação dos 11 ensaios para os atributos “aparência”, “aroma”, “sabor” e “impressão global”, respectivamente.

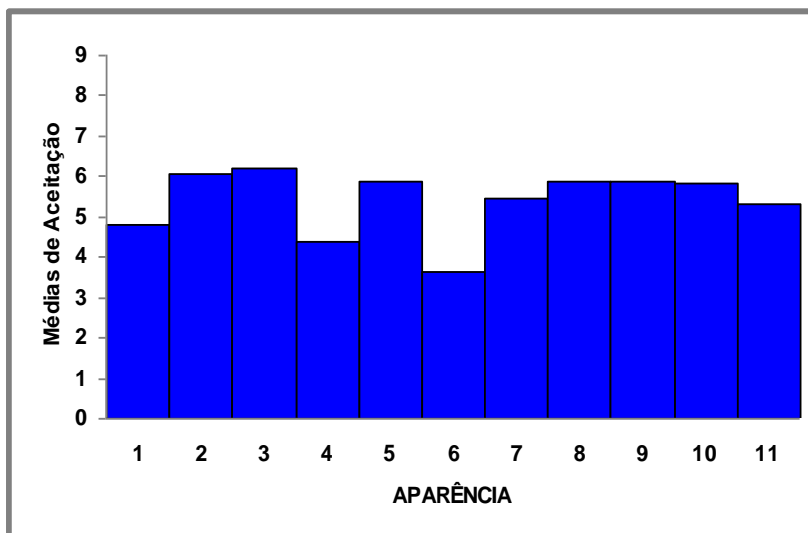


Figura 7 - Representação gráfica dos resultados de aceitação (“aparência”) das 11 formulações de suco de pitanga a base de tremeço.

n=100 julgadores (escala de 0 a 9 correspondendo de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo).

Como pode ser observado na Figura 7, apenas os ensaios 4 e 6 tiveram uma média de aceitação menor do que 4,5. Os ensaios 2 e 3, os quais apresentam concentrações elevadas de suco de pitanga, apresentaram as maiores médias de aceitação para o atributo “aparência”.

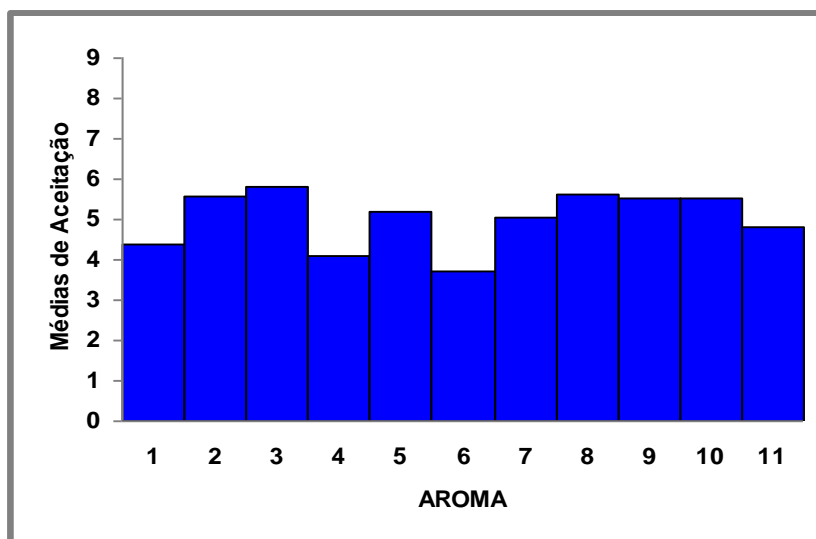


Figura 8 - Representação gráfica dos resultados de aceitação (“aroma”) das 11 formulações de suco de pitanga a base de tremeço.

n=100 julgadores (escala de 0 a 9 correspondendo de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo).

Como pode ser observado na Figura 8, apenas os ensaios 1, 4 e 6 tiveram uma média de aceitação menor do que 4,5. Os ensaios 2, 3 e 8, os quais apresentam concentrações muito maiores de suco de pitanga do que extrato aquoso de tremoço, apresentaram as maiores médias de aceitação para o atributo “aroma”.

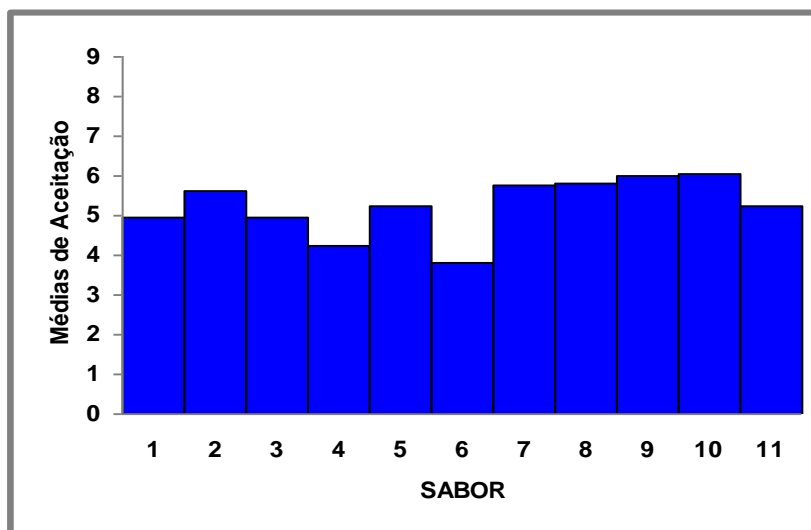


Figura 9 - Representação gráfica dos resultados de aceitação (“sabor”) das 11 formulações de suco de pitanga a base de tremoço.

n=100 julgadores (escala de 0 a 9 correspondendo de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo).

Como pode ser observado na Figura 9, apenas os ensaios 4 e 6 tiveram uma média de aceitação menor do que 4,5. Os ensaios 2, 7, 8, 9 e 10, os quais apresentam concentrações maiores de suco de pitanga do que extrato aquoso de tremoço, apresentaram as maiores médias de aceitação para o atributo “sabor”.

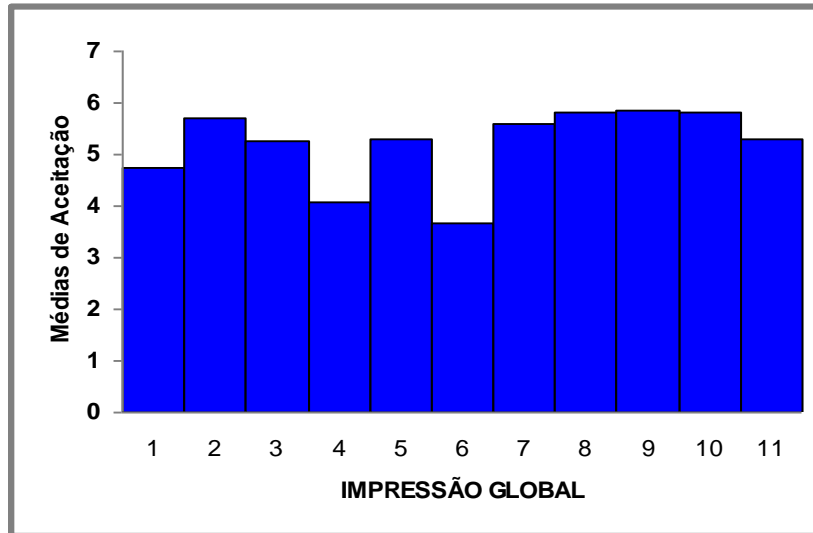


Figura 10 - Representação gráfica dos resultados de aceitação (“impressão global”) das 11 formulações de suco de pitanga a base de tremoço. n=100 julgadores (escala de 0 a 9 correspondendo de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo).

Como pode ser observado na Figura 10, apenas os ensaios 4 e 6 tiveram uma média de aceitação menor do que 4,5. Os ensaios 2, 8, 9 e 10, os quais apresentam concentrações maiores de suco de pitanga do que extrato aquoso de tremoço, apresentaram as maiores médias de aceitação para o atributo “impressão global”.

Alguns julgadores relataram que as amostras com proporções muito maiores de extrato aquoso de tremoço do que suco de pitanga (amostras 1, 4 e 6) não eram homogêneas, havia sobrenadante e separação de fases, além disso, apresentavam cor pálida/esbranquiçadas e tinham sabor fraco/aguado. Já as amostras com proporções muito maiores de suco de pitanga (amostras 3 e 5) possuíam residual amargo, eram muito ácidas, azedas e adstringentes. As amostras 2, 7, 8 e as amostras do ponto central (9, 10 e 11) apresentaram as melhores notas de aceitação para a maioria dos atributos avaliados, podendo ser consideradas boas.

Na busca por um modelo que se ajustasse adequadamente aos dados, foram realizadas as análises de variância (ANOVA), a partir dos dados experimentais obtidos. A estimativa do coeficiente de regressão da variável dependente “aparência”, como também o valor de “p” estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 - Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo matemático e valor de “p” para o atributo “aparência”.

Fatores	Coeficientes	Erro Padrão	T (5)	P
Intercepto β_0	5,697895*	0,115325*	49,49736*	0,000000*
(1) X_1 (L)	-0,345000*	0,091778*	-3,75907*	0,013170*
X_1 (Q)	0,040263	0,141243	0,28506	0,787027
(2) X_2 (L)	0,856667*	0,091778*	9,33411*	0,000238*
X_2 (Q)	-0,604737*	0,141243*	-0,428152*	0,007852*
1L x 2L	0,215000	0,112405	1,91273	-0,073946

* Significativo a $p < 0,05$;

Coeficiente de determinação (R^2) = 0,96125;

Falta de ajuste (p) = 0,900583.

Na Tabela 13, os termos lineares estão associados à letra L e os termos quadráticos com a letra Q.

Com base nesses resultados foi possível estabelecer a equação de regressão 3, ajustada para o atributo sensorial “aparência”.

$$Y_1 = 5,69 - 0,345 x_1 + 0,8567 x_2 + 0,04 x_1^2 - 0,6047 x_2^2 + 0,215 x_1 x_2$$

.....(3)

O valor do coeficiente total de determinação (R^2) observado para o atributo “aparência” foi de 96% e a falta de ajuste foi não significativa ao nível de 5%, o que sugere um bom ajuste do modelo para a resposta em questão.

A região de combinação binária entre as variáveis “volume do extrato aquoso de tremoço (mL)”, X_1 e “volume do suco de pitanga (mL)”, X_2 , pode ser observada por meio da superfície de resposta e das curvas de contorno apresentadas na Figura 11 e 12 para a variável dependente “aparência”.

Nota-se que tanto a variável “volume do extrato aquoso de tremoço” quanto a variável “volume do suco de pitanga” encontram-se dentro da região experimental estabelecida, mais precisamente entre 50 mL e 55 mL para a variável “volume do extrato aquoso de tremoço” e 30 mL e 50 mL para a variável “volume do suco de pitanga”.

Essas observações podem ser comprovadas pela Figura 13, onde é apresentada a otimização através do software Statistica (2006).

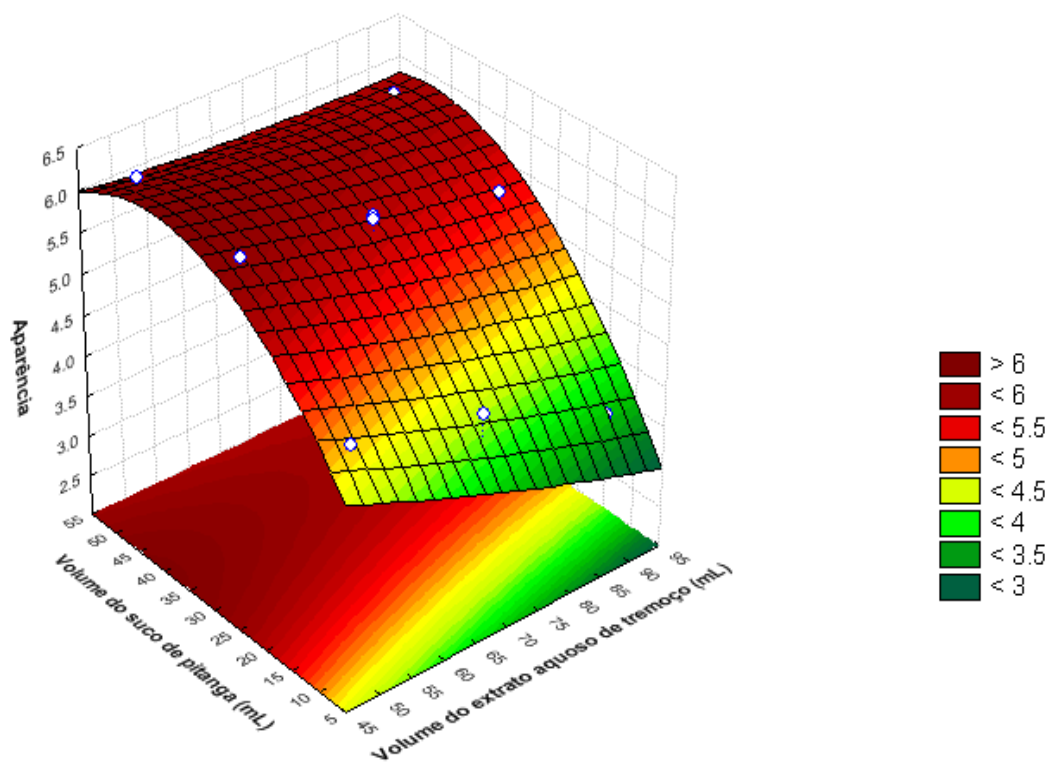


Figura 11 - Superfície de Resposta para o atributo “aparência”.

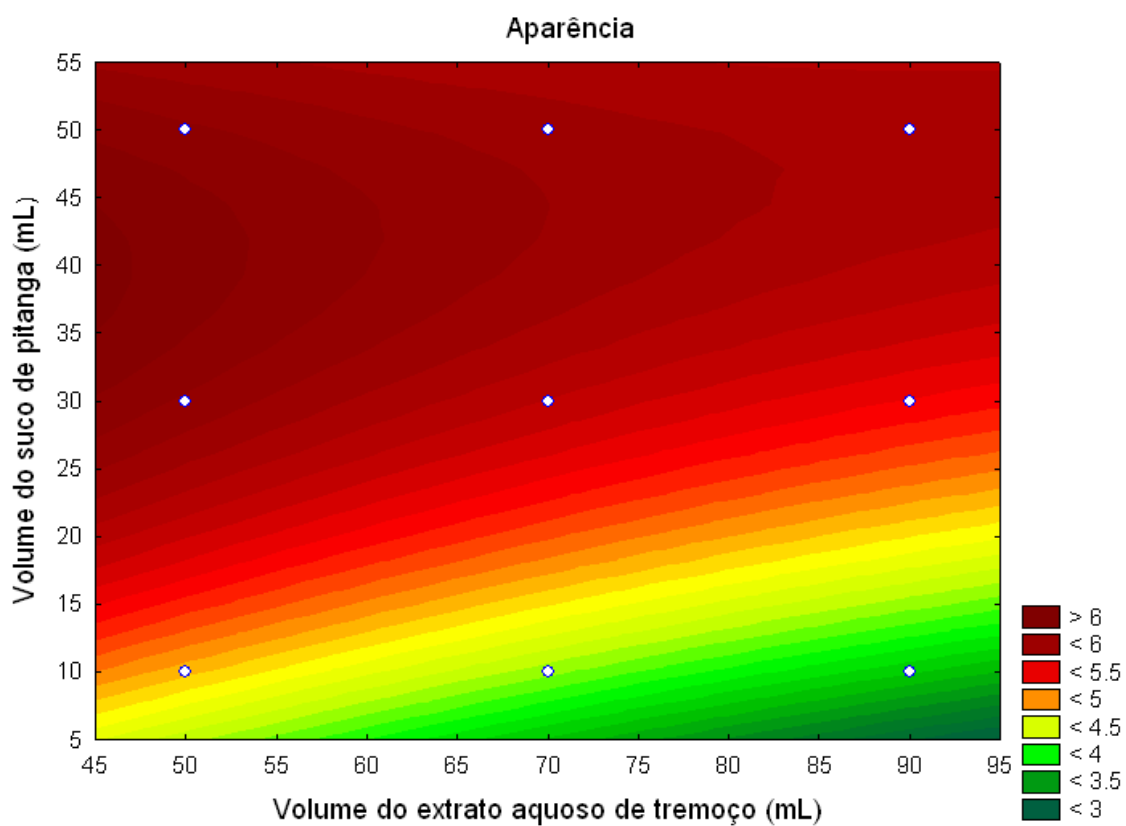


Figura 12 - Curvas de contorno para a resposta “aparência”.

Com base nas Figuras 11 e 12, observa-se que a região ótima para o atributo “aparência” situa-se próxima ao ponto mínimo para a variável “volume do extrato aquoso de tremoço” (50 mL) e entre o ponto central e valor máximo para a variável “volume do suco de pitanga” (30 mL e 50 mL).

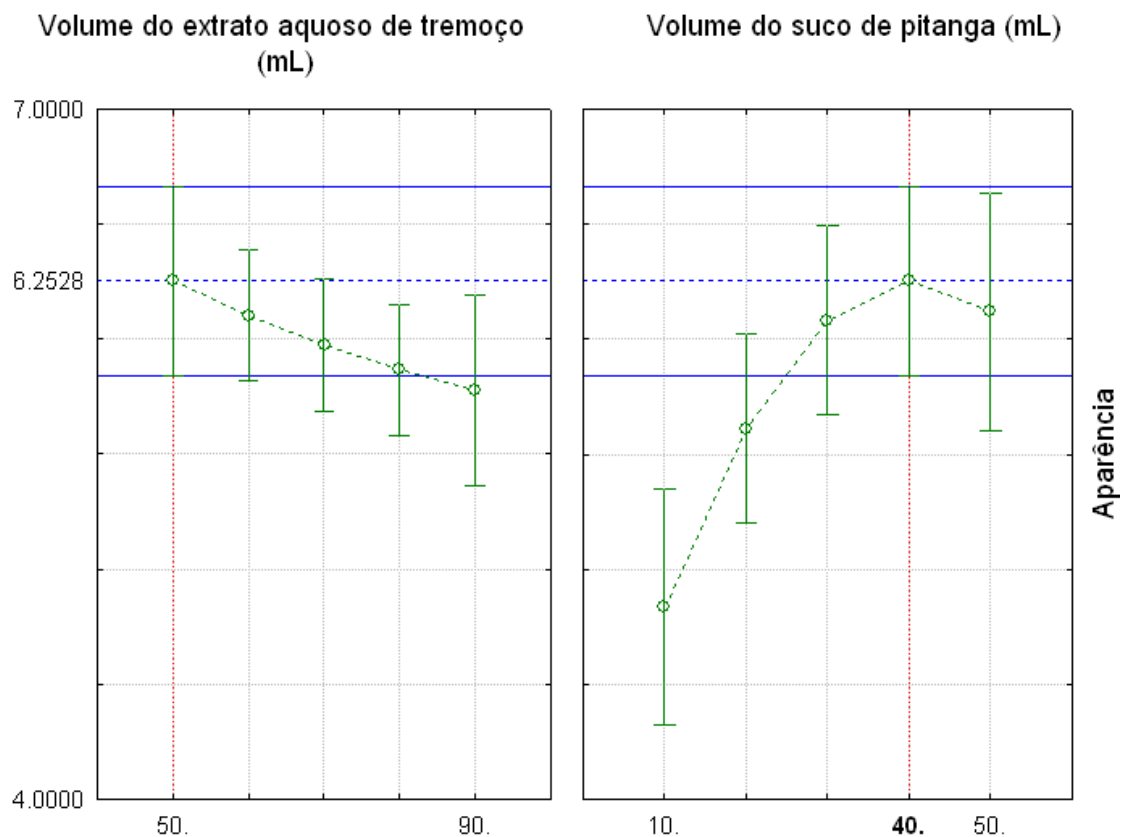


Figura 13 - Otimização da resposta “aparência” utilizando o software Statistica (2006).

É possível observar na Figura 13 exatamente os pontos 50 mL para a variável “volume do extrato aquoso de tremoço” e 40 mL para a variável “volume do suco de pitanga” como ótimos e fornecendo como resposta estimada o valor aproximado de 6,25 para o atributo “aparência”.

A estimativa do coeficiente de regressão da variável dependente “aroma”, como também o valor de “p” estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo matemático e valor de “p” para o atributo “aroma”.

Fatores	Coeficientes	Erro Padrão	t (5)	P
Intercepto β_0	5,243684*	0,162659*	32,23726*	0,000001*
(1) X_1 (L)	-0,228333	0,129448	-1,76390	0,138027
X_1 (Q)	0,130789	0,199216	0,65652	0,540497
(2) X_2 (L)	0,745000*	0,129448*	5,75522*	0,002223*
X_2 (Q)	-0,519211*	0,199216*	-2,60627*	0,047885*
1L x 2L	0,110000	0,158540	0,69383	0,518697

* Significativo a $p < 0,05$;

Coeficiente de determinação (R^2) = 0,89693;

Falta de ajuste (p) = 0,825295.

Com base nesses resultados foi possível estabelecer a equação de regressão 4, ajustada para o atributo sensorial “aroma”.

$$Y_1 = 5,24 - 0,228 x_1 + 0,7450 x_2 + 0,13 x_1^2 - 0,5192 x_2^2 + 0,110 x_1 x_2 \dots\dots\dots(4)$$

O valor do coeficiente total de determinação (R^2) observado para o atributo “aparência” foi de 90% e a falta de ajuste foi não significativa ao nível de 5%, o que sugere um bom ajuste do modelo para a resposta em questão.

A região de combinação binária entre as variáveis “extrato de tremoço (mL)”, X_1 e “suco de pitanga (mL)”, X_2 , pode ser observada por meio da superfície de resposta e das curvas de contorno apresentadas na Figura 14 e 15 para a variável dependente “aroma”.

Nota-se que tanto a variável “volume do extrato aquoso de tremoço” quanto a variável “volume do suco de pitanga” encontram-se dentro da região experimental estabelecida, mais precisamente entre 50 mL e 55 mL para a variável “volume do extrato aquoso de tremoço” e 30 mL e 50 mL para a variável “volume do suco de pitanga”.

Essas observações podem ser comprovadas pela Figura 16, onde é apresentada a otimização através do software Statistica (2006).

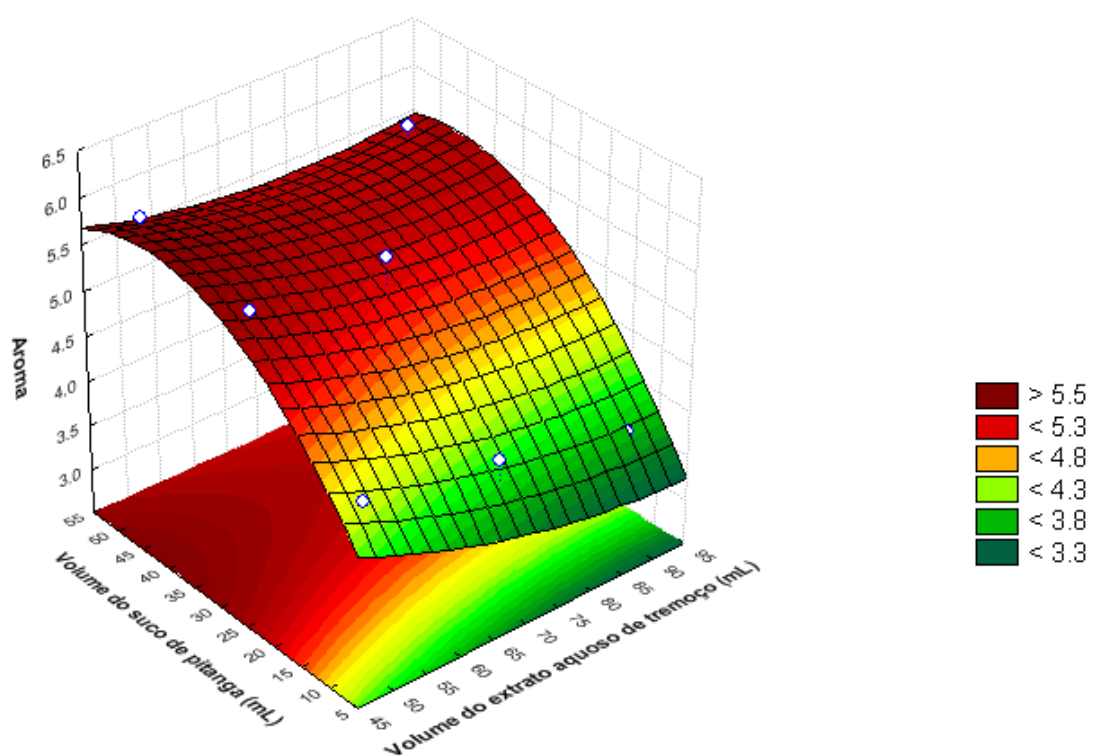


Figura 14 - Superfície de Resposta para o atributo “aroma”.

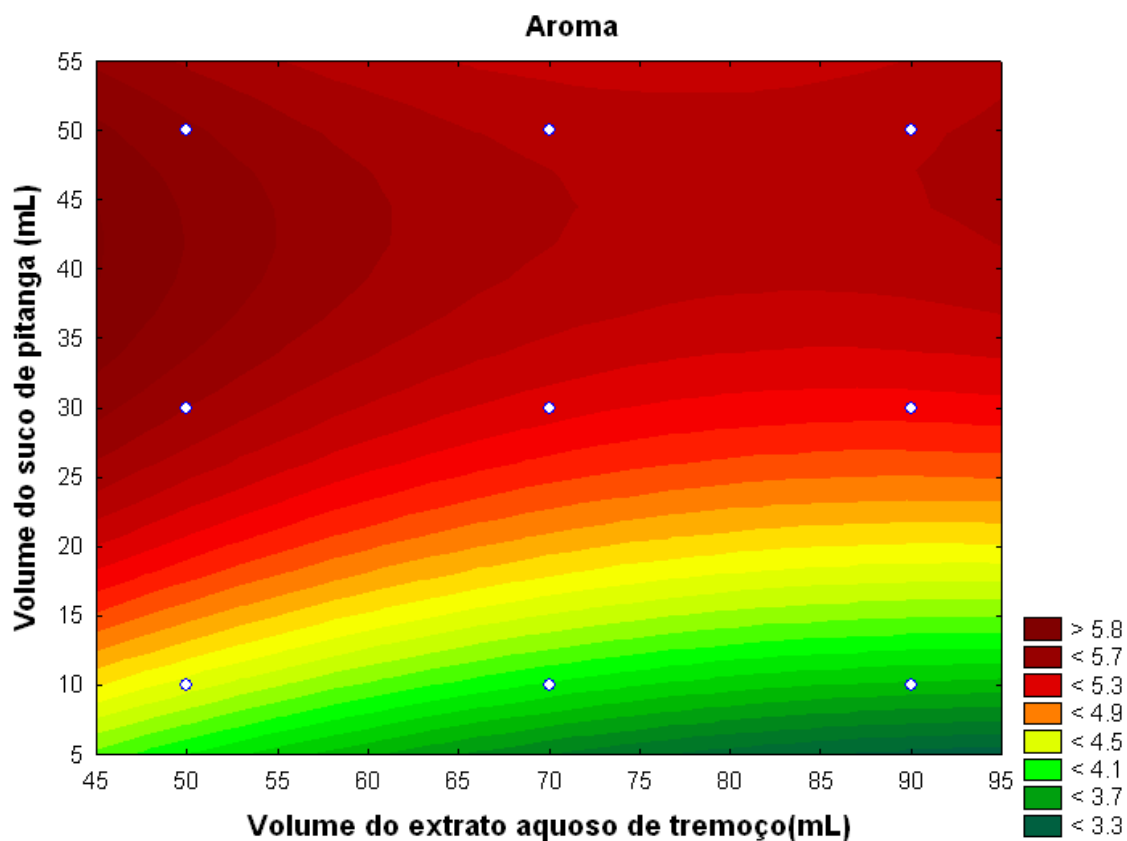


Figura 15 - Curvas de contorno para a resposta “aroma”.

Observa-se pelas Figuras 14 e 15, que a região ótima para o atributo “aroma”, assim como para o atributo “aparência”, situa-se próxima ao ponto mínimo para a variável “volume do extrato aquoso de tremoço” (50 mL) e entre o ponto central e valor máximo para a variável “volume do suco de pitanga” (30 mL e 50 mL).

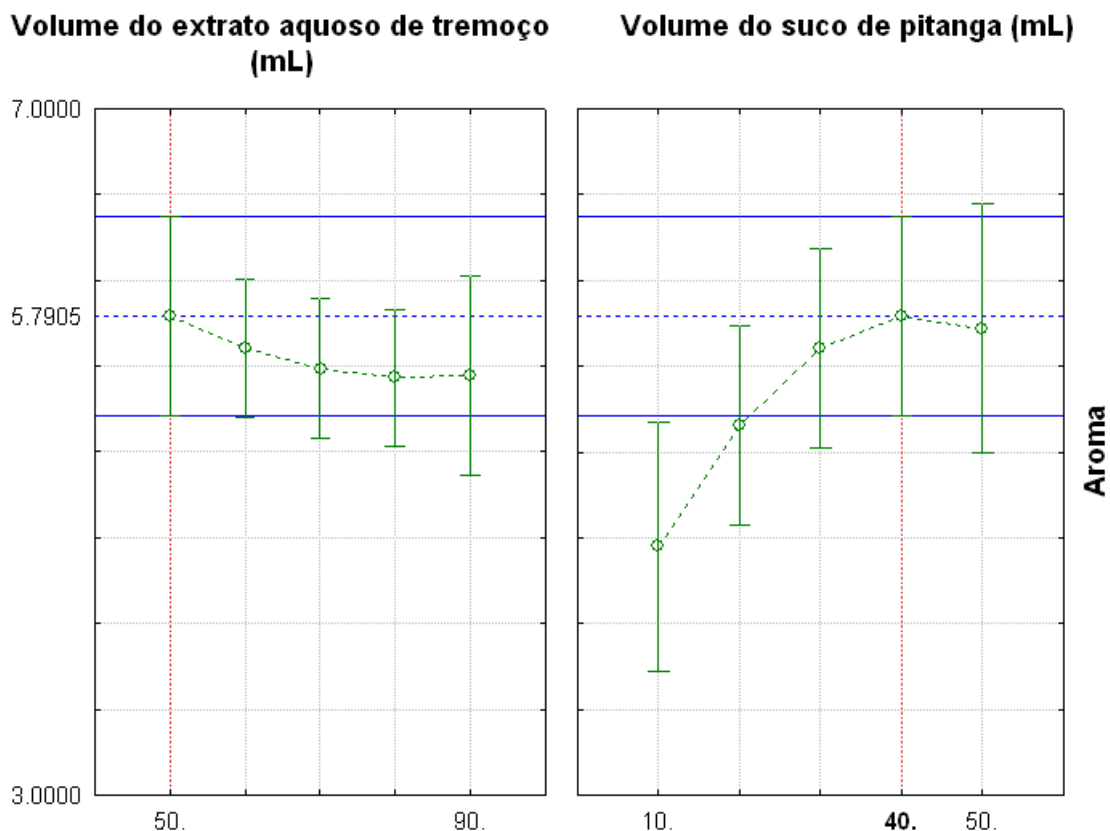


Figura 16 - Otimização da resposta “aroma” utilizando o software Statistica (2006).

É possível observar na Figura 16 exatamente os pontos 50 mL para a variável “volume do extrato aquoso de tremoço” e 40 mL para a variável “volume do suco de pitanga” como ótimos e fornecendo como resposta estimada o valor aproximado de 5,79 para o atributo “aroma”.

A estimativa do coeficiente de regressão da variável dependente “sabor”, como também o valor de “p” estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 - Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo matemático e valor de “p” para o atributo “sabor”.

Fatores	Coeficientes	Erro Padrão	t (5)	P
Intercepto β_0	5,711579*	0,150201*	38,02635*	0,000000*
(1) X_1 (L)	-0,026667	0,119533	-0,22309	0,832293
X_1 (Q)	0,031053	0,183957	0,16880	0,872568
(2) X_2 (L)	0,500000*	0,119533*	4,18295*	0,008630*
X_2 (Q)	-0,898947*	0,183957*	-4,88672*	0,004526*
1L x 2L	0,495000*	0,146397*	3,38121*	0,019648*

* Significativo a $p < 0,05$;

Coeficiente de determinação (R^2) = 0,9156;

Falta de ajuste (p) = 0,963254.

Com base nesses resultados foi possível estabelecer a equação de regressão 5, ajustada para o atributo sensorial “sabor”.

$$Y_1 = 5,71 - 0,027 x_1 + 0,5000 x_2 + 0,03 x_1^2 - 0,8989 x_2^2 + 0,495 x_1 x_2 \dots\dots\dots(5)$$

O valor do coeficiente total de determinação (R^2) observado para o atributo “aparência” foi de 91% e a falta de ajuste foi não significativa ao nível de 5%, o que sugere um bom ajuste do modelo para a resposta em questão.

A região de combinação binária entre as variáveis “extrato de tremoço (mL)”, X_1 e “suco de pitanga (mL)”, X_2 , pode ser observada por meio da superfície de resposta e das curvas de contorno apresentadas na Figura 17 e 18 para a variável dependente “sabor”.

Nota-se que tanto a variável “volume do extrato aquoso de tremoço” quanto a variável “volume do suco de pitanga” encontram-se dentro da região experimental estabelecida, mais precisamente entre 85 mL e 90 mL para a variável “volume do extrato aquoso de tremoço” e 30 mL e 50 mL para a variável “volume do suco de pitanga”.

Essas observações podem ser comprovadas pela Figura 19, onde é apresentada a otimização através do software Statistica (2006).

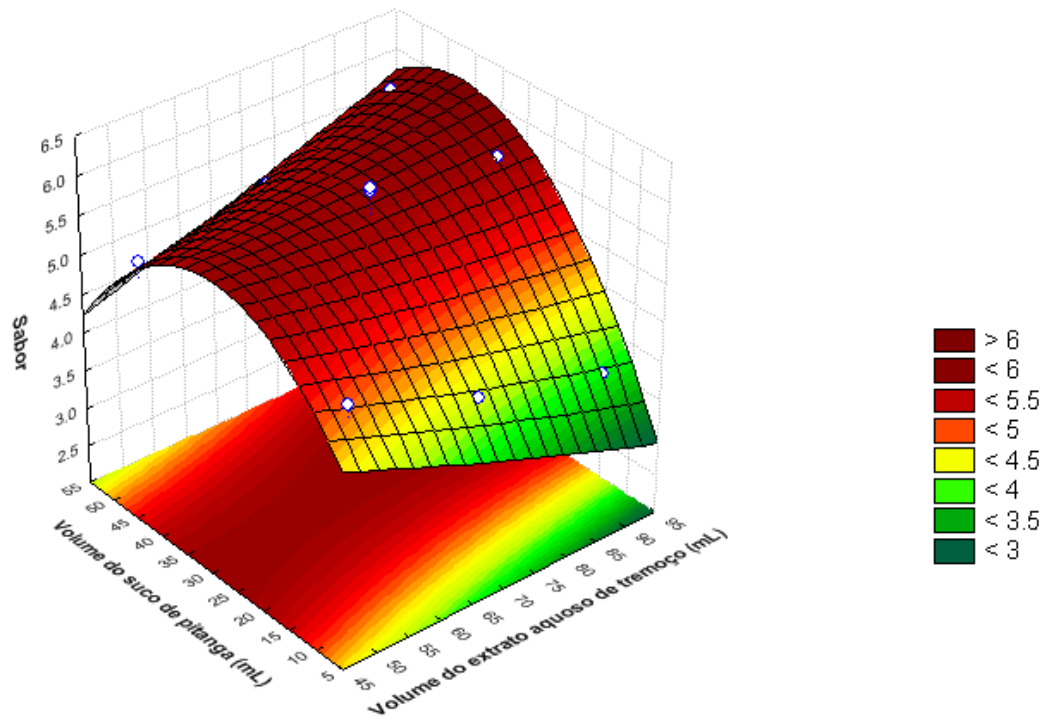


Figura 17 - Superfície de Resposta para o atributo “sabor”.

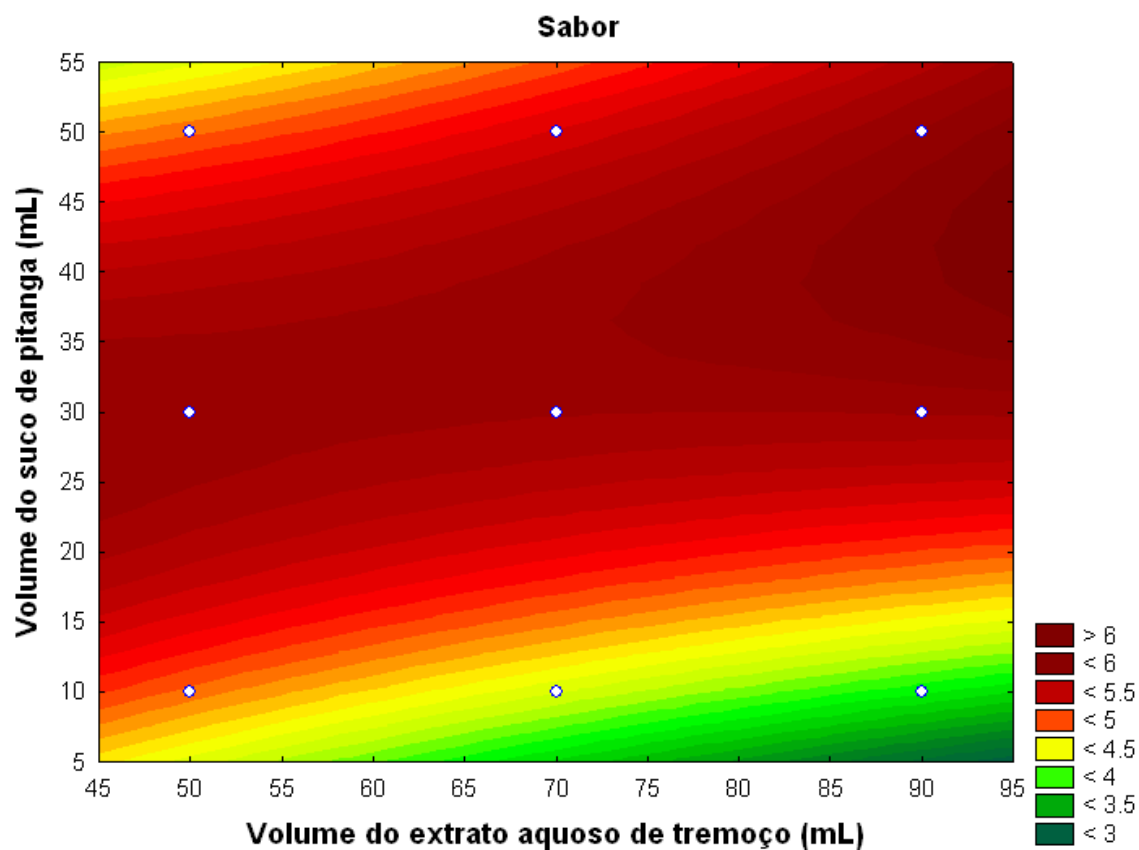


Figura 18 - Curvas de contorno para a resposta “sabor”.

Com base nas figuras 17 e 18, observa-se que a região ótima para o atributo “sabor” situa-se próxima ao ponto máximo para a variável “volume do extrato aquoso de tremoço” (90 mL) e entre o ponto central e valor máximo para a variável “volume do suco de pitanga” (30 mL e 50 mL).

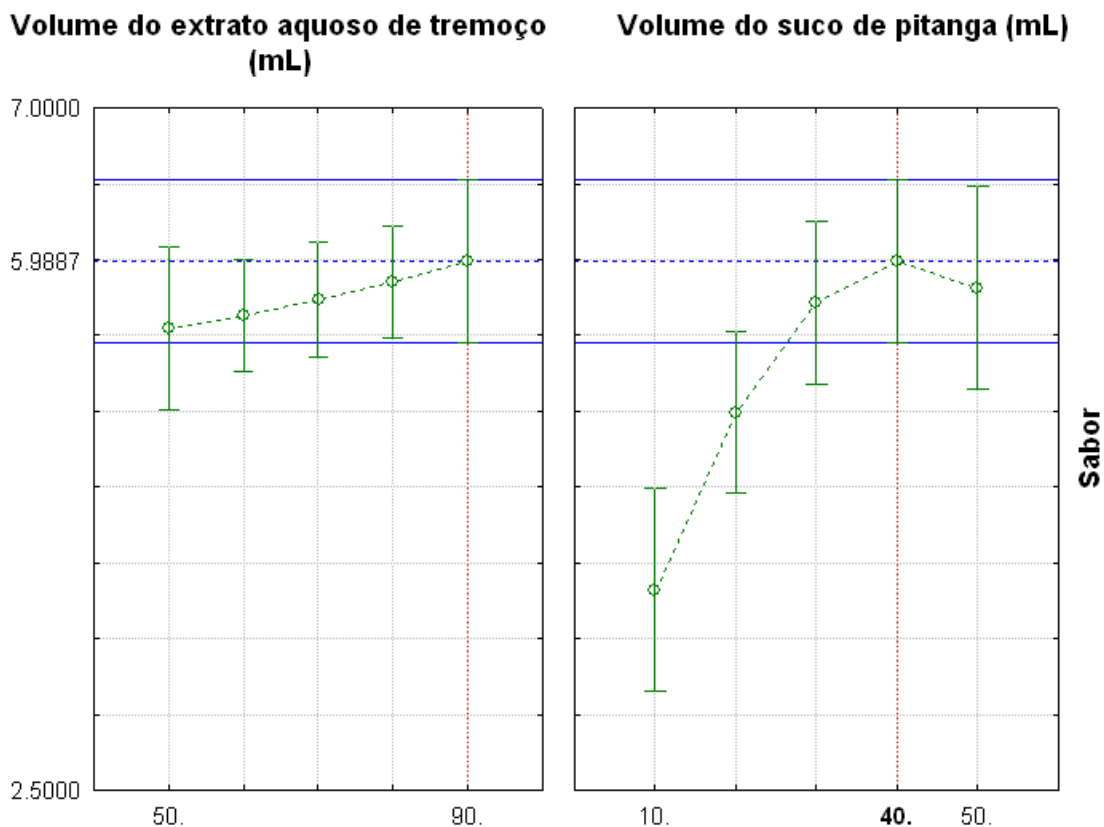


Figura 19 - Otimização da resposta “sabor” utilizando o software Statistica (2006).

É possível observar na Figura 19 exatamente os pontos 90 mL para a variável “volume do extrato aquoso de tremoço” e 40 mL para a variável “volume do suco de pitanga” como ótimos e fornecendo como resposta estimada o valor aproximado de 5,99 para o atributo “sabor”.

A estimativa do coeficiente de regressão da variável dependente “impressão global”, como também o valor de “p” estão apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 - Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo matemático e valor de “p” para o atributo “impressão global”.

Fatores	Coeficientes	Erro Padrão	t (5)	P
Intercepto β_0	5,611579*	0,107422*	52,23840*	0,000000*
(1) X_1 (L)	-0,118333	0,085489	-1,38419	0,224897
X_1 (Q)	0,096953	0,131565	0,73008	0,498098
(2) X_2 (L)	0,643333*	0,085489*	7,52532*	0,000656*
X_2 (Q)	-0,868947*	0,131565*	-6,60469*	0,001196*
1L x 2L	0,407500*	0,104702*	3,89198*	0,011502*

* Significativo a $p < 0,05$;

Coeficiente de determinação (R^2) = 0,9595;

Falta de ajuste (p) = 0,936077.

Com base nesses resultados foi possível estabelecer a equação de regressão 6, ajustada para o atributo sensorial “impressão global”.

$$Y_1 = 5,61 - 0,118 x_1 + 0,6433 x_2 + 0,10 x_1^2 - 0,8689 x_2^2 + 0,487 x_1 x_2$$

.....(6)

O valor do coeficiente total de determinação (R^2) observado para o atributo “aparência” foi de 96% e a falta de ajuste foi não significativa ao nível de 5%, o que sugere um bom ajuste do modelo para a resposta em questão.

A região de combinação binária entre as variáveis “extrato de tremoço (mL)”, X_1 e “suco de pitanga (mL)”, X_2 , pode ser observada por meio da superfície de resposta e das curvas de contorno apresentadas na Figura 20 e 21 para a variável dependente “aroma”.

Nota-se que tanto a variável “volume do extrato aquoso de tremoço” quanto a variável “volume do suco de pitanga” encontram-se dentro da região experimental estabelecida, mais precisamente entre 85 mL e 90 mL para a variável “volume do extrato aquoso de tremoço” e 30 mL e 50 mL para a variável “volume do suco de pitanga”.

Essas observações podem ser comprovadas pela Figura 22, onde é apresentada a otimização através do software Statistica (2006).

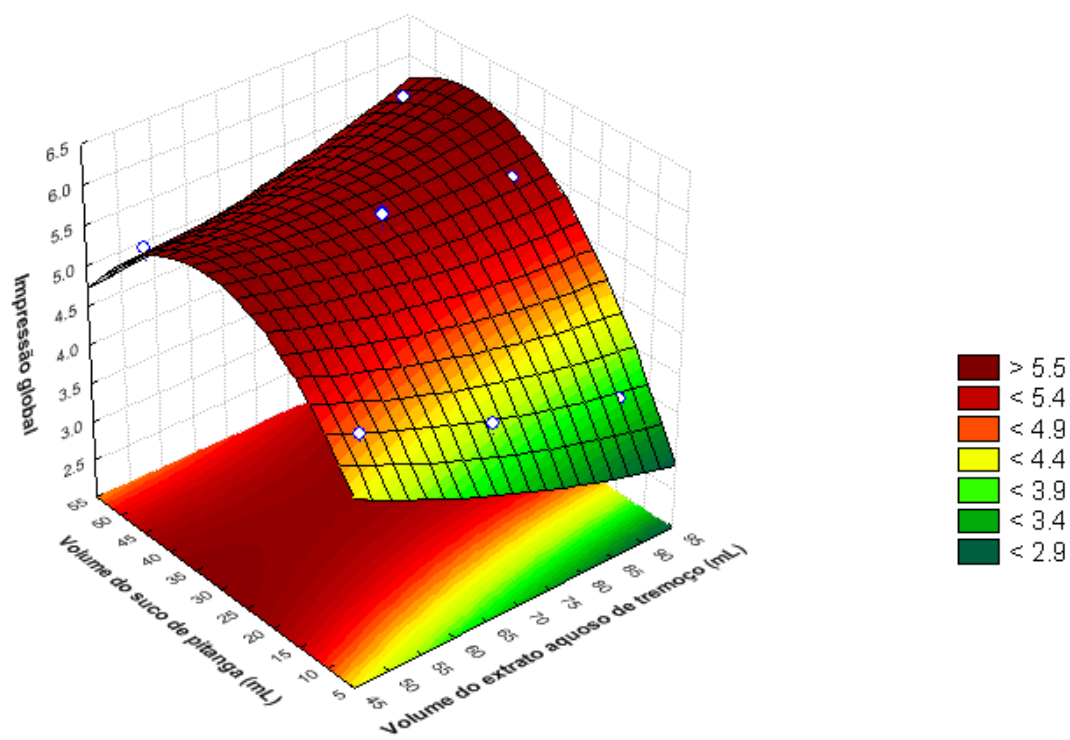


Figura 20 - Superfície de Resposta para o atributo “impressão global”.

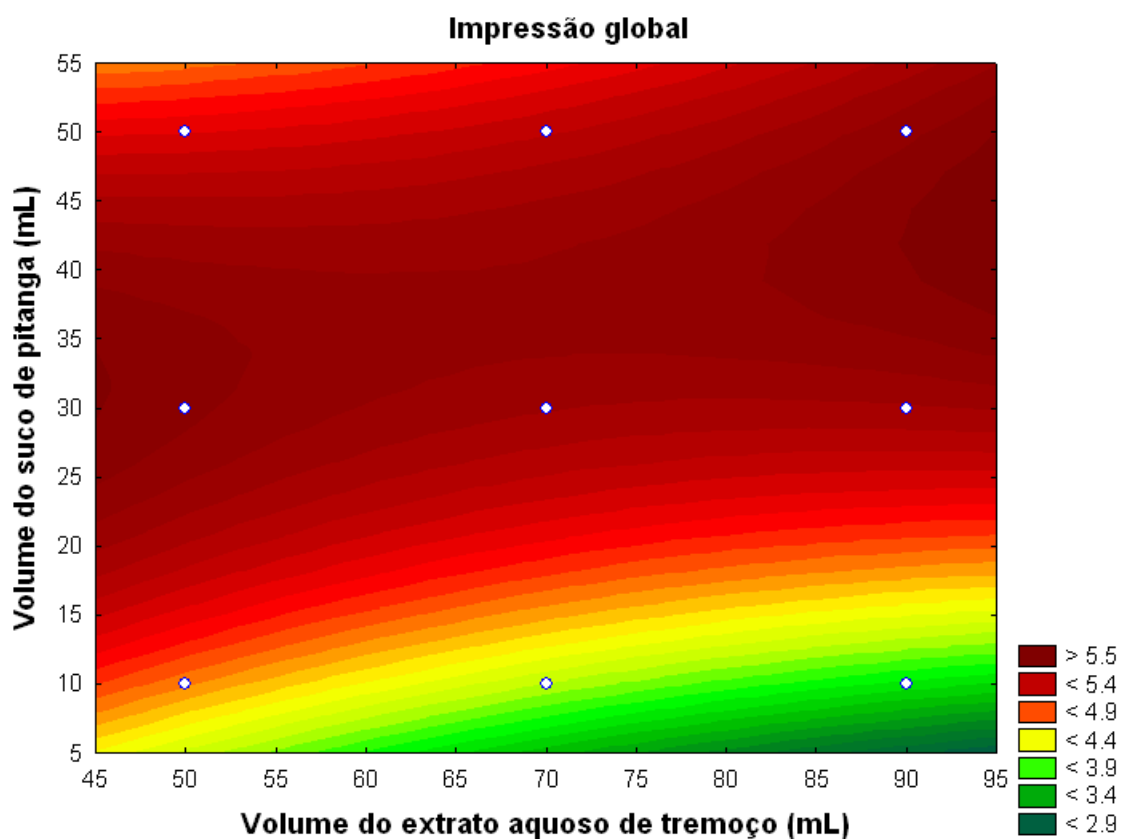


Figura 21 - Curvas de contorno para a resposta “impressão global”.

Observa-se, pelas Figuras 20 e 21, que a região ótima para o atributo “impressão global” situa-se próxima ao ponto máximo para a variável “volume do extrato aquoso de tremoço” (90 mL) e entre o ponto central e valor máximo para a variável “volume do suco de pitanga” (30 mL e 50 mL).

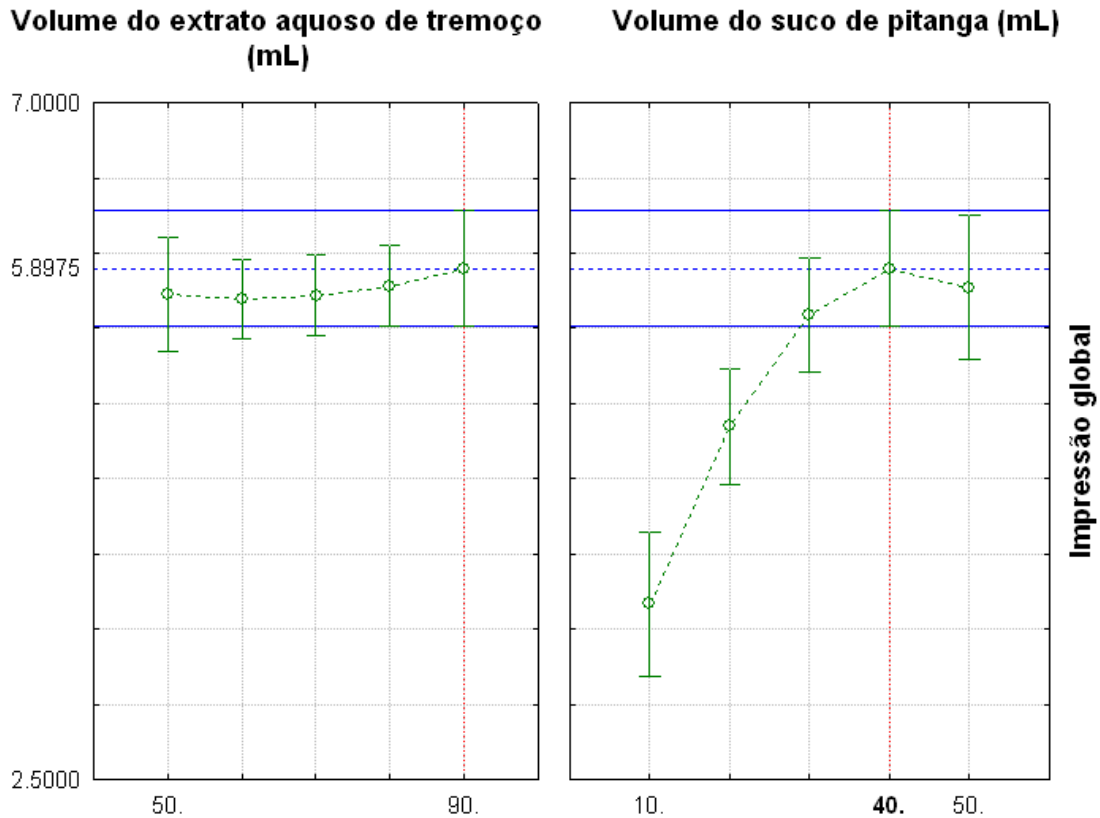


Figura 22 - Otimização da resposta “impressão global” utilizando o software Statistica (2006).

É possível observar na Figura 22 exatamente os pontos 90 mL para a variável “volume do extrato aquoso de tremoço” e 40 mL para a variável “volume do suco de pitanga” como ótimos e fornecendo como resposta estimada o valor aproximado de 5,89 para o atributo “impressão global”.

De acordo com as estimativas dos coeficientes de regressão apresentados nas Tabelas 13, 14, 15 e 16, a resposta sensorial para a “aparência” foi influenciada pelo efeito linear da variável “extrato aquoso de tremoço” e pelo efeito linear e quadrático da variável “suco de pitanga”, com intercepto significativo, o que demonstra que o ponto central foi escolhido adequadamente. As respostas sensoriais para o “aroma”, o “sabor” e a “impressão global” foram influenciadas pelo efeito linear e quadrático da variável “suco de pitanga”, com intercepto significativo, o que demonstra que o ponto central foi escolhido adequadamente.

5.4.2 OTIMIZAÇÃO CONJUNTA DAS VARIÁVEIS DEPENDENTES “APARÊNCIA”, “AROMA”, “SABOR” E “IMPRESSÃO GLOBAL”.

Os resultados da otimização conjunta das variáveis dependentes “aparência”, “aroma”, “sabor” e “impressão global” estão apresentados na Figura 23.

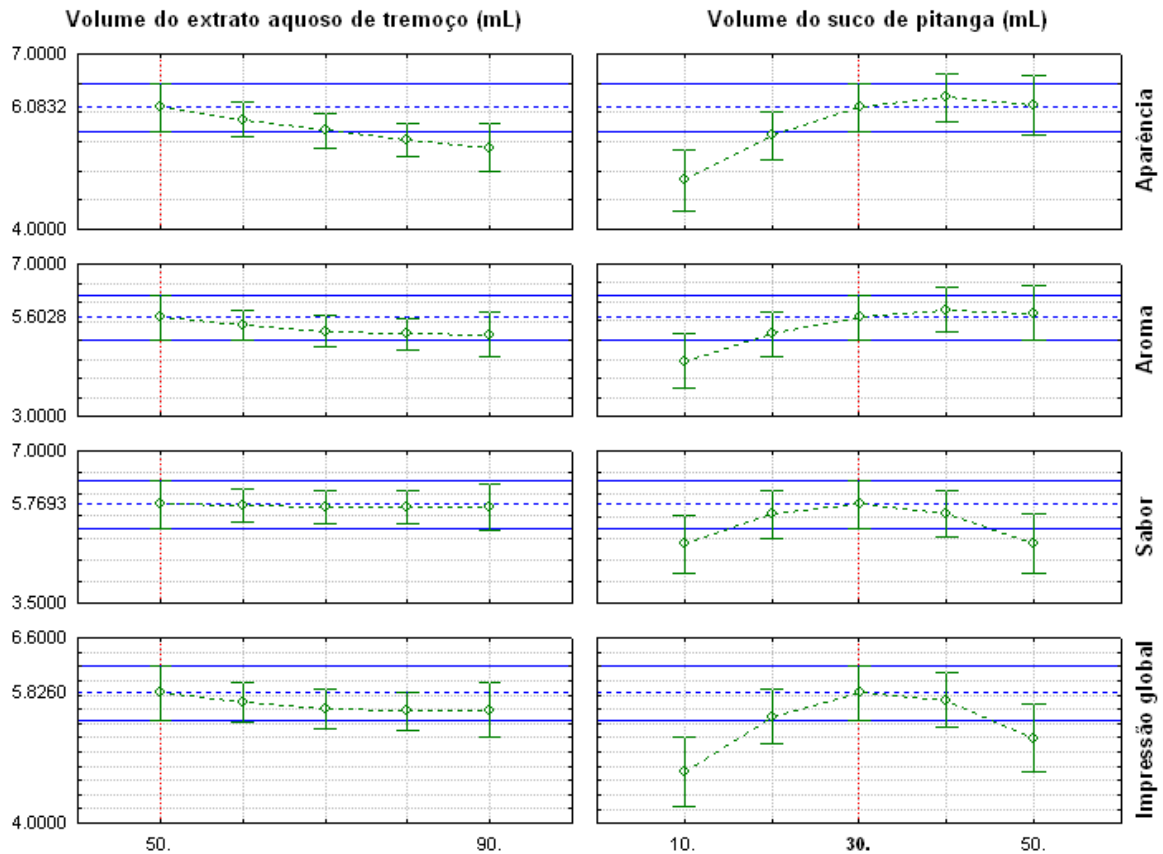


Figura 23 - Otimização conjunta das respostas “aparência”, “aroma”, “sabor” e “impressão global” utilizando o software Statistica (2006).

É possível observar na Figura 23 a indicação, através da otimização conjunta das variáveis dependentes avaliadas, os pontos 50 mL para a variável “volume do extrato aquoso de tremoço” e 30 mL para a variável “volume do suco de pitanga”, como valores ótimos, fornecendo como resposta estimada o valor aproximado de 6,08 para o atributo “aparência”, 5,60 para o “aroma”, 5,77 para o “sabor” e 5,83 para a “impressão global”.

Apesar de a otimização ter demonstrado que o ensaio 2 foi o que apresentou os melhores resultados sensoriais, é relevante ressaltar que o ensaio 9 (ponto

central), contendo 70 mL de extrato aquoso de tremoço e 30 mL de suco de pitanga apresentou valores de aceitação sensorial que não diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) aos do ensaio 2, contrariando a indicação da MSR de que o extrato aquoso de tremoço deveria ser utilizado em concentrações próximas ao limite inferior da região experimental.

5.5 VALIDAÇÃO DO PRODUTO OTIMIZADO

5.5.1 ANÁLISE SENSORIAL

O ensaio 2, apontado pela metodologia de superfície de resposta como sendo a formulação otimizada pelo modelo matemático foi submetido novamente à análise sensorial, com a finalidade de validar o modelo, comparando-se os resultados experimentais com os valores estimados. O mesmo procedimento foi realizado com o ensaio 9 (ponto central) devido ao fato de ter apresentado resultados de aceitação semelhantes ao ensaio 2 (Figura 24).

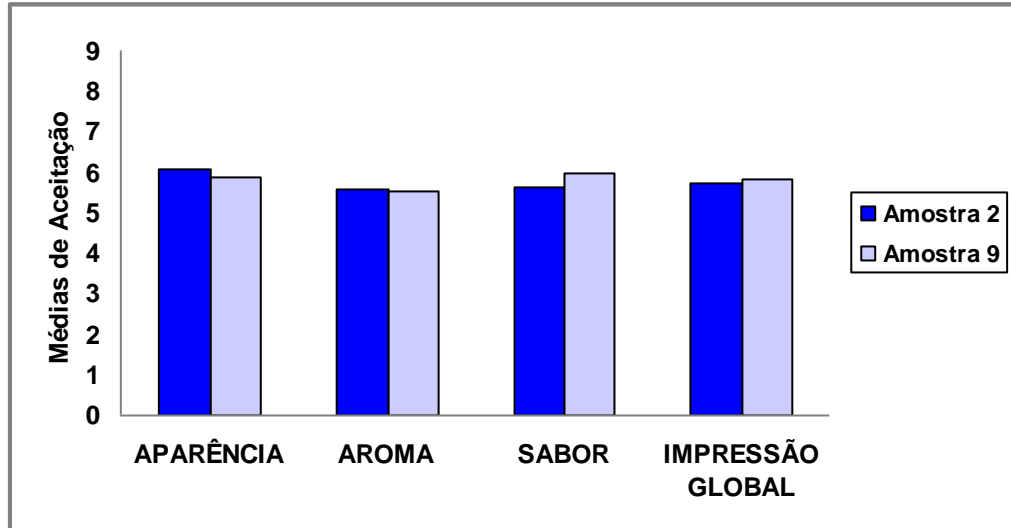


Figura 24 - Representação gráfica dos resultados de aceitação (aparência, aroma, sabor e impressão global) da formulação 2 e 9 de suco de pitanga a base de tremoço.

n=100 julgadores (escala de 0 a 9 correspondendo de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo).

A validação da formulação otimizada apresentou valores para os atributos sensoriais (Tabelas 17, 18, 19 e 20), semelhantes ao previsto pelo modelo matemático para todos os atributos avaliados, o que permite assumi-los como valor de otimização global para ambas as respostas.

Tabela 17 - Médias de aceitação da resposta “aparência” para os ensaios 2 e 9 (iniciais e da validação).

Produtos	Médias de Aceitação Iniciais	Médias de Aceitação da Validação
Formulação 2	6,08 ^a	6,14 ^a
Formulação 9	5,87 ^a	5,53 ^a

Médias com letras em comum na mesma linha e coluna não diferem entre si ($p < 0,05$), $n = 100$ julgadores, escala de 0 – 9 correspondendo de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo.

Tabela 18- Médias de aceitação da resposta “aroma” para os ensaios 2 e 9 (iniciais e da validação).

Produtos	Médias de Aceitação Iniciais	Médias de Aceitação da Validação
Formulação 2	5,58 ^a	5,75 ^a
Formulação 9	5,53 ^a	5,44 ^a

Médias com letras em comum na mesma linha e coluna não diferem entre si ($p < 0,05$), $n = 100$ julgadores, escala de 0 – 9 correspondendo de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo.

Tabela 19 - Médias de aceitação da resposta “sabor” para os ensaios 2 e 9 (iniciais e da validação).

Produtos	Médias de Aceitação Iniciais	Médias de Aceitação da Validação
Formulação 2	5,62 ^a	5,61 ^a
Formulação 9	5,98 ^a	5,68 ^a

Médias com letras em comum na mesma linha e coluna não diferem entre si ($p < 0,05$), $n = 100$ julgadores, escala de 0 – 9 correspondendo de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo.

Tabela 20 - Médias de aceitação da resposta “impressão global” para os ensaios 2 e 9 (iniciais e da validação).

Produtos	Médias de Aceitação Iniciais	Médias de Aceitação da Validação
Formulação 2	5,72 ^a	5,70 ^a
Formulação 9	5,84 ^a	5,46 ^a

Médias com letras em comum na mesma linha e coluna não diferem entre si ($p < 0,05$), $n = 100$ julgadores, escala de 0 – 9 correspondendo de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo.

A validação do produto otimizado é confirmada através do cálculo da diferença entre a resposta experimental e a resposta predita pelo modelo (RODRIGUES; IEMMA, 2005).

As Tabelas 21, 22, 23 e 24 apresentam os valores experimentais, os previstos pelo modelo, os desvios e os desvios relativos para cada resposta do ensaio 2.

Tabela 21 - Valores médios de aceitação para a resposta “aparência” experimental e prevista pelo modelo e desvios.

Validação	Produto Otimizado
“Aparência” Experimental	6,14
“Aparência” Prevista	6,08
Desvio	0,06
Desvio Relativo (%)	0,98

Pode-se observar, pela Tabela 21, que os desvios foram baixos na região desejada para a resposta “aparência”. O valor médio 6,14 para a resposta “aparência” está dentro do intervalo de confiança, calculado em nível de 95%.

Tabela 22 - Valores médios de aceitação para a resposta “aroma” experimental e prevista pelo modelo e desvios.

Validação	Produto Otimizado
“Aroma” Experimental	5,75
“Aroma” Previsto	5,60
Desvio	0,15
Desvio Relativo (%)	2,61

Pode-se observar, pela Tabela 22, que os desvios foram baixos na região desejada para a resposta “aparência”. O valor médio 5,75 para a resposta “aroma” está dentro do intervalo de confiança, calculado em nível de 95%.

Tabela 23 - Valores médios de aceitação para a resposta “sabor” experimental e prevista pelo modelo e desvios.

Validação	Produto Otimizado
“Sabor” Experimental	5,61
“Sabor” Previsto	5,77
Desvio	- 0,16
Desvio Relativo (%)	- 2,85

Pode-se observar, pela Tabela 23, que os desvios foram baixos na região desejada para a resposta “aparência”. O valor médio 5,61 para a resposta “sabor” está dentro do intervalo de confiança, calculado em nível de 95%.

Tabela 24 - Valores médios de aceitação para a resposta “impressão global” experimental e prevista pelo modelo e desvios.

Validação	Produto Otimizado
“Impressão Global” Experimental	5,70
“Impressão Global” Prevista	5,83
Desvio	- 0,13
Desvio Relativo (%)	- 2,28

Pode-se observar, pela Tabela 24, que os desvios foram baixos na região desejada para a resposta “aparência”. O valor médio 5,70 para a resposta “impressão global” está dentro do intervalo de confiança, calculado em nível de 95%.

Simultaneamente ao teste de aceitação, foi avaliada a atitude de compra dos julgadores, cujos resultados são apresentados na Figura 25.

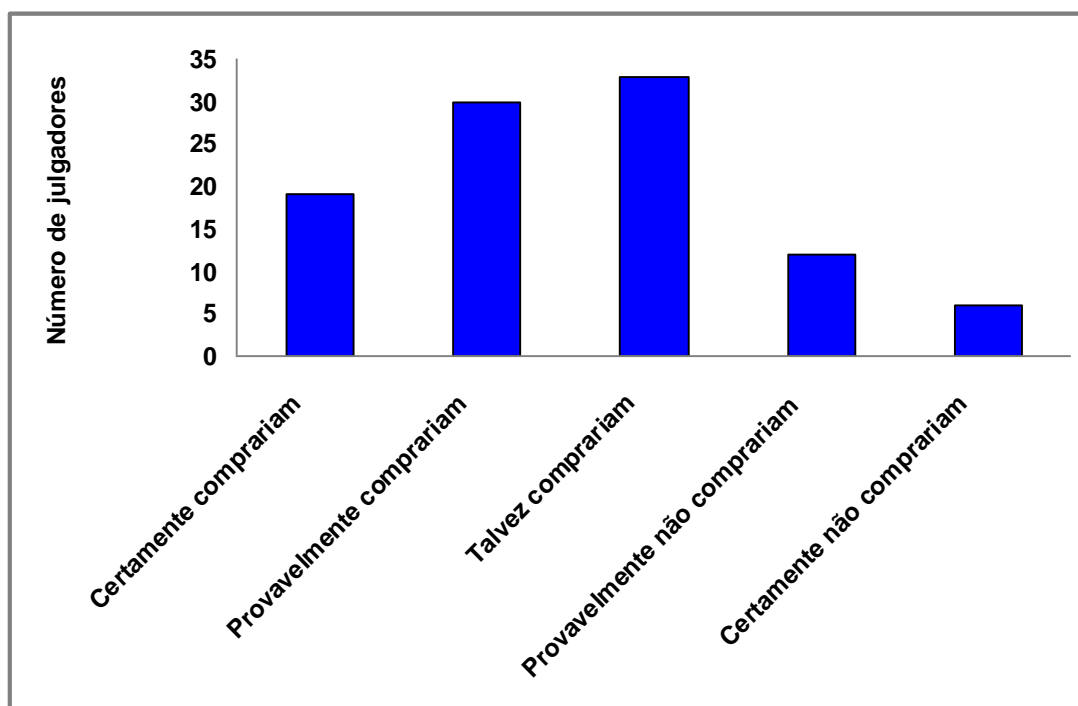


Figura 25 - Representação gráfica da atitude de compra do produto otimizado.
n=100 julgadores.

Pode-se observar que praticamente metade dos julgadores certamente ou provavelmente compraria o produto (19% certamente comprariam o produto e 30% provavelmente comprariam o produto), indicando, portanto, uma boa aceitação do produto pelos julgadores. Apenas 6% dos julgadores certamente não comprariam o produto, 12% provavelmente não comprariam o produto e 33% dos julgadores têm dúvidas se comprariam ou não o produto.

Os julgadores também avaliaram o hábito de consumo de tremoço e de pitanga (fruta, suco, sorvete, etc.), cujos resultados são apresentados na Figura 26. e na Figura 27.

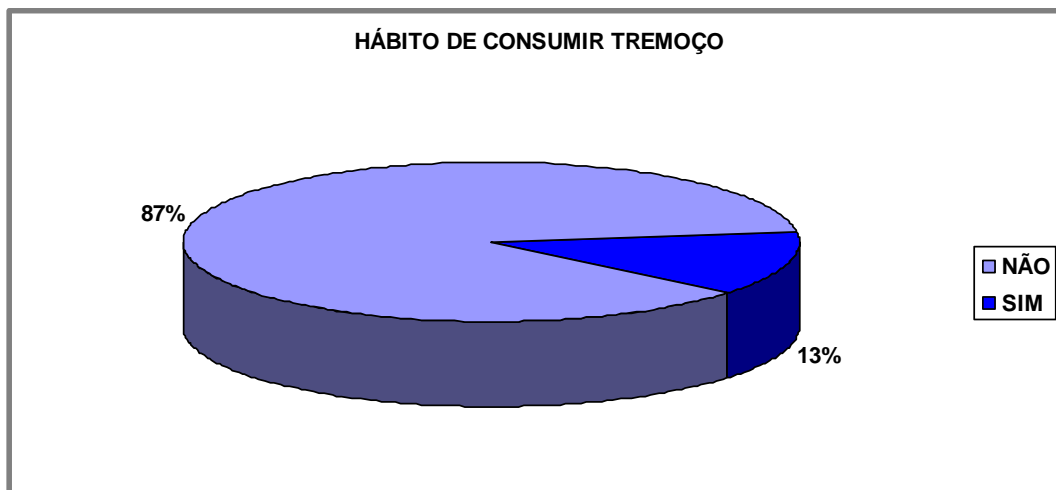


Figura 26 - Representação gráfica do hábito de consumo de tremoço.
n=100 julgadores.

Pela Figura 26 podemos observar que apenas 13% dos julgadores possuem o hábito de consumir tremoço, enquanto que 87% não consomem esta leguminosa.

No Brasil, o tremoço é basicamente consumido como aperitivo, na forma de conserva salgada (GLOBO RURAL, 2009).

Vários estudos têm mostrado que o tremoço (*Lupinus sp*) pode ser usado como ingrediente no preparo dos mais diversos tipos de alimento, como pão, espaguete, iogurte, muffin, macarrão, biscoito, bolacha de chocolate, barra de cereal, produtos de carne, bebidas entre outros (MUBARAK, 2001; JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al., 2003; HALL; JOHNSON, 2004; DOXASTAKIS et al., 2007; TORRES et al., 2007; RESTA et al., 2008).

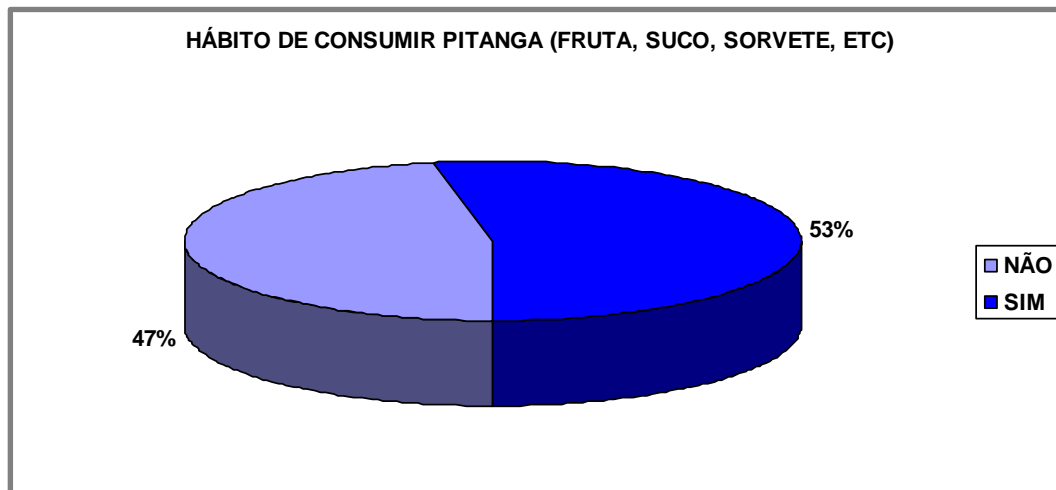


Figura 27 - Representação gráfica do hábito de consumir pitanga (fruta, suco, sorvete, etc).
n=100 julgadores.

Na Figura 27 podemos observar que mais da metade dos julgadores possui o hábito de consumir pitanga (fruta, suco, sorvete, etc.), enquanto que 47% dos julgadores não consomem pitanga.

A pitanga é uma fruta cuja polpa apresenta excelentes condições para industrialização, devido ao seu alto rendimento, aroma agradável e sabor exótico. A polpa constitui-se numa das principais matérias-primas para a fabricação de sucos, sorvetes, geléias e licores (BEZERRA et al., 2000).

Em razão da dificuldade no comércio da fruta *in natura*, devido à alta perecibilidade e susceptibilidade a danos físicos durante o transporte a distâncias, as agroindústrias regionais apresentam-se como solução, por propiciar a sua comercialização na forma de polpa e sucos congelados ou no engarrafamento do suco integral (BEZERRA et al., 2000).

Os sucos de frutas tropicais conquistam cada vez mais o mercado consumidor, sendo o Brasil um dos principais produtores (KUSKOSKI et al., 2006).

De acordo com a Instrução Normativa nº 12 de 04 de setembro de 2003 (BRASIL, 2003) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), abacate, abacaxi, acerola, ata, apricó, açaí, abiu, banana, bacuri, cacau, caju, cajá, carambola, cupuaçu, goiaba, graviola, jenipapo, jabuticaba, jaca, jambo, mamão, mangaba, manga, maracujá, melão, murici, pinha, pitanga, pupunha, sapoti,

seriguela, tamarindo, taperebá, tucumã e umbu são frutas polposas de origem tropical.

Os julgadores também avaliaram a aceitação do “leite” de soja original, do suco de fruta com “leite” de soja e do suco de pitanga, cujos resultados são apresentados na Figura 28.

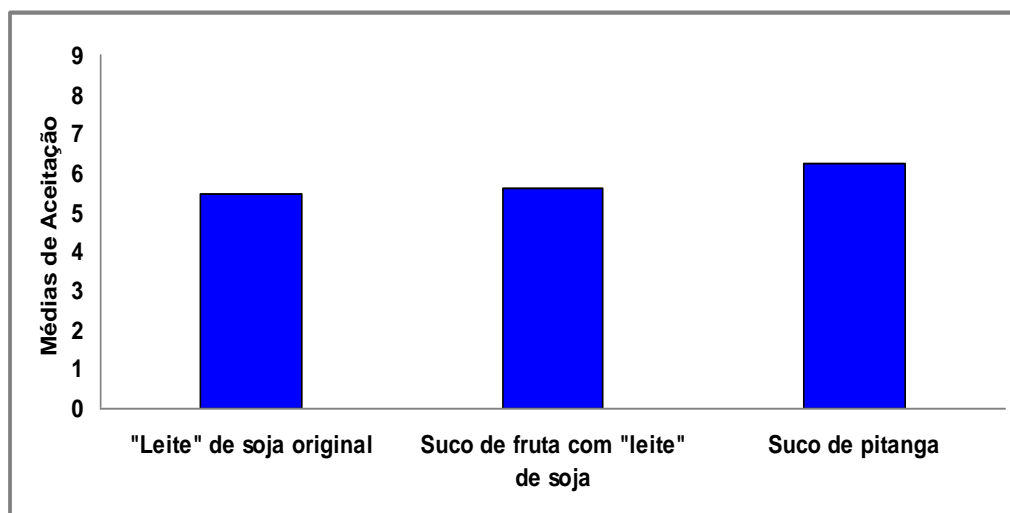


Figura 28 - Representação gráfica dos resultados de aceitação do “leite” de soja original, do suco de fruta com “leite” de soja e do suco de pitanga.

n=100 julgadores (escala de 0 a 9 correspondendo de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo).

Pode-se observar que todos os produtos avaliados são aceitos pelos julgadores, pois tiveram uma média de aceitação superior a 4,5.

O “leite” de soja original recebeu uma média de 5,46; o suco de fruta com “leite” de soja recebeu 5,62 e o suco de pitanga, 6,26.

5.6 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO PRODUTO OTIMIZADO

A Tabela 25 apresenta a caracterização físico-química do suco de pitanga a base de tremoço (ensaio 2).

Tabela 25 - Caracterização físico-química do produto otimizado.

<i>Componentes</i>	<i>Valores médios</i>
Umidade (%)	87,20
Sólidos Solúveis (°Brix)	12,80
Proteínas (%)	0,83 ± 0,09
Cinzas (%)	0,08 ± 0,03
Carboidratos(%)^a	11,89
pH	3,43
Viscosidade^b (s)	30,22

^a Calculado por diferença.

^b Tempo em segundos.

6 CONCLUSÕES

Esse trabalho permitiu o desenvolvimento de uma bebida com características sensoriais atrativas, utilizando extrato aquoso de tremoço branco (*Lupinus albus*) e suco tropical de pitanga (*Eugenia uniflora*).

O tratamento térmico aquoso, utilizado para a diminuição do teor de alcalóides das sementes de tremoço, resultou não apenas na diminuição do teor de alcalóides, como também no aumento do conteúdo de proteína.

A utilização da MSR possibilitou a determinação de regiões de máxima aceitação para cada atributo avaliado do suco de pitanga a base de tremoço, com um número reduzido de ensaios.

O produto otimizado apresentou 50 mL de extrato aquoso de tremoço e 30 mL de suco de pitanga.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLAH, A.; CHENG, T. C. Optimization of reduce calorie tropical mixed fruits jam. **Food Quality and Preference**, v. 12, p. 63-68, 2001.

ABNT - NBR 5849. Determinação de viscosidade pelo copo Ford. CB-10 - Comitê Brasileiro de Química, Petroquímica e Farmácia, 2003.

ACOSTA, O.; VÍQUEZ, F.; CUBERO, E. Optimisation of low calorie mixed fruit jelly by response surface methodology. **Food Quality and Preference**, v. 19, p. 79-85, 2008.

AGRARIA. Disponível em: <<http://www.agraria.org/coltivazionierbacee/lupino.htm>>. Acesso em: 14 set. 2009.

AGROV. Disponível em: <<http://www.agrov.com/vegetais/frutas/pitanga.htm>>. Acesso em: 19 jan. 2009.

ALIZADEH, M.; HAMED, M.; KHOSROSHAHI, A. Optimizing sensorial quality of Iranian white brine cheese using response surface methodology. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 4, p. 299-303, 2005.

ARARA. Disponível em: <<http://www.arara.fr/BBPITANGA.html>>. Acesso em: 19 jan. 2009.

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

BARRETO, A. C. S.; IDA, E. I.; SILVA, R. S.; TORRES, E. A. F. S.; SHIMOKOMAKI, M. Empirical models for describing poultry meat lipide oxidation inhibition by natural antioxidants. **Journal of Food Composition and Abalysis**, v. 16, n. 5, p. 587-594, 2003.

BENASSI, A. C.; ABRAHÃO, J. T. M. Épocas de semeaduras e espaçamentos sobre a produção de fitomassa de tremoço. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 9, p. 1517-1522, 1991.

BEZERRA, J. E. F.; SILVA JÚNIOR, J. F. da; LEDERMAN, I. E. **Pitanga (*Eugenia uniflora* L.)**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 30p. (Série Frutas Nativas, 1).

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BOSCHIN, G.; ANNICCHIARICO, P.; RESTA, D.; D'AGOSTINA, A.; ARNOLD, A. Quinolizidine alkaloids in seeds of lupin genotypes of different origins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 56, n. 10, p. 3657-3663, 2008.

BOTELHO, R. **Pitanga é rica em vitaminas.** Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/folha/comida/ult10005u343064.shtml>>. Acesso em: 19 jan. 2009.

BRAGA, N. R.; WUTKE, E. B.; AMBROSANO, E. J.; BULISANI, E. A. **Tremoço branco ou amargo (*Lupinus albus* L.).** Instituto Agronômico – IAC. Publicado em 13/07/2006. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/Tecnologias/Tremoco/Tremoco.htm>>. Acesso em: 12 jan. 2009.

BRASIL. MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 12, de 04 de setembro de 2003. Aprova o “Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade gerais para suco tropical”... Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 22 jun. 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Colegiada RDC nº 268, de 22 de setembro de 2005. Aprova o “Regulamento técnico para produtos protéicos de origem vegetal”... Disponível em: <<http://anvisa.gov.br>>. Acesso em: 22 jun 2008.

BRENDON, N. G.; ALLEN, D. G.; WATSON, I. M. Development and application of enzyme-linked immunosorbent assay for lupin alkaloids. **Journal of Agriculture and Food chemistry**, v. 36, p. 2327-2331, 1991.

CATHARINO, R. R.; GODOY, H. T. Otimização da determinação de ácido fólico em leites enriquecidos através da análise de superfície de resposta. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 326-329, 2001.

CHANGO, A.; VILLAUME, C.; BAU, H.M.; NICOLAS, J.P.; MEJEAN, L. Debitting of Lupin (*Lupinus luteus* L) protein by calcium alginate and nutritional evaluation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 63, p. 195-200, 1993.

CHAPLEAU, N.; LAMBALLERIE-ANTON, M. Improvement of emulsifying properties of lupin proteins by high pressure induced aggregation. **Food Hydrocolloids**, v. 17, p. 273-280, 2003.

CONSOLINI, A. E.; SARUBBIO, M. G. Pharmacological effects of *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) aqueous crude extract on rat's heart. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, p. 57-63, 2002.

CORSATO, J. M.; SANTORUM, M.; LESZCZYNSKI, R.; FORTES, A. M. T. **Efeito alelopático do extrato aquoso de folhas frescas de tremoço branco (*Lupinus albus* L.) sobre a germinação e o crescimento inicial da alface, soja e picão preto.** XVII Semana da Biologia, 03 a 06 de setembro de 2007, UNIOESTE. Disponível em: <http://cacphp.unioeste.br/eventos/OLD_mesmo_antigos/semanadabio2007/resumos/BT_05.pdf>. Acesso em: 09 fev. 2009.

DOXASTAKIS, G.; PAPAGEORGIU, M.; MANDOLOU, D.; IRAKII, M.; PAPALAMPROU, E.; D'AGOSTINA, A.; RESTA, D.; BOSCHIN, G.; ARNOLDI, A.

Technological properties and non-enzymatic browning of white lupin protein enriched spaghetti. **Food Chemistry**, v. 101, p. 57-64, 2007.

DRAKOS, A.; DOXASTAKIS, G.; KIOSSEOGLU, V. Functional effects of lupin proteins in comminuted meat and emulsion gels. **Food Chemistry**, v. 100, p. 650-655, 2007.

EKPONG, A.; NGARMSAK, T.; WINGER, R. J. Comparing sensory methods for the optimization of mango gel snacks. **Food Quality and Preference**, v. 17, p. 622-628, 2006.

EL-ADAWY, T. A.; RAHMA, E. H.; EL-BEDAWEY, A. A.; GAFAR, E. F. Nutritional potential and functional properties of sweet and bitter lupin seeds protein isolates. **Food Chemistry**, v. 74, p. 455-462, 2001.

ERBAS, M.; CERTEL, M.; USLU, M. K. Some chemical properties of white lupin seeds (*Lupinus albus* L.) **Food Chemistry**, v. 89, p. 341-345, 2005.

FALUYI, M. A. ZHOU, X. M.; ZHANG, F.; LEIBOVITCH, S.; MIGNER, P.; SMITH, D. L. Seed quality of sweet white lupin (*Lupinus albus*) and management practice in eastern Canada. **European Journal of Agronomy**, v. 13, p. 27-37, 2000.

FAO/WHO, Energy and protein requirements. Report of a joint FAO/WHO Meeting. Technical Report Series, n° 724. Geneva, World Health Organization, 1985.

FERGUSON, N. S.; GOUS, R. M.; IJI, P. A. Determining the source of anti-nutritional factor(s) found in two species of lupin (*L. albus* and *L. angustifolius*) fed to growing pigs. **Livestock Production Science**, v. 84, p. 83-91, 2003.

FOODSTANDARDS. Austrália New Zealand Food Authority. **Lupin alkaloids in food**. A toxicological review and risk assessment. Technical Report Series 3, p. 1-21, 2001. Disponível em: <http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/TR3.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2009.

FRANZÃO, A. A.; MELO, B. **Cultura da Pitangueira**. Disponível em: <<http://fruticultura.iciag.ufu.br/pitangueira.html>>. Acesso em: 01 nov. 2008.

FRANZÃO, R. C. **Propagação vegetativa e modo de reprodução da pitangueira (*Eugenia uniflora* L.)**. 2008. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS, 2008.

FREITAS, D. G. C.; JACKIX, M. N. H. Caracterização físico-química e aceitação sensorial de bebida funcional adicionada de frutoligossacarídeo e fibra solúvel. **B Ceppa**, Curitiba, v. 22, n. 2, p. 355-374, 2004.

GARCÍA-LÓPEZ, P. M.; MUZQUIZ, M.; RUIZ-LÓPEZ, M. A.; ZAMORA-NATERA, J. F.; BURBANO, C.; PEDROSA, M. M.; CUADRADO, C.; GARZÓN-DE LA MORA, P. Chemical Composition and Fatty Acid Profile of Several Mexican Wild Lupinus. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 14, p. 645-651, 2001.

GDALA, J.; BURACZEWSKA, L. Chemical and carbohydrate content of seeds from several lupin species. **Journal of Animal Feed Sciences**, v. 5, n. 4, p. 403-416, 1996.

GLADSTONES, J. S. Lupins of the Mediterranean Region and Africa. **Technical Bulletin. Department of Agriculture, Western Australia**, v. 26, p. 1-48, 1974.

GLENCROSS, B. D.; CARTER, C. G.; DUIJSTER, N.; EVANS, D. R.; DODS, K.; McCAFFERTY, P.; HAWKINS, W. E.; MAAS, R.; SIPSAS, S. A comparison of the digestibility of a range of lupin and soybean protein products when fed to either Atlantic salmon (*Salmo salar*) or rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 237, p. 333-346, 2004.

GLOBO RURAL.**TREMOÇO**. Disponível em:
<<http://globoruraltv.globo.com/GRural/0,27062,LTPO-4373-I-L-T,00.html>>.
Acesso em: 9 fev. 2009.

GÓES, S. P.; RIBEIRO, M. L. L. **α -Galactosidase: aspectos gerais e sua aplicação em produtos a base de soja**. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 23, n. 1, p. 111-119, 2002.

GOLVEIA, R. F.; ALMEIDA, D. L. Avaliação das características agronômicas de sete adubos verdes de inverno no município de Paty do Alferes (RJ). Embrapa, Comunicado Técnico n. 20, p. 1-7, 1997. Disponível em:
<<http://www.cnpab.embrapa.br/publicacoes/download/cot020.pdf>>.
Acesso em: 15 jul. 2009.

GRIZOTTO, R. K.; BRUNS, R. E.; AGUIRRE, J. M.; BATISTA, G. Otimização via Metodologia de Superfície de Respostas dos parâmetros tecnológicos para produção de fruta estruturada e desidratada a partir de polpa concentrada de mamão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 158-164, 2005.

GUILLAMÓN, E.; PRDROSA, M. M.; BURBANO, C.; CUADRADO, C.; SÁNCHEZ, M. C.; MUZQUIZ, M. The trypsin inhibitors present in seed of different grain legume species and cultivar. **Food Chemistry**, v. 107, p. 68-74, 2008.

HADDAD, J.; MUZQUIZ, M.; ALLAF, K. Treatment of lupin seed using the instantaneous controlled pressure drop technology to reduce alkaloid content. **Food Science and Technology International**, v. 12, n. 5, p. 365-370, 2006.

HALL, R. S.; JOHNSON, S. K. Sensory Acceptability of Foods Containing Australian Sweet Lupin (*Lupinus angustifolius*) Flour. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 2, p. 92-97, 2004.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 52, p. 481-504, 2000.

HORTIFRUTA BRASIL. **Revista Hortifruta Brasil**, Ano 8, edição 81, julho de 2009. disponível em: <<http://www.cepea.esalq.usp.br/hfbrasil/edicoes/81/full.pdf>>. Acesso em: 28/04/2010.

HOUGH, G. SÁNCHEZ, R.; BARBIERI, T.; MARTÍNEZ, E. Sensory optimization of a powdered chocolate milk formula. **Food Quality and Preference**, v. 8, n. 3, p. 213-221, 1997.

HUYGHE, C. White lupin (*Lupinus albus* L.) **Field Crops Research**, v. 53, p. 147-160, 1997.

IBRAF. Instituto Brasileiro de Frutas. **Revista Frutas e Derivados**, Ano 3, edição 10, junho de 2008. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/x_files/revista10.pdf>. Acesso em: 19/01/2009.

JACQUES, A. C.; PERTUZZATI, P. B.; ZAMBIAZI, R. **Teor de carotenóides em pequenas frutas**. Disponível em: <http://www.ufpel.tche.br/cic/2007/cd/pdf/CA/CA_00226.pdf>. Acesso em: 19 jan. 2009.

JIMÉNEZ-MARTÍNEZ, C.; HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, H.; DÁVILA-ORTIZ, G. Production of a yogurt-like product from *Lupinus campestris* seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, p. 515-522, 2003.

JIMÉNEZ-MARTÍNEZ, C.; HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, H.; ALVÁRES-MANILLA, G.; ROBLEDO-QUINTOS, N.; MARTÍNEZ-HERRERA, J.; DÁVILA-ORTIZ, G. Effect of aqueous and alkaline thermal treatments on chemical composition and oligosaccharide, alkaloid and tannin contents of *Lupinus campestris* seeds. **Journal of Food and Agriculture**, v. 81, p. 421-428, 2000.

KANTHACK, R. A. D.; MASCARENHAS, H. A. A.; CASTRO, O. M.; TAKANA, R. T. Nitrogênio aplicado em cobertura no milho após tremoço. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 99-104, 1991.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 2006.

LAMPART-SZCZAPA, E.; KORCZAK, J.; NOLAGA-KALUCKA, M.; ZAWIRSKA-WOJTASIAK, R. Antioxidant properties of lupin seed products. **Food Chemistry**, v. 83, p. 279-285, 2003.

LEE, S. T.; RALPHS, M. H.; PANTER, K. E.; COOK, D.; GARDNER, D. R. Alkaloid profiles, concentration, and pools in velvet lupine (*Lupinus leucophyllus*) over the growing season. **Journal of Chemistry Ecology**, v. 33, p. 75-84, 2007.

LIMA, V. L. A. G.; MELO, E. A.; LIMA, D. E. S. Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 59, n. 3, p. 447-450, 2002.

LOURENÇO, E. J. **Tópicos de proteínas de alimentos**. Fapesp. Unesp Jaboticabal: Funep, 2000. 341p.

MACFIE, H. J.; BRATCHELL, N.; GREENHOFF, K.; VALLIS, L. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. **Journal of Sensory Studies**, v. 4, p. 129-148, 1989.

MAKRI, E.; PAPALAMPROU, G.; DOXASTAKIS, G. Study of functional properties of seed storage proteins from indigenous European legume crops (lupin, pea, broad bean) in admixture with polysaccharides. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 583-594, 2005.

MARTÍNEZ, B.; RINCÓN, F.; IBÁÑEZ, M. V.; ABELLÁN, P. Improving the nutritive value of homogenized infant foods using response surface methodology. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 1, p. 38-43, 2004.

MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; FRÍAS, J.; VIDAL-VALVERDE, C. Raffinose family oligosaccharides and sucrose content in thirteen Spanish lupin cultivars. **Food Chemistry**, v. 91, p. 645-649, 2005.

MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; FRÍAS, J.; VIDAL-VALVERDE, C. Functional lupin seeds (*Lupinus albus* L. And *Lupinus luteus* L.) after extraction of α -galactosides. **Food Chemistry**, v. 98, p. 291-299, 2006.

MASUCCI, F. FRANCA, A. D.; ROMANO, R.; SERRACAPRIOLA, M. T. M.; LAMBIASE, G.; VARRICCHIO, M. L.; PROTO, V. Effect of *Lupinus albus* as protein supplement on yield, constituents, clotting properties and fatty acid composition in ewes' milk. **Small Ruminant Research**, v. 65, p. 251-259, 2006.

MELO, B.; ALMEIDA, M. S. **Valor Nutricional das Frutas**. Disponível em: <<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/ntricao.htm>>. Acesso em: 01 nov. 2008.

MENDES, L. C.; MENEZES, H. C. APARECIDA, M.; SILVA, A. P. Optimization of the roasting of robusta coffee (*C. conephora* conillon) using acceptability tests and RSM. **Food Quality and Preference**, v. 12, p. 153-162, 2001.

MICHAEL, J. P. Indolizidine and quililizidine alkaloids. **Natural Product Reports**, v.20, n. 5, p. 458-475, 2003.

MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2006. 225p.

MUBARAK, A. E. Chemical, nutritional and sensory properties of bread supplemented with lupin seed (*Lupinus albus*) products. **Nahrung**, v. 45, n. 4, p. 241-245, 2001.

NEVES, V. A.; SILVA Jr. S. I.; SILVA, M. A. Isolamento da globulina majoritária, digestibilidade *in vitro* e *in vivo* das proteínas do tremçoço doce (*Lupinus albus* L.),

var. Multolupa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 832-840, 2006.

NUNES, M. C.; BATISTA, P.; RAYMUNDO, A.; ALVES, M. M.; SOUSA, I. Vegetable proteins and milk puddings. **Colloids and Surfaces B**, v. 31, p. 21-29, 2003.

OGUNWANDE, I. A.; OLAWORE, N. O.; WALKER, T. M.; SCHMIDT, J. M.; SETZER, W. N. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. **International Journal of Aromatherapy**, v. 15, p. 147-152, 2005.

OLIVEIRA, A. L.; LOPES, R. B.; CABRAL, F. A.; EBERLIN, M. N. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, v. 99, p. 1-5, 2006.

PIO, R.; GONTIJO, T. C. A.; RAMOS, J. D.; CHALFUN, N. N. J. Características físico-químicas de frutos de pitangueira em função da altura de inserção na planta. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 11(1), p. 105-107, 2005. Disponível em: <<http://www.ufpel.tche.br/faem/agrociencia/v11n1/artigo18.pdf>>. Acesso em: 19 jan. 2009.

RAHMA, E. H.; RAO, N. M. S. Effect of debittering treatment on the composition and protein components of lupin seed (*Lupinus termis*) flour. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 32, n. 6, p. 1026-1030, 1984.

RASEIRA, M. C. B.; FRANZON, R.; COUTO, M.; MARINI, D.; MILECH, R. **Resultados preliminares da comparação entre diversas seleções de pitangueiras, em teste na Embrapa Clima Temperado**. III Simpósio Nacional do Morango & II Encontro sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul. Pelotas/RS, 2007. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/download/documentos/documento_203.pdf>. Acesso em: 21 jan. 2009.

RASEIRA, M. C. B.; RASEIRA, A. **Seleções de pitangueiras (*Eugenia uniflora* L.)**. III Simpósio nacional do morango & II Encontro sobre pequenas frutas e frutas netivas do Mercosul. Pelotas/RS, 2006. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/documentos/documento_171.pdf>. Acesso em: 01 nov. 2008.

REINHARD, H. RUPP, H.; SAGER, F.; STREULE, M.; ZOLLER, O. Quinolizidine alkaloids and phomopsins in lupin seeds and lupin containing food. **Journal of Chromatography A**, v. 1112, p. 353-360, 2006.

RESTA, D.; BOSCHIN, G.; D'AGOSTINA, A.; ARNOLDI, A. Evaluation of total quinolizidine alkaloids content in lupin flours, lupin-based ingredients, and foods. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 52, p. 490-495, 2008.

RIBEIRO, A. G. **Desenvolvimento de produto tipo shake utilizando farinha de tremçoço doce (*Lupinus albus*) cultivar multolupa, decorticada e desengordurada**. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara/SP, 2006.

RODRIGUES, D. C. M. **Propriedades funcionais das proteínas do tremço doce (*Lupinus albus*) cultivar Multolupa**. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, 2005.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos**. 1ª ed. Campinas, SP: Casa do Pão, 2005, 326p.

RUIZ-LÓPEZ, M. A.; GARCÍA-LÓPEZ, P. M.; CASTAÑEDA-VAZQUEZ, H.; ZAMORA, N. J. F.; GARZÓN-DE LA MORA, P.; PINEDA, J. B.; BURBANO, C.; PEDROSA, M. M.; CUADRADO, C. MUZQUIZ, M. Chemical Composition and Antinutrient Content of three *Lupinus* Species from Jalisco, México. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.13, p.193-199, 2000.

SAS Institute. **SAS user's guide: statistics**. Cary, 1993. Software.

SIN, H. N.; YUSOF, S.; SHEIKH ABDUL HAMID, N.; RAHMAN, R. Optimization of hot water extraction for saponin juice using response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, v. 74, n. 3, p. 352-358, 2006.

SINGH, S.; RAINA, C. S.; BAWA, A. S.; SAXENA, D. C. Sweet potato-based pasta product: Optimization of ingredient levels using response surface methodology. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, p. 191-200, 2004.

STATISTICA v. 7.1 for Windows. Tulsa, OK: Statsoft Inc. Software, 2006.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 2ª ed. London: Academic Press, 1993, 338p.

SUDARYONO, A.; TSVETNENKO, E.; HUTABARAT, J. SUPRIHARYONO; EVANS, L. H. Lupin ingredients in shrimp (*Penaeus monodon*) diets: influence of lupin species and types of meals. **Aquaculture**, v. 171, p. 121-133, 1999.

SUJAK, A.; KOTLARZ, A.; STROBEL, W. Compositional and nutritional evaluation of several lupin seeds. **Food Chemistry**, v. 98, p. 711-719, 2006.

TACO. **Tabela de Composição de Alimentos**. Campinas-SP, 2006. Disponível em: <http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_versao2.pdf>. Acessado em: 21 jan. 2009.

TORRES, A.; FRIAS, J.; GRANITO, M.; GUERRA, M.; VIDAL-VALVERD, C. Chemical, biological and sensory evaluation of pasta products supplemented with α -galactoside free lupin flours. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 74-81, 2007.

TORRES, K. B.; QUINTOS, N. R.; NECHA, L. L.; WINK, M. Alkaloid profile of leaves and seed of *Lupinus hintonii* C. P. Smith. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 57, n. 3-4, p. 243-247, 2002.

TSALIKI, E.; LAGAOURI, V.; DOXASTAKIS, G. Evaluation of the antioxidant activity of lupin seed flour and derivatives (*Lupinus albus* ssp. *Graecus*). **Food Chemistry**, v. 65, p. 71-75, 1999.

UZUN, B.; ARSLAN, C.; KARHAN, M.; TOKER, C. Fat and fatty acids of white lupin (*Lupinus albus* L.) in comparison to sesame (*Sesamum indicum* L.) **Food Chemistry**, v. 102, p. 45-49, 2007.

VAILLANT, F.; MILLAN, P.; O'BRIEN, G.; DORNIER, M.; DECLoux, M.; REYNES, M. Crossflow microfiltration of passion fruit juice after partial enzymatic liquefaction. **Journal of Food Engineering**, v. 42, p. 215-224, 1999.

VALIM, M. F.; ROSSI, E. A.; SILVA, R. S. F.; BORSATO, D. Sensory acceptance of a functional beverage base on orange juice and soymilk. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 2, p.153-156, 2003.

VASILAKIS, K; DOXASTAKIS, G. The reology of lupin seed (*Lupinus albus* ssp. *Graecus*) protein isolate films at the corn oil-water interface. **Colloids and surfaces B: Biointerferens**, v. 12, p. 331-337, 1999.

VEGA, de la R.; GUTIERREZ, M. P.; SANZ, C.; CALVO, R.; ROBREDO, L. M.; CUADRA, de la C.; MUZQUIZ, M. Bactericide-like effect of *Lupinus* alkaloids. **Industrial Crops and Products**, v. 5, p. 141-148, 1996.

VILARIÑO, M. P.; RAVETTA, D. A. Tolerance to herbivory in lupin genotypes with different alkaloid concentration: interspecific differences between *Lupinus albus* L. and *Lupinus angustifolius* L. **Environmental and Experimental Botany**, v. 63, p. 130-136, 2008.

VIZZOTTO, M. **Pitanga: uma fruta especial**. 24/04/2008. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/artigos/2008/pitanga-uma-fruta-especial-2/>>. Acesso em: 31 nov. 2008.

WANG, S. H.; ROCHA, G. O.; NASCIMENTO, T. P. ASCHERI, J. L. R.; OLIVEIRA, A. Características sensoriais de bolos esponja preparados com farinhas de trigo e soja extrusadas em diferentes parâmetros de extrusão. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 4, p. 369-376, 2005.

WIKIPÉDIA. **Pitanga**. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Pitanga>>. Acesso em: 19 jan. 2009.

WYSOCKA, W.; BRUKWICKI, T. Lupin alkaloids; I. Reinvestigation of the structure of N-methylalbine. **Planta Médica**, v. 54, n. 6, p. 522-523, 1998.

Apêndice 1 - Modelo de ficha utilizada na avaliação sensorial do suco de pitanga a base de tremoço.

Análise Sensorial – Teste de Aceitação

Nome: _____ Data: ____/____/____

Você está recebendo uma amostra de SUCO DE PITANGA A BASE DE TREMOÇO. Prove a amostra e indique na escala sua opinião em relação à aparência, aroma, sabor e impressão global.

AMOSTRA N° _____

APARÊNCIA	desgostei muitíssimo _____ gostei muitíssimo
AROMA	desgostei muitíssimo _____ gostei muitíssimo
SABOR	desgostei muitíssimo _____ gostei muitíssimo
IMPRESSÃO GLOBAL	desgostei muitíssimo _____ gostei muitíssimo

Assinale, para esta amostra, qual seria sua atitude quanto à compra do produto:

- () Eu certamente compraria este produto
- () Eu provavelmente compraria este produto
- () Eu tenho dúvidas se compraria ou não este produto
- () Eu provavelmente não compraria este produto
- () Eu certamente não compraria este produto

Comentários: _____

Apêndice 2 -Modelo de questionário aplicado aos julgadores.

Questionário

Nome: _____ Data: ____/____/____

e-mail: _____ Telefone: _____

Idade: _____ anos

Sexo: () Masculino () Feminino

Professor ()

Aluno de Pós-Graduação ()

Aluno de Graduação ()

Funcionário ()

Visitante ()

Você tem o hábito de consumir TREMOÇO? () sim () não

Você tem o hábito de consumir PITANGA (fruta, suco, sorvete, etc)? () sim () não

Por favor, utilize a escala para indicar o quanto você gosta ou desgosta dos alimentos abaixo:

“LEITE“ de SOJA original (ex. Ades, Purity, etc)	desgosto muitíssimo	gosto muitíssimo

Suco de fruta com “LEITE” de SOJA	desgosto muitíssimo	gosto muitíssimo

SUCO de PITANGA (natural, polpa, concentrado, pronto pra beber)	desgosto muitíssimo	gosto muitíssimo

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)