

ROBERTA DE SOUZA LEONE

DESENVOLVIMENTO DE SUCO MISTO DE FRUTAS E
HORTALIÇA PARA MELHORIA DA QUALIDADE NUTRICIONAL E
FUNCIONAL

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2009

ROBERTA DE SOUZA LEONE

DESENVOLVIMENTO DE SUCO MISTO DE FRUTAS E
HORTALIÇA PARA MELHORIA DA QUALIDADE NUTRICIONAL E
FUNCIONAL

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*

APROVADA: 02 de Março de 2009.

Prof. Paulo César Stringheta
(Co-orientador)

Prof^a. Valéria Paula Rodrigues Minim
(Co-orientadora)

Prof. Luciano José Quintão
Teixeira

Prof. Paulo Roberto Cecon

Prof. Afonso Mota Ramos
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por preparar meu caminho até aqui.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos pela oportunidade da realização deste curso.

Ao meu orientador, Professor Afonso Mota Ramos, pelos conselhos, exemplo, amizade, disposição e orientação preciosa para meu crescimento.

Ao Professor Paulo César Stringheta, pela acolhida, incentivo, encorajamento e apoio técnico.

À Professora Valéria Paula Rodrigues Minim, pelos conhecimentos transmitidos e aconselhamento.

Ao Professor Luciano José Quintão Teixeira, pela amizade e participação na banca examinadora.

Ao Professor Paulo Roberto Cecon, pelas soluções estatísticas e participação na banca examinadora.

À Professora Helena Maria Pinheiro Sant'ana pelo apoio técnico e à Daniela pela disposição em ajudar.

Aos que tive a honra de ter como mestres nas diversas disciplinas que cursei e que me fizeram acreditar que estava no caminho certo: Prof. Afonso, Prof. Stringheta, Prof^a Valéria, Prof^a. Cristina, Prof. Fernando, Prof. José Carlos e Prof^a. Helena.

Aos funcionários de DTA pela ótima convivência e prontidão, de modo especial à Geralda, Vaninha, José Raimundo, José Geraldo, Simeão, Juarez, José Tomás (Perereca), Seu Manoel, Marco Aurélio, Lucinha e Valério.

Ao Evander e ao Departamento de Fitotecnia da UFV pela identificação da azedinha.

À Juliana, estagiária dedicada e sempre motivada.

Aos amigos do laboratório de Processamento de Frutas e Hortaliças, Aurélia (em especial), Bruninha, Anderson, Ari, Danilo, Eliane, Érica, Janaína, Juliana, Marcos, Mayra, Mirella, Neuma, Tiago e Túlio, pela ajuda nas análises e pela amizade que tornou mais fácil superar a saudade de casa.

Aos amigos do Laboratório de Pigmentos Naturais e Secagem, Fernanda, Manoela, Aline, Pollyanna, Léo e Fabíola, pela sempre disposição em ajudar.

Aos colegas das diversas turmas, pelo que aprendi com cada um.

Aos meus pais, Eugênio e Emília, e à minha avó Sibila, pelo suporte, conselhos, amor e por acreditarem no meu potencial mais do que eu mesma.

Ao Fábio, pela paciência, amor, compreensão e por acreditar que valia a pena esperar.

OBRIGADA

BIOGRAFIA

Roberta de Souza Leone, filha de Eugênio Rosário Leone Neto e Emília Batista de Souza Leone, nasceu em Curitiba – PR, em 21 de novembro de 1981.

Iniciou seus estudos na Escola Municipal Manoel Pedro, na Lapa – PR, onde cursou até a quarta série do ensino fundamental e posteriormente estudou na Escola Estadual General Carneiro, na mesma cidade, onde concluiu o ensino fundamental. Cursou o ensino médio no Colégio Dom Bosco, em Curitiba – PR.

Graduou-se em Engenharia de Alimentos, pela Universidade Estadual de Ponta Grossa, situada na cidade de Ponta Grossa – PR, em janeiro de 2004.

Em outubro de 2006, iniciou como aluna especial no curso de Pós-Graduação da Universidade Federal de Viçosa e em agosto de 2007 se tornou aluna do programa de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos na UFV.

CONTEÚDO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REVISÃO GERAL.....	3
1 – MERCADO DE FRUTAS, HORTALIÇAS, SUCOS E POLPAS.....	3
2 – UVA, AZEDINHA E ACEROLA.....	6
3 – COMPONENTES ANTIOXIDANTES E FUNCIONAIS DAS FRUTAS E HORTALIÇAS.....	8
3.1 – LUTEÍNA.....	11
3.2 – VITAMINA C.....	14
3.3 – COMPOSTOS FENÓLICOS.....	16
4 – DELINEAMENTO DE MISTURAS.....	18
5 – ANÁLISE SENSORIAL.....	19
5.1 – TESTE DE ACEITAÇÃO.....	20
5.2 – ATRIBUTOS SENSORIAIS.....	21
5.2.1 – SABOR.....	21
5.2.2 – COLORAÇÃO.....	22
6 – LEGISLAÇÃO.....	24
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
CAPÍTULO 1.....	38
OTIMIZAÇÃO DE SUCO MISTO DE FRUTAS E HORTALIÇA UTILIZANDO DELINEAMENTO DE MISTURAS.....	38
RESUMO.....	38
ABSTRACT.....	38
1.1 – INTRODUÇÃO.....	39
1.2 – MATERIAL E MÉTODOS.....	41
1.2.1 – MATÉRIA-PRIMA E PRODUÇÃO DO SUCO MISTO.....	41
1.2.2 – ANÁLISES QUÍMICAS E DE COR.....	42
1.2.3 – ANÁLISE SENSORIAL.....	43
1.2.4 – DETERMINAÇÃO DE CAROTENÓIDES TOTAIS E DE VITAMINA C.....	43
1.2.5 – ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	44
1.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
1.3.1 – CARACTERIZAÇÃO DAS POLPAS.....	45
1.3.2 – CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E DE COR.....	46
1.3.3 – ANÁLISE SENSORIAL.....	53
1.3.4 – DETERMINAÇÃO DE CAROTENÓIDES TOTAIS E DE VITAMINA C.....	54
1.4 – CONCLUSÕES.....	57
1.5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

CAPÍTULO 2.....	62
AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DE COMPONENTES BIOATIVOS EM SUCO MISTO DE FRUTAS E HORTALIÇA DURANTE 100 DIAS DE ARMAZENAMENTO	62
RESUMO	62
ABSTRACT	62
2.1 - INTRODUÇÃO	63
2.2 – MATERIAL E MÉTODOS.....	66
2.2.1 – MATÉRIA-PRIMA E PRODUÇÃO DO SUCO MISTO	66
2.2.2 – ACEITABILIDADE SENSORIAL.....	66
2.2.3 – ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	67
2.2.4 – DETERMINAÇÕES QUÍMICAS E DE COR	67
2.2.5 – DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE LUTEÍNA E DE VITAMINA C	68
2.2.6 – DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	69
2.2.7 – ESTATÍSTICA.....	70
2.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	71
2.3.1 – ACEITABILIDADE SENSORIAL.....	71
2.3.2 – ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	75
2.3.3 – ANÁLISES QUÍMICAS E DE COR.....	75
2.3.4 – ANÁLISE DOS TEORES DE LUTEÍNA, VITAMINA C E COMPOSTOS FENÓLICOS E DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	78
2.4 – CONCLUSÕES.....	83
2.5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85
CONCLUSÕES GERAIS.....	91
ANEXOS.....	93
CURVA PADRÃO DO ÁCIDO GÁLICO.....	93
CURVA PADRÃO DA LUTEÍNA.....	93
CURVA PADRÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO PARA SUCO MISTO	94
CURVA PADRÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO PARA POLPA DE ACEROLA.....	94

RESUMO

LEONE, Roberta de Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2009. **Desenvolvimento de suco misto de frutas e hortaliça para melhoria da qualidade nutricional e funcional.** Orientador: Afonso Mota Ramos. Co-orientadores: Paulo César Stringheta e Valéria Paula Rodrigues Minim.

O apelo que existe em torno de produtos alimentícios “naturais” e saudáveis é uma das causas do aumento do consumo de suco de frutas no Brasil. Nas prateleiras dos supermercados já encontramos sucos com misturas de duas ou mais frutas, com diversos objetivos, dentre eles, a melhora nutricional do suco e a criação de um novo sabor. Este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de um suco misto contendo duas frutas e uma hortaliça. Existem muitas receitas caseiras de suco com hortaliças, porém, além da hortelã, não encontramos no comércio nacional, sucos prontos para beber com hortaliças. O principal objetivo da adição de uma hortaliça no suco foi aumentar os teores de luteína, pigmento natural encontrado em diversos vegetais, relacionado diretamente à prevenção de doenças como degeneração macular. A polpa de acerola foi adicionada à mistura para contribuir com o aumento dos teores de vitamina C e a polpa de uva, além de mascarar o sabor da acerola, que não possui boa aceitação sensorial, contribuiu com o aumento de compostos fenólicos, que, juntamente com a vitamina C e a luteína, são compostos bioativos responsáveis pelo aumento da atividade antioxidante do suco. Seguindo delineamento de misturas simplex, preparou-se suco misto em 10 formulações diferentes, com polpa de uva variando entre (18 – 25,6%), azedinha (14 – 21,6%) e acerola (0,4 – 20%). Os sucos foram formulados com água mineral, tiveram os sólidos solúveis ajustados para 14°Brix com sacarose, pasteurizados (90°C/60s), engarrafados pelo processo *hot fill* e resfriados, de onde procedeu às análises para a escolha de uma única formulação. Avaliou-se nas 10 formulações pH, acidez, cor e aceitação por parte dos consumidores. As 4 formulações com maiores notas de aceitabilidade foram avaliadas quanto aos teores de carotenóides totais, expressos em luteína, e de vitamina C. A

formulação escolhida continha 21,8% de polpa de uva, 14% de azedinha e 4,2% de acerola, porcentagens considerando o suco como um todo. A formulação foi escolhida, dentre as 4 avaliadas, pelo alto teor de vitamina C, já que não houve diferença significativa, à 5% de probabilidade, para os teores de carotenóides totais. Ela foi avaliada durante 100 dias de armazenamento pelos parâmetros pH, acidez, cor, vitamina C, luteína, teor de compostos fenólicos, atividade antioxidante e aceitabilidade. Ao final dos 100 dias houve perda de vitamina C e de compostos fenólicos. A tonalidade e o parâmetro b* mudaram com o tempo, indicando mudança na aparência do suco. A aceitação em relação ao sabor e à impressão global diminuiu, porém o suco continuava na faixa de boa aceitação, entre os termos hedônicos “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. A atividade antioxidante do suco foi mantida, juntamente com os teores de luteína e foi obtida a estabilidade comercial. Em geral, pode-se concluir que o suco formulado teve boa aceitação após 100 dias de armazenamento, conseguindo manter suas propriedades funcionais de atividade antioxidante e de conteúdo de luteína.

ABSTRACT

LEONE, Roberta de Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March of 2009. **Development of blend composed by fruits and vegetable to improve the nutritional and functional quality.** Adviser: Afonso Mota Ramos. Co-Advisers: Paulo César Stringheta and Valéria Paula Rodrigues Minim.

The appeal around foods natural and healthy is one of the causes of the increased consumption of fruit juice in Brazil. On supermarket shelves are available mix juices (blends) with two or more fruits, products developed to improve the nutritional quality and to create a new flavor. This work aimed the development of a blend with two fruits and a vegetable. There are many recipes for homemade juice with vegetables, however than the mint, did not find in national trade juices “ready to drink” with vegetables. The main purpose of adding a vegetable at juice was to increase the levels of lutein, natural pigment found in several plants associated with prevention of diseases such as macular degeneration. Acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) pulp was added in blend to increased levels of vitamin C and grape (*Vitis vinifera* L.) pulp to the increase of phenolic compounds, which together with vitamin C and lutein, are bioactive compounds responsible for the increase of antioxidant activity of juice. Grape pulp was added in blend to try to mask the flavor of acerola, which does not have good sensory acceptance. Using simplex centroid design, 10 different blend formulations was prepared with variation from grape pulp (18 to 25.6%), acerola pulp (14 to 21.6%) and azedinha (*Rumex acetosa*) pulp (0.4 to 20%). The juices were made with mineral water, their total soluble solids were adjusted to 14 °Brix with sucrose, pasteurized (90 °C/60s), bottled by the process hot fill and they were analysed to chose a single formulation. Physical-chemical and sensorial analysis were pH, total titrable acidity, color and acceptance by consumers. The 4 formulations with top scores in sensorial analysis were analyzed for the levels of total carotenoids expressed in lutein and vitamin C. The selected blend contained 21.8% of pulp grape, 14% of pulp azedinha and 4.2% of pulp acerola, percentages considering the juice as a whole. The formulation was chosen, among the 4 evaluated by the high content

of vitamin C, because there was no significant difference ($p < 0.05$) for the content of total carotenoids. This blend was evaluated during 100 days of storage for Physical-chemical parameters pH, total titrable acidity, color, vitamin C, lutein, phenolic compounds, antioxidant activity and sensorial analysis. At the end of 100 days there was loss of vitamin C and phenolic compounds. Parameters of colour b^* and hue changed over time, indicating change in the blend appearance. In the sensorial analysis there was decreased acceptability in terms of flavour and overall impression, but the blend remained in the range of good acceptance among hedonic terms "liked slightly" and "liked moderately." The antioxidant activity was maintained the same way levels of lutein and was achieved commercial stability. In general, we can conclude that the blend was accepted after 100 days of storage, thus maintaining the functional properties of the antioxidant activity and content of lutein.

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é um grande exportador de produtos do agronegócio e a arrecadação com esses produtos cresce a cada ano. Com clima privilegiado e território fértil disponível, o Brasil produz as mais variadas espécies de frutas tropicais, sendo parte da produção destinada à indústria de sucos de frutas.

Os sucos de frutas são apreciados não só pelo sabor agradável, mas também, pelas suas propriedades nutritivas e funcionais. As vitaminas são os componentes nutricionais mais importantes da maioria das frutas. Dentre as principais, a vitamina C tem um papel importante sobre funções do nosso organismo. Ela atua na defesa do organismo contra infecções, faz parte da manutenção da integridade das paredes dos vasos sanguíneos e é considerada um excelente antioxidante. Seu consumo é necessário, pois o organismo humano não é capaz de sintetizá-la.

Os carotenóides são pigmentos naturais encontrados nas frutas. O beta-caroteno, que possui ação pró-vitáminica A, e a luteína são exemplos de carotenóides que possuem características funcionais, sendo relacionados por diversos pesquisadores como auxiliares na prevenção de doenças, como catarata, degeneração macular e diversos tipos de câncer. Da mesma maneira que todos os antioxidantes, eles previnem o envelhecimento, combatendo os radicais livres produzidos pelo próprio organismo ou adquiridos através de estresse, poluição, cigarro, radiação solar, entre outras fontes.

Os compostos fenólicos são essenciais para o crescimento e reprodução das plantas. Encontrados nas frutas e hortaliças, no organismo humano agem como antioxidantes, têm ação antiinflamatória, atuam na inibição da agregação de plaquetas nos vasos sanguíneos e possuem atividade antimicrobiana.

A mistura de frutas com hortaliças na produção de suco é uma tendência de mercado. Há diversas receitas caseiras, porém não existe um produto pronto para o consumo ao alcance do consumidor. Os sucos mistos de frutas já são realidade nas prateleiras dos supermercados. São produtos que oferecem ao consumidor novos sabores que são formados pela própria mistura de frutas.

A proposta desse trabalho foi obter um suco misto composto de duas frutas e uma hortaliça, que venham a contribuir com vitamina C, compostos fenólicos e luteína, obtendo um produto com propriedades funcionais e que seja bem aceito pelos consumidores.

Os objetivos específicos são:

Definir quais as polpas de frutas e hortaliças que serão utilizadas e caracterizá-las realizando análises de sólidos solúveis totais (° Brix), pH, acidez total titulável, vitamina C e carotenóides totais.

Definir as proporções de polpa, água e açúcar a serem adicionadas nas formulações do suco misto, através de delineamento de formulação de misturas, obedecendo à legislação brasileira vigente.

Avaliar as propriedades químicas das formulações, como pH, acidez total titulável e escolher quatro formulações por meio de testes de aceitação global. Determinar o teor de vitamina C e de carotenóides totais dessas 4 formulações e escolher a formulação que será avaliada durante 100 dias de armazenamento.

Avaliar a estabilidade da formulação escolhida pelo período de 100 dias de armazenamento por meio de análises químicas e microbiológicas, avaliação sensorial dos atributos sabor, impressão global e intenção de compra, bem como quantificar dos teores de vitamina C, luteína, compostos fenólicos e a % de atividade antioxidante.

REVISÃO GERAL

1 – MERCADO DE FRUTAS, HORTALIÇAS, SUCOS E POLPAS

Segundo MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a exportação de suco de frutas em 2007 cresceu 15,4% em relação ao ano de 2006, com arrecadação de US\$ 2,3 bilhões, arrecadação esta, 51,3% maior que em 2006 (de US\$ 1,6 bilhão para US\$ 2,3 bilhões) (BRASIL, 2007b).

As exportações do agronegócio em 2007 totalizaram US\$ 58,4 bilhões, um recorde histórico para o setor. Corresponderam a 36,4% das exportações totais brasileiras no período, que foram de US\$ 160 bilhões. As importações apresentaram variação anual de 30,2%, totalizando US\$ 8,7 bilhões. Como consequência, registrou-se um superávit da balança comercial do agronegócio de US\$ 49,7 bilhões, também um recorde histórico. Os sucos de fruta representaram 4,1% nas exportações do agronegócio em 2007. Foram exportadas mais de 2 milhões de toneladas de sucos de fruta ao preço médio de US\$ 1.097,00 / tonelada (BRASIL, 2007b).

O crescimento que a fruticultura provoca na agricultura brasileira, confirma que, para expansão do mercado internacional, é necessário incluir a produção agroindustrial (ARAÚJO et al., 1999). As agroindústrias processadoras, além de atenderem as tendências de mercado, possuem um papel dinamizador de muita importância dentro de um pólo frutícola. A implantação de agroindústrias, além de agregar valor às frutas, proporciona o aproveitamento dos excedentes de safra, produto dos processos de classificação e padronização, cria empregos permanentes e interioriza o desenvolvimento.

A fruticultura é estratégica para o agronegócio brasileiro. Com um superávit de US\$ 184,6 milhões em 2006, o setor emprega atualmente mais de cinco milhões de pessoas e ocupa uma área de 3,4 milhões de hectares, segundo dados do Instituto Brasileiro de Frutas (IBRAF). Para cada US\$ 10 mil investidos na atividade, é possível gerar três empregos diretos e dois indiretos. A produção de frutas permite obter um faturamento bruto entre R\$ 1 mil e R\$ 20 mil por hectare/ano (BRASIL, 2007a).

Graças ao nosso clima privilegiado, produzimos frutas em regiões temperadas ou tropicais. Além da diversidade climática, temos um solo fértil e água em abundância. Esses três fatores tornam intrínseca a vocação do Brasil para a fruticultura. Em consequência dessas vantagens naturais, temos uma produção variada capaz de atender a qualquer mercado. Somos um dos poucos países que podem, por exemplo, produzir maçãs e pêssegos nas áreas frias do sul, além de manga, melão e mamão nas zonas de intenso calor do nordeste (BRASIL, 2007a).

As perdas de frutas, tanto na fase de produção, colheita, embalagem, transporte e pós-colheita, são grandes no Brasil, na ordem de 20 a 50%. As frutas tropicais usualmente têm perdas maiores, devido a sua maior suscetibilidade a colheita, transporte e pós-colheita, se estes forem inadequados (CHITARRA, 1994; ACCARINE, 2000; DONADIO, 2000).

O agronegócio brasileiro conta com uma eficiente, moderna e competitiva fruticultura. Hoje somos o terceiro pólo mundial do setor, perdendo apenas para China e Índia, com produção anual de cerca de 38 milhões de toneladas. Em 2006, as vendas externas de frutas frescas (exceto laranja) alcançaram US\$ 471,8 milhões, com aumento de 95% em comparação aos US\$ 241 milhões de 2002. De janeiro a abril de 2007 houve um crescimento em torno de 50% no valor das exportações, comparando com o mesmo período do ano anterior, de US\$ 102,3 milhões para US\$ 150,1 milhões (BRASIL, 2007a).

A importância da agregação de valor na fruticultura através do processamento pode ser percebida através da comparação do valor atual do mercado internacional de frutas frescas em torno de US\$23 bilhões e US\$90 bilhões para os produtos processados (VILELA e ARAUJO, 2006).

Os sucos de frutas são consumidos e apreciados em todo o mundo, não só pelo seu sabor, mas também por serem fontes de minerais e vitaminas. Os minerais regulam o metabolismo de diversas enzimas, o equilíbrio ácido-base, a pressão osmótica, a atividade muscular e nervosa, facilitam a transferência de compostos essenciais através das membranas e, em alguns casos, fazem

parte dos elementos constituintes dos tecidos do organismo (SHILS et al., 1994).

A combinação de crescimento do consumo interno e externo de sucos e polpas e a enorme variedade de frutas tropicais passíveis de exploração e de desenvolvimento do Brasil abrem ao país uma janela de oportunidades no que diz respeito à produção e às exportações de sucos e polpas. O estudo revela ainda, que o Brasil exporta relativamente pouco suco e polpas de frutas, mas que “o aumento da produção de frutas tropicais, a adoção de variedades próprias para industrialização e a adoção de tecnologias modernas de produção” poderão aumentar a participação do país no agronegócio mundial. Elementos adicionais como políticas públicas que elevem os incentivos de produção e minimizem as barreiras comerciais impostas pelos importadores potenciais, poderão ser também responsáveis pelo aumento da participação do Brasil no agronegócio mundial de sucos e polpas (IBRAF, 2001).

Estima-se que a produção atual de hortaliças no Brasil seja superior a 11 milhões de toneladas com um valor aproximado de 2,5 bilhões de dólares (NASCIMENTO, 2009). No mercado de hortaliças, o excesso de oferta tende a ocasionar queda acentuada de preços, o que acarreta prejuízos aos produtores e problemas para a situação econômica dos municípios onde essas atividades são importantes. A olericultura (cultura de hortaliças) é o ramo da horticultura que tem o maior número de cultivares explorados, possuindo características marcantes, como ciclo curto, alta produtividade, e está inserida em um contexto de mercado dinâmico (CAMARGO FILHO e MAZZEI, 1994). A produção de polpa e/ou sucos compostos de hortaliças seria uma alternativa para aproveitar o excedente da produção de hortaliças, diminuindo o prejuízo dos produtores causado pela queda dos preços durante a safra e, ainda, proporcionar ao produtor a possibilidade de comercializar o seu produto durante o ano todo.

As hortaliças processadas têm como principal mercado as indústrias de processamento, os mercados institucionais (restaurantes industriais, merenda escolar, forças armadas, hotéis e restaurantes) e as residências dos consumidores, em menor volume. São principalmente usadas na preparação de sopas desidratadas, embutidos, caldos, condimentos, temperos e molhos. (BRAINER et al., 2008).

Os maiores concorrentes dos sucos prontos para beber no Brasil são os refrigerantes. Os brasileiros consumiram mais refrigerantes na metade do ano de 2007 do que no mesmo período de 2006. A produção de refrigerantes aumentou 5,6%. Nos seis primeiros meses de 2007, foram produzidos 7,8 bilhões de litros de refrigerante. O mercado de sucos é mais discreto que o de refrigerantes, porém está em crescimento. Em 2006, a produção de sucos foi de quase 400 milhões de litros, aumentando para 480 milhões de litros em 2008, crescimento de 20%. Os sucos de caixa foram os mais vendidos em 2006, representando em média 80% do total de sucos vendidos. Com relação aos sabores, o de uva foi o favorito, com 23% entre os demais sabores (ABIR, 2007).

2 – UVA, AZEDINHA E ACEROLA

As frutas são excelentes fontes de nutrientes, principalmente vitaminas e sais minerais. Além destes nutrientes, muitas frutas apresentam substâncias com ação medicinal, e seu uso como medicamento é um hábito utilizado pela humanidade há mais de 5.000 anos. Algumas destas frutas já apresentam confirmação científica de seus efeitos terapêuticos, sendo capazes de reduzir riscos de certas doenças; outras estão em fase de pesquisa, e existem ainda aquelas que, apesar de não haver comprovação científica, nem estar em fase de pesquisa, através do conhecimento popular, são amplamente utilizadas pelas populações. A maioria das frutas apresenta propriedades medicinais. Umas são adstringentes, outras emolientes. Umas excitam as funções gástricas, outras ativam as funções intestinais. Umas desintoxicam o organismo, dissolvendo e expelindo substâncias tóxicas; outras suprem o organismo de vitaminas e sais minerais (NASCENTE, 2009).

As diferentes variedades de uvas (*Vitis vinifera L.*), adaptadas a vários tipos de solo e de clima, possibilitam seu cultivo em quase todas as regiões do mundo. A uva é bastante influenciada pelas condições do solo e do clima em que se desenvolvem, apresentando características que as distinguem segundo o sabor, a acidez, a doçura, o formato, a coloração e a resistência da casca, o tamanho, a quantidade de sementes, a forma e o formato dos cachos. A produção nacional de uva está voltada basicamente para dois mercados com características peculiares: vinhos/sucos e mesa. A produção de uva destinada

à indústria de vinhos/sucos tem aumentado nos últimos anos, praticamente se igualando à produção de uva de mesa. O Estado que mais produz é o Rio Grande do Sul (IBGE, 2004).

A uva possui propriedades rejuvenecedoras, diuréticas e depurativas. A fruta pode ser usada como creme nutritivo para a pele (recuperador de cicatrizes profundas, protetor da pele seca e prevenção das estrias), fragilidade capilar, hemorragia uterina, diarreia, disfunção intestinal e laxante suave (NASCENTE, 2009).

Tabela 1. Composição nutricional em 100g de uva e acerola

	Energia (kcal)	CHO (g)	PTN (g)	LIP (g)	Fibras (g)	Vit C (mg)	Vit B2 (mg)	Vit B3 (mg)	Ca (mg)	K (mg)	P (mg)
Uva	49	12,7	0,6	0,2	0,9	1,9	0,02	traços	8	159	23
Acerola	33	8	0,9	0,2	1,5	941,4	0,04	1,38	13	165	9

CHO – carboidrato; PTN – proteína; LIP – lipídeos; Vit – vitamina; Ca – cálcio; K – potássio; P – fósforo.

Fonte: TACO (2006)

A acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) é uma fruta originária das ilhas do Caribe, América Central e norte da América do Sul. É uma excelente fonte de vitamina C (ácido ascórbico), além de ser uma fonte razoável de pró-vitamina A. Também contém vitaminas do complexo B como tiamina (B1), riboflavina (B2) e niacina (B3), e minerais como cálcio, ferro e fósforo, embora os teores sejam baixos (Tabela 1). A acerola apresenta elevado potencial para produtos processados (suco integral e polpa congelada) e indústria farmacêutica. Para uso doméstico, é geralmente consumida ao natural e na forma de sucos, geléias e doces de massa, podendo ser misturada a outros sucos de frutas como laranja, manga e mamão (RITZINGER e RITZINGER, 2004).

Foi apelidada de milagre vegetal e a razão para isso é seu alto teor de vitamina C. Cada 100 mg de polpa de acerola possui até cinco mil miligramas de vitamina C, mais do que cem laranjas. Uma acerola é suficiente para suprir as necessidades diárias de vitamina C de uma criança de 1 ano. (EMBRAPA, 2009). O consumo de acerola é indicado para o combate da gripe e infecções pulmonares, controle de hemorragias nasais e gengivais, auxilia no tratamento de doenças do fígado, além de evitar a perda de apetite e dores musculares

(NASCENTE, 2009). Também possui quantidades significativas de fibras, alta umidade, baixo teor calórico e pouco carboidrato (TACO, 2006).

As hortaliças, assim como a maioria das frutas, são ricas especialmente em vitaminas, sais minerais e fibras. E pobres em calorias. Mas elas devem ser consumidas diariamente, já que estes elementos se consumidos além das necessidades diárias de um indivíduo, não se acumulam no organismo. Segundo a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos, elaborada pela Universidade Estadual de Campinas, hortaliças como alface, acelga e agrião possuem mais de 90% de umidade, poucas calorias, gorduras e proteínas, e quantidades significativas de fibras e minerais. Dentre os minerais, é encontrado cálcio, magnésio, fósforo, ferro e potássio. Dentre as vitaminas, em maior quantidade estão a vitamina C e a tiamina (TACO, 2006).

A azedinha (*Rumex acetosa*) é uma hortaliça produzida no Estado de Minas Gerais e consumida, principalmente, como salada. Suas folhas também podem ser usadas em molhos, sopas, purês ou cozidas como espinafre. É um ótimo ingrediente no preparo de vinagretes e para temperar saladas de folhas, sendo um bom acompanhamento para peixes. As folhas frescas são encontradas em feiras livres e, eventualmente, em supermercados.

Hortaliças de coloração verde-escuro são fontes de carotenóides como luteína (NACHTIGALL et al., 2007). As pesquisas que tratam da azedinha, indicam que suas folhas contêm propriedades medicinais como anti-escorbuto, diurética, levemente laxante, refrescante (CORSI e PAGNI, 1979; TOMEI et al., 1988; TOMEI et al., 1996; GUARRERA, 2004), tônico, antitérmico e atua contra gengivite e estomatite (LEPORATTI e IVANCHEVA, 2003).

3 – COMPONENTES ANTIOXIDANTES E FUNCIONAIS DAS FRUTAS E HORTALIÇAS

Atualmente existe um grande interesse no estudo dos antioxidantes devido, principalmente, às descobertas sobre o efeito dos radicais livres no organismo. A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do nosso metabolismo e, assim, os radicais livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica (BARREIROS et al., 2006).

Oxigênio, um componente vital para a sobrevivência da espécie humana, está presente na atmosfera como um birradical triplete estável ($^3\text{O}_2$). Uma vez inalado, ele sofre um processo gradual de redução até ser metabolizado em água. Nesse processo, como sempre, uma pequena quantidade de intermediários reativos, como o radical superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$), radical hidroxil ($\cdot\text{OH}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) são formados. Essas espécies reativas (radicais livres), coletivamente denominadas espécies reativas de oxigênio, podem facilmente iniciar a peroxidação dos lipídeos componentes das membranas celulares, resultando na acumulação de peróxidos de lipídeos. Os produtos da peroxidação e outros de oxidações secundárias são altamente reativos e esses processos resultam no desenvolvimento de algumas doenças degenerativas, e podem ter uma contribuição significativa para o envelhecimento humano e para aumentar o risco do desenvolvimento de câncer (SATO et al., 1996).

O envelhecimento da célula, dos tecidos e do organismo como um todo, é uma ação destes radicais livres, que por possuírem um elétron livre na última camada são muito instáveis e reativos. Para se estabilizar eles podem ganhar um elétron (reação de redução) ou perder um elétron (reação de oxidação). Os seus efeitos sobre o organismo são, de maneira geral, nocivos e estão relacionados há cerca de 60 condições clínicas, entre elas a catarata, a aterosclerose, o câncer, isquemia e alterações no sistema nervoso (LANGSETH, 1995).

O próprio organismo gera radicais livres, como nas inflamações, na isquemia, estresse físico e/ou emocional. Mas o organismo também pode obtê-los de fontes externas, como na radiação ultravioleta proveniente do sol e outras radiações ionizantes (raios x, radioterapia), poluição, cigarro, entre outras (SATO et al., 1996).

Os responsáveis pelo combate à ação nociva dessas substâncias no organismo são os varredores de radicais livres ou antioxidantes. Existem algumas substâncias que são excelentes antioxidantes naturais, como a vitamina E, a vitamina C e os compostos fenólicos (SILVA 2003).

Os antioxidantes são agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células (BIANCH e ANTUNES, 1999). Uma ampla definição de antioxidante é “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz” (SIES e STAHL, 1995).

Durante a redução do oxigênio molecular, espécies reativas de oxigênio são formadas e existe a necessidade permanente de inativar estes radicais livres. Os danos induzidos pelos radicais livres podem afetar muitas moléculas biológicas, incluindo os lipídeos, as proteínas, os carboidratos e as vitaminas presentes nos alimentos. As espécies reativas de oxigênio também estão implicadas nas várias doenças humanas (BIANCH e ANTUNES, 1999).

As moléculas orgânicas e inorgânicas e os átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados, com existência independente, podem ser classificados como radicais livres (HALLIWELL, 1994). Essa configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativas. A presença dos radicais é crítica para a manutenção de muitas funções fisiológicas normais (POMPELLA, 1997).

O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres tem sido chamado de estresse oxidativo (SIES, 1993). A ocorrência de um estresse oxidativo moderado, freqüentemente é acompanhada do aumento das defesas antioxidantes enzimáticas, mas a produção de uma grande quantidade de radicais livres pode causar danos e morte celular (ANDERSON, 1996).

Para protegê-los destas espécies reativas de oxigênio, o ser humano tem desenvolvido muitos mecanismos efetivos. O mecanismo da defesa antioxidante do corpo inclui enzimas como a superóxido dismutase, catalase e a glutathione peroxidase, e também compostos não enzimáticos, como glutathione e as vitaminas, ou pró-vitaminas, ácido ascórbico, beta-caroteno e alfa-tocoferol (NIJVELDT, 2001).

Os antioxidantes atuam em diferentes níveis na proteção dos organismos. O primeiro mecanismo de defesa contra os radicais livres é impedir a sua formação, principalmente pela inibição das reações em cadeia

com o ferro e o cobre. Eles são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poliinsaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular. Os antioxidantes obtidos da dieta, tais como as vitaminas C, E e A, os flavonóides e carotenóides são extremamente importantes na interceptação dos radicais livres (BIANCH e ANTUNES, 1999)

Outro mecanismo de proteção é o reparo das lesões causadas pelos radicais. Esse processo está relacionado com a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas. Em algumas situações pode ocorrer uma adaptação do organismo em resposta a geração desses radicais com o aumento da síntese de enzimas antioxidantes. (BIANCH e ANTUNES, 1999)

Em adição aos efeitos protetores dos antioxidantes endógenos, a inclusão de antioxidantes na dieta é de grande importância e o consumo de frutas e hortaliças está relacionado com a diminuição do risco do desenvolvimento de doenças associadas ao acúmulo de radicais livres (POMPELLA, 1997).

3.1 – Luteína

A luteína é um pigmento natural, de coloração amarela e está entre os carotenóides da família das xantofilas. Juntamente com a zeaxantina, é o principal pigmento macular contido na retina humana, sendo responsável por duas funções principais: proteger a mácula contra o estresse oxidativo (função antioxidante) e filtrar a luz azul de alta energia, melhorando a acuidade visual (ALTERNATIVE MEDICINE REVIEW, 2005). A luteína, não é sintetizada pelo organismo, assim é necessário que ela seja suprida pela ingestão alimentar (DAVIES e MORLAND, 2004).

Os carotenóides estão presentes em todos os tecidos fotossintéticos, junto com as clorofilas, assim como em tecidos vegetais não fotossintéticos, como componentes de cromoplastos, que podem ser considerados como cloroplastos degenerados. Os carotenóides sempre acompanham a clorofila

em uma relação de três a quatro partes de clorofila por uma parte de carotenóide. O conteúdo de carotenóides das frutas aumenta durante a maturação, se bem que parte da intensificação da cor se deve a perda da clorofila (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2004).

A distribuição de carotenóides entre os diferentes grupos de plantas não apresenta um padrão. Em hortaliças, os principais carotenóides são geralmente luteína, β -caroteno, violaxantina e neoxantina e em pequenas quantidades se encontram zeaxantina, β -criptoxantina e anteraxantina. Em frutas, as xantofilas são encontradas em maior proporção, todavia em alguns casos, os principais pigmentos são os carotenos, como é o caso do licopeno do tomate (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2004).

Estudos epidemiológicos recentes demonstram uma associação entre elevados níveis de carotenóides na dieta ou no sangue e um efeito protetor contra o desenvolvimento de doenças crônicas como certos tipos de câncer, doenças cardiovasculares, doenças degenerativas da mácula e cataratas (EDGE et al., 1997).

De todos os carotenóides presentes no plasma humano, luteína e zeaxantina são os dois encontrados em maior quantidade no globo ocular, mais especificamente na área central da retina e na mácula, constituindo o pigmento macular (PM). Eles são responsáveis pela coloração amarela na região da retina (BEATTY et al., 2004). A luteína é considerada o antioxidante predominante no olho, protegendo os tecidos da oxidação ao filtrar a luz azul e ao neutralizar os radicais livres. A mácula é um dos tecidos mais metabolicamente ativos de todo o organismo, tem grande concentração de ácidos graxos polinsaturados, é bastante susceptível a danos, e possui baixa capacidade de regeneração (DAVIES e MORLAND, 2004). Uma vez estabelecida a doença, não há retorno à visão normal, mesmo com o incremento desses carotenóides na dieta; assim, ocorre apenas uma diminuição ou estabilização na perda progressiva da visão, quando há suplementação de luteína ou zeaxantina após o início do quadro. O efeito protetor pode ser explicado pelo acúmulo seletivo destes carotenóides na retina e por sua densidade na mácula (LANDRUM et al., 1997; BERENDSCHOT et al., 2000).

A luteína atua também como antioxidante e pode estimular o sistema imune e promover proteção contra doenças crônicas (MENESES e TRUGO, 2005). Também há relatos de que ela pode proteger contra câncer (TANUMIHARDJO et al., 2005).

As principais fontes de luteína são as hortaliças folhosas de coloração verde-escura. Os dois alimentos descritos com maior concentração de luteína são o espinafre e a couve. Outras fontes incluem, brócolis, ervilha, couve-de-bruxelas e gema de ovo (KRINSKY et al., 2003).

NIIZU (2003) analisou os alimentos mais consumidos pelos brasileiros, em saladas cruas. Foram analisados: alface lisa, alface crespa, agrião, almeirão, rúcula, cenoura, tomate e pimentão, sendo que este último não demonstrou não possuir em quantidade a luteína. As demais apresentam quantidades significativas, o que recomenda a sua inclusão na dieta alimentar cotidiana dos brasileiros.

Nachtigall et al. (2007) encontraram altos teores de luteína em acelga, agrião, brócolis, couve, espinafre, mostarda e rúcula. Em almeirão, lobrobrô, serralha e taioba, que são hortaliças não-convencionais consumidas em Minas Gerais, foi encontrado teores mais elevados deste carotenóide.

Luteína é um composto lipossolúvel e sua biodisponibilidade depende de uma série de fatores, como fonte dos nutrientes (alimentos ou suplementos), forma de preparo (cru, cozido ou processado), disponibilidade na matriz celular (decorrente da ruptura da célula por trituração ou ação enzimática) e capacidade de absorção pelos enterócitos, principalmente do duodeno (ALTERNATIVE MEDICINE REVIEW, 2005). O processo de cozimento aumenta a biodisponibilidade de luteína nos alimentos, por meio do rompimento da matriz celular e dos complexos protéicos (CASTENMILLER et al., 1999).

De acordo com Krinsky et al. (2003), Alternative Medicine Review (2005) e Krinsky e Johnson (2005), a ingestão de luteína (6 a 20 mg/dia) está associada com aumento na concentração macular desses carotenóides e conseqüente redução na incidência de degeneração macular, bem como de catarata. Doses elevadas, acima de 30 mg/dia podem causar carotenodermia,

assim como ocorre com os demais carotenos, porém níveis de toxidez ainda não foram elucidados.

A degeneração macular relacionada à idade (DMRI) é a principal causa de perda de visão irreversível na população de idade avançada nos EUA e no mundo Ocidental. Dados do Conselho Brasileiro de Oftalmologia estimam que, aproximadamente, 2,9 milhões de brasileiros com mais de 65 anos de idade apresentam casos de DMRI. Essa doença ocular, grave e irreversível, causa cegueira em pessoas na faixa etária acima de 65 anos. Com o aumento da expectativa de vida é natural que o número de casos se eleve, tornando o impacto da DMRI na saúde pública mais severo (LAJOULO, 2004; MOZZAFARIEH et al., 2003).

Como antioxidantes, os carotenóides reagem com os radicais livres de três formas: por transferência de elétrons, retirando hidrogênio ou se juntando ao radical (KRINSKY et al., 2003). Doando um elétron torna-se um cátion, que é a forma preferencial de ação do carotenóide como antioxidante, que depois reage com o ácido ascórbico, retornando facilmente à forma original, de modo que a ação preventiva de se evitar a oxidação de lipídeos, proteínas e ácidos nucléicos fica assim mais eficiente, podendo ser reutilizado o carotenóide. Isso é uma hipótese que pode explicar o poder de prevenir a oxidação irreversível de ácidos graxos poliinsaturados, ácidos nucléicos e proteínas (KRINSKY et al., 2003). Porém, em alta concentração de oxigênio, o comportamento antioxidante do carotenóide diminui (MARTIN et al., 1999).

3.2 – Vitamina C

A vitamina C ou, simplesmente, ácido ascórbico (AA) é uma vitamina hidrossolúvel e termolábil. Os seres humanos e outros primatas são os únicos mamíferos incapazes de sintetizar o AA. Neles, a deficiência, geneticamente determinada, da gulonolactona oxidase, impede a síntese do ácido L-ascórbico a partir da glicose (NISHIKIMI et al., 1994)

As vitaminas C, E e o β -caroteno são considerados excelentes antioxidantes, capazes de seqüestrar os radicais livres com grande eficiência. O uso de medicamentos, o tabagismo, as condições nutricionais, o consumo de

álcool, a poluição do ar e outros fatores, podem diminuir os níveis de antioxidantes celulares (MACHLIN, 1992; ROE, 1992). As defesas antioxidantes do organismo podem ser restabelecidas com dietas apropriadas e suplementos vitamínicos (CARAGAY, 1992; ANDERSON, 1996).

O ácido ascórbico participa dos processos celulares de oxi-redução, como também é importante na biossíntese das catecolaminas. Previne o escorbuto, é importante na defesa do organismo contra infecções e fundamental na integridade das paredes dos vasos sanguíneos. É essencial para a formação das fibras colágenas existentes em praticamente todos os tecidos do corpo humano (derme, cartilagem e ossos) (MANELA-AZULAY, et al., 2003).

A vitamina C atua na fase aquosa como um excelente antioxidante sobre os radicais livres, mas não é capaz de agir nos compartimentos lipofílicos para inibir a peroxidação dos lipídeos (ODIN, 1997). É, geralmente, consumida em grandes doses pelos seres humanos, sendo adicionada a muitos produtos alimentares para inibir a formação de metabólitos nitrosos carcinogênicos. A vitamina C da dieta é absorvida de forma rápida e eficiente por um processo dependente de energia. O consumo de doses altas pode levar ao aumento da concentração dessa vitamina nos tecidos e no plasma sanguíneo (BIANCH e ANTUNES, 1999).

A dose recomendada para manutenção de nível de saturação da vitamina C no organismo é de cerca de 100mg por dia. Em situações diversas, tais como infecções, gravidez e amamentação, e em tabagistas, doses ainda mais elevadas são necessárias (SCHECTMAN, 1993).

Os benefícios obtidos na utilização terapêutica da vitamina C em ensaios biológicos com animais incluem o efeito protetor contra os danos causados pela exposição às radiações e medicamentos (AMARA-MOKRANE et al., 1996). Os estudos epidemiológicos também atribuem a essa vitamina um possível papel de proteção no desenvolvimento de tumores nos seres humanos (LUPULESCU, 1993; DUTHIE et al., 1996).

O câncer é uma síndrome que envolve várias etapas, em geral alinhadas em três estágios definidos como iniciação, promoção e progressão. A fase de

iniciação está associada com dano irreversível no material genético da célula, muitas vezes devido ao ataque de radicais livres (ANDERSON, 1996). Desse modo, os nutrientes antioxidantes poderiam reduzir o risco de câncer inibindo danos oxidativos no DNA (CERUTTI,1994; COZZI et al.,1997; POOL-ZOBEL et al.,1997), sendo portanto considerados como agentes potencialmente quimiopreventivos (BONNE et al.,1990).

Os possíveis efeitos anticarcinogênicos da vitamina C estão relacionados com sua habilidade em detoxicar substâncias carcinogênicas e por sua atividade antioxidante (STAHL e SIES, 1997). Além disso, tem-se constatado que a vitamina C pode inibir a formação de nitrosaminas *in vivo* a partir de nitratos e nitritos usados como conservantes, sendo adicionada a muitos produtos alimentares industrializados para prevenir a formação desses compostos reconhecidamente carcinogênicos (KUHN et al.,1991; BIANCHI e ANTUNES, 1999). As maiores fontes alimentares são as frutas, especialmente a acerola, o caju e a goiaba, e hortaliças como brócolis, couve e couve-flor.

3.3 – Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos em alimentos originam-se de uma das principais classes de metabólitos secundários dos vegetais, são essenciais para o crescimento e reprodução das plantas e também agem contra o ataque de parasitas e patógenos (SILVA, 2003).

Os compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário das plantas (SÁNCHEZ-MORENO, 2002). São classificados em pelo menos 10 grupos diferentes, dependendo da sua estrutura química. Quimicamente, podem ser definidos como substâncias que possuem um anel aromático ligado a um ou mais substituintes hidroxila, incluindo seus derivados funcionais (SHAHIDI e NACZK, 1995). A maioria dos vegetais, se não todos, contém polifenóis os quais se diferenciam um dos outros, sendo assim muitos dos fenólicos alimentícios são solúveis em água e outros solventes orgânicos. Fenólicos encontrados em alimentos geralmente pertencem à classe dos ácidos fenólicos, flavonóides, lignanas, estibenos, coumarinas e taninos (SHAHIDI e NACZK, 1995).

Alimentos comuns, como uva e seus produtos derivados, contêm uma grande variedade de compostos fenólicos em quantidades variando de traços a alguns gramas por quilograma do alimento fresco. Tem sido relatado que estes compostos têm demonstrado possuir múltiplos efeitos biológicos como atividade antioxidante, ação antiinflamatória, inibição da agregação de plaquetas nos vasos sanguíneos e atividade antimicrobiana (MAZZA et al., 1999).

Os compostos fenólicos se incluem principalmente na categoria de seqüestradores de radicais livres, ainda que também possam exercer sua ação antioxidante através de outros mecanismos, como quelantes de íons metálicos que catalisam reações de oxidação. Estes compostos interferem na oxidação dos lipídeos e de outras moléculas por uma rápida doação de um átomo de hidrogênio aos radicais livres. Os radicais fenóxidos formados são intermediários bastante estáveis (ressonância com o anel benzênico) e dificilmente iniciam uma nova reação em cadeia. Estes radicais intermediários fenóxidos atuam reagindo com outros radicais livres, culminando com a terminação das reações de propagação (SÁNCHEZ-MORENO, 2002).

Segundo Landrault et al., (2001), os flavonóides apresentam uma relativa lipofilicidade dentre os antioxidantes naturais, ainda que bem menos que o α -tocoferol. O α -tocoferol parece estar localizado na membrana lipídica da bicamada fosfolipídica, já os flavonóides estão provavelmente localizados na superfície da bicamada. Os radicais livres, que são hidrofílicos, são transportados na parte aquosa do sangue, o plasma, sendo assim seriam capturados mais facilmente pelos flavonóides que pelo α -tocoferol (menos acessível).

Assim, os flavonóides poderiam ser encontrados próximos à superfície membranosa das partículas de LDL, prontos para capturar os radicais livres. Desta maneira eles preveniriam o consumo do α -tocoferol lipofílico e assim, retardariam a oxidação dos lipídeos contidos no LDL (LANDRAULT et al., 2001).

O interesse em compostos fenólicos em alimentos alcançou um novo patamar nos últimos anos. Subtraindo o interesse acadêmico usual na biologia

e química de descoberta e identificação de compostos fenólicos na natureza, tem-se notado que a ciência, juntamente ao interesse comercial, está buscando acentuar estudos e trabalhos sobre estes compostos, de modo a agregar um valor a mais ao alimento, principalmente com efeitos que tragam benefícios à saúde (SILVA, 2003).

4 – DELINEAMENTO DE MISTURAS

Normalmente, as características de qualidade de produtos alimentícios são fortemente dependentes da proporção individual de cada ingrediente presente nas formulações. O uso de delineamentos de mistura e suas análises correspondentes são importantes no desenvolvimento e otimização de produtos alimentícios (DINGSTAD et al., 2004).

O desenvolvimento de novos produtos, além de considerações técnicas, legais e mercadológicas, requer também processos de otimização que possam buscar melhores condições de processamento e formulação, com alta qualidade e baixo custo (CASTRO et al., 2003).

A metodologia de superfície de resposta é, atualmente, o mais popular conjunto de técnicas para otimização. A primeira etapa desta técnica consiste na escolha de um delineamento experimental seguida de modelagem matemática, que é realizada ajustando-se modelos lineares ou quadráticos a resultados experimentais, obtidos por meio de planejamentos fatoriais com ou sem ampliação (BARROS NETO et al., 2001). Após esta etapa é possível deslocar-se sobre a superfície de resposta ajustada, a fim de localizar regiões que satisfaçam condições de interesse.

Um grande problema na área de alimentos é a multiplicidade de respostas. Assim, no desenvolvimento de formulações alimentares, por exemplo, o custo dos ingredientes, bem como, as propriedades funcionais, sensoriais e nutricionais do produto requer tratamento conjunto (CARNEIRO et al., 2005).

A metodologia de delineamento de misturas é uma importante área dentro da estatística aplicada. Seus métodos são de vital importância na ciência e indústria de alimentos, uma vez que todos os alimentos são formados

pela mistura de diversos ingredientes. Ao contrário das técnicas de delineamento fatorial, estes métodos respeitam a restrição entre os ingredientes, tanto na montagem do delineamento quanto na análise dos resultados. Na maioria dos casos, os ingredientes somam 100%, mas outras opções existem. Também é possível combinar as variáveis de mistura com outras variáveis que não estão sujeitas a quaisquer outras restrições que os limites práticos externos (CORNELL, 1990).

As proporções das misturas de polpa de cenoura, manga e laranja para desenvolvimento de suco misto, de Branco e Gasparetto (2003), foram definidas empregando-se a metodologia de superfície de resposta para mistura, conhecido como delineamento simplex centróide. Foram definidas as proporções mínimas de cada polpa e as 10 composições calculadas em termos de pseudo-componentes. O pseudo-componente é definido como a combinação do componente original.

O emprego da modelagem matemática e de processos de otimização de formulações alimentícias pode ser um importante diferencial para a avaliação da qualidade nutricional e sensorial de alimentos para diversos fins. A facilidade de avaliação multifatorial, usando técnicas de modelagem matemática, amplia a gama de conhecimentos para o pesquisador porque fornece ferramentas capazes de correlacionar múltiplos fatores. No caso da nutrição e alimentação, inclui os hábitos alimentares dos indivíduos, as quantidades de nutrientes presentes nas dietas e alimentos, os fatores econômicos e culturais das populações de estudo, a agricultura local e o favorecimento climático para a oferta de alimentos (FERGUSON et al., 2006).

5 – ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial é a ciência que estuda as reações às características de alimentos e outros materiais da forma como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (MINIM, 2006).

O consumidor é um provador sensorial em potencial, tendo o poder de decidir o que irá consumir, o que levará para sua residência e como utilizará o produto. O consumidor está ampliando sua consciência de consumo, exigindo

qualidade nos produtos e buscando maior diversificação nas prateleiras, bem como produtos de fácil preparo com rapidez e praticidade, mas respeitando as características sensoriais e nutricionais esperadas.

O fator determinante para a aceitação dos produtos de origem alimentícia é a aparência, ou seja, a coloração, forma e embalagem, seguida pelo aroma, sabor e textura. A análise sensorial trabalha de forma sincronizada com estes atributos sensoriais, buscando atender às necessidades dos consumidores e dos produtores (PEDRÃO e CORÓ, 1999).

É importante ressaltar, que a qualidade sensorial é uma resposta individual, que varia de indivíduo para indivíduo, em função das experiências, da expectativa, do grupo étnico e de preferências individuais. Dessa forma, ao avaliar a aceitação de um alimento, o analista sensorial deve realizá-lo junto à população de indivíduos a quem o produto de fato se destina, para que ele possa obter resultados confiáveis em relação à aceitabilidade do alimento (LAUGERETTE et al., 2007).

Na realidade, o ser humano não se alimenta somente para suprir seu organismo no aspecto nutricional, e sim por prazer. Portanto, o produto deve apresentar atributos sensoriais que o agradem, tais como textura, aroma, sabor, entre outros (PEDRÃO e CORÓ, 1999).

5.1 – Teste de Aceitação

Os métodos subjetivos medem o quanto uma população gostou de um produto utilizando testes de aceitação para avaliar a aceitabilidade deste alimento (DUTCOSKY, 1996).

Aceitabilidade pode ser definida como uma experiência caracterizada por uma atitude positiva e/ou pela utilização atual do produto que é o hábito de comprar ou consumir um alimento (DUTCOSKY, 1996).

As escalas utilizadas nos teste de aceitação podem ser balanceadas ou não-balanceadas. As escalas balanceadas são as mais empregadas, sendo consideradas mais discriminativas e questionadoras por apresentarem igual

número de categorias positivas e negativas, e termos igualmente espaçados (MINIM, 2006).

A escala hedônica foi desenvolvida para avaliar a aceitabilidade de alimentos militares. Estudando diferentes termos e categorias e variando seu comprimento, foi gerada uma escala com nove pontos ou categorias e nove afirmações. Desde seu desenvolvimento tem sido utilizada extensivamente com uma variedade de produtos e com considerável sucesso. É uma escala facilmente compreendida pelos consumidores, onde o consumidor expressa sua aceitação pelo produto seguindo uma escala previamente estabelecida que varia gradativamente, com base nos atributos “gosta” e “desgosta” (MINIM, 2006).

5.2 – Atributos Sensoriais

5.2.1 – Sabor

Popularmente, a definição de gosto e sabor são confundidas, porém podemos dizer que gosto é a sensação percebida pelos órgãos gustativos (papilas gustativas) quando estimulados por determinadas substâncias solúveis. Engloba a percepção dos gostos primários. O sentido do gosto olfato é chamado sentido químico, porque seus receptores, papilas gustativas, são excitados por estimulantes químicos. Sabor é uma experiência mista, mas unitária, das sensações gustativas, olfativas e trigeminal. Pode ser influenciado pelos efeitos táctil, térmico, doloroso, cinestésico e pela taxa de compostos aromáticos liberados durante a mastigação. As sensações de sabor podem ser, por exemplo, alcalina (sensação escorregadia), adstringente (contração da mucosa da boca), picante (ardor), pungente (dor provocada pelo CO₂ de bebidas), frio (mentol), entre outras (CHAVES, 2000).

As condições da boca afetam a percepção do gosto como: temperatura, meio de dispersão, interação de gostos e a presença de outras substâncias providas de sabor na solução a ser provada (DELLA MODESTA, 1994).

O máximo de sensibilidade e habilidade sensorial ocorre entre 10° C e 35° C. Com o aumento da temperatura, há um aumento na sensibilidade para o doce e diminuição para o salgado e o amargo. Por isso recomenda-se testar

um produto na temperatura em que ele é consumido. O grau de diluição de uma substância com a saliva determina a sua velocidade de percepção. Uma solução de sacarose 50% pode ser percebida extremamente doce, no entanto, balas com aproximadamente 100% de açúcar não o são. Pode haver influência na percepção de um gosto devido a outro. Por exemplo: o ácido cítrico em pequena quantidade aumenta a doçura da sacarose. Porém, à medida que aumentamos a quantidade do ácido, a intensidade do gosto doce diminui. Em geral sais e ácidos aumentam um ao outro a concentrações moderadas, mas suprimem um ao outro a concentrações mais altas. Combinações amargas e ácidas ou podem aumentar ou podem suprimir um ao outro dependendo das concentrações. Sais de sódio e combinações amargas geralmente interagem de forma que amargura é suprimida a algum grau variável e o salgado não é afetado (CHAVES, 2000; BRESLIN, 1996).

5.2.2 - Coloração

A cor é um aspecto da percepção visual, cuja definição e quantificação são difíceis. Fisicamente, cor é uma característica da luz, mensurável em termos de intensidade (energia radiante) e comprimento de onda. Fisiologicamente, é limitada a banda do espectro no intervalo de 380 a 770 nanômetros, uma vez que o olho humano é praticamente insensível a outros comprimentos de onda de energia radiante (KRAMER e TWIGG, 1962).

A percepção da cor é limitada pela existência de uma fonte de luz. Tal luz pode ser refletida, transmitida, absorvida ou refratada pelo objeto que está sendo iluminado. Quando praticamente toda energia radiante do espectro visível é refletida por uma superfície opaca, o objeto é visto branco. Se a luz é parcialmente absorvida, de forma homogênea através de todo espectro visível, o objeto é cinza. Se a absorção é praticamente completa, o resultado é um objeto negro. Se, no entanto, a energia radiante é absorvida em certo comprimento de onda de forma mais pronunciada que em outros, o observador humano vê o que popularmente é conhecido como cor, fisicamente como o comprimento de onda dominante ou fisiologicamente como tonalidade (KRAMER e TWIGG, 1962).

Cada objeto absorve e reflete luz em diferentes porções do espectro e em quantidades diferentes. Essa diferença na absorbância e reflectância é que torna diferentes as cores de alimentos distintos. Na análise objetiva de cores de objetos opacos, como na maioria dos alimentos, a reflexão possui maior importância, uma vez que sua reflectividade é que será medida. O alimento absorve parte dos comprimentos de onda da fonte de luz e reflete o restante. Essa luz refletida entra no olho humano e estimula a retina, sendo esse estímulo interpretado pelo cérebro como cor do objeto (RAMOS e GOMIDE, 2007).

De todas as coleções (atlas) de cores que surgiram com o passar dos anos, o Sistema de Aparência e Cor desenvolvido por Albert Munsell, em 1905, é um dos melhores, sendo utilizado como padrão para uniformidade de outros sólidos de cor. Munsell foi um dos primeiros pesquisadores a descrever a cor em termos de um sólido tridimensional, introduzindo a cor como consistindo de três atributos:

- Tonalidade (Hue) – primeiro atributo de cor a ser mencionado, é a grandeza que caracteriza a qualidade da cor (vermelho, verde, azul, etc.), permitindo diferenciá-la. A tonalidade de uma cor, representada pelo símbolo h , está associada a certo comprimento de onda do espectro visível.
- Saturação (Chroma) – descreve a intensidade ou quantidade de uma tonalidade, indicando a proporção em que ela está misturada com o branco, preto ou cinza. Também chamada de pureza ou intensidade da cor, é a qualidade que nos permite distinguir cores fortes de fracas. Assim, cores que apresentam baixo valor para saturação são chamadas de pálidas ou acinzentadas, enquanto aquelas com alto valor de saturação, são denominadas saturadas. A saturação é representada pelo símbolo C .
- Luminosidade (Value) – representada pelo símbolo L , a luminosidade caracteriza o grau de claridade da cor, indicando se as cores são claras ou escuras. A luminosidade varia de preto a branco, estando associada à sensação produzida por uma superfície com esta cor quando iluminada por uma luz branca de intensidade constante. Assim, este atributo diz respeito à forma

com que vemos as diferenças relativas à presença de luz branca, não tendo relação com o tipo de fonte ou intensidade de luz empregada. Existe diferença entre luminosidade e brilho. A luminosidade é relativa ao brilho, mas representa a proporção de luz refletida e, portanto, não é afetada pela intensidade de iluminação, como ocorre com o brilho (RAMOS e GOMIDE, 2007).

O índice de saturação (C^*) corresponde ao comprimento da projeção da localização da cor no plano (a^* , b^*), ou seja, o comprimento do vetor.

$$C^*=[(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$$

O ângulo de tonalidade, através do qual se pode estimar a posição de uma amostra no sólido de cor. Esse ângulo (radianos) é definido pela equação:

$$h^* = \arctang(b^*/a^*)$$

Por meio do ângulo de tonalidade pode-se estimar a cor predominante do objeto analisado da seguinte forma: vermelho (330° a 25°), laranja (25° a 70°), amarelo (70° a 100°), verde (100° a 200°), azul (200° a 295°) e violeta (295° a 330°) (RAMOS e GOMIDE, 2007).

A cor dos alimentos é um importante atributo de qualidade, não só servindo de base para a identificação e a aceitação de grande variedade de produtos, mas também influenciando negativa ou positivamente na percepção dos demais atributos sensoriais (PONTES, 2004).

A cor é apreciada pelo seu valor estético intrínseco e também como base para a identificação e julgamento de qualidade. A cor é um fator decisivo no momento da escolha de um produto; nosso primeiro contato com o alimento é feito através da cor (MASCARENHAS, 1998).

6 – LEGISLAÇÃO

O órgão responsável pela regulamentação de produtos de origem vegetal no Brasil é o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A Lei nº 8918 do MAPA define suco misto como o suco obtido pela mistura de duas ou mais frutas e das partes comestíveis de dois ou mais

vegetais, ou dos seus respectivos sucos, sendo a denominação constituída da palavra suco, seguida da relação de frutas e vegetais utilizados, em ordem decrescente das quantidades presentes na mistura (BRASIL, 1994).

A legislação brasileira para suco tropical estabelece a quantidade mínima de 50% (m/m) de polpa para compor o suco pronto para beber, ressalvado o caso de fruta com acidez alta ou conteúdo de polpa muito elevado ou sabor muito forte que, neste caso, o conteúdo de polpa não deve ser inferior a 35% (m/m). É obrigatória a declaração, na lista de ingredientes, dos nomes das frutas que compõem o produto, em ordem decrescente de suas quantidades (BRASIL, 2003).

As características físicas, químicas e organolépticas do suco misto devem manter a mesma proporcionalidade com as quantidades de cada polpa de fruta que o compõe; seguindo a legislação sobre padrões de identidade e qualidade para sucos de frutas. O suco deve ser conservado por meios físicos adequados ou por meio de conservadores químicos autorizados para sucos de frutas (BRASIL, 2003; BRASIL, 1999b).

A regulamentação brasileira de alimentos funcionais é feita pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). A resolução nº 19 (1999) define alegação de propriedade funcional como aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano. Diferente de alegação de propriedade de saúde que é aquela que afirma, sugere ou implica a existência de relação entre o alimento ou ingrediente com doença ou condição relacionada à saúde (BRASIL, 1999a).

A alegação de propriedade funcional permitida pela ANVISA para luteína é a seguinte: “a luteína tem ação antioxidante que protege as células contra os radicais livres. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”. Como requisito exigido deve ser declarada no rótulo a quantidade de luteína contida na porção do produto pronto para consumo, próximo à alegação. No caso de produtos nas formas de cápsulas, tabletes, comprimidos e similares, deve-se declarar a quantidade de luteína na recomendação diária do produto pronto para o consumo, conforme

indicação do fabricante. Apresentar o processo detalhado de obtenção e padronização da substância, incluindo solventes e outros compostos utilizados, apresentar laudo com o teor do(s) resíduo(s) do(s) solvente(s) utilizado(s) e apresentar laudo com o grau de pureza do produto (ANVISA, 2009).

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIR – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE REFRIGERANTES E DE BEBIDAS NÃO-ALCOÓLICAS. A indústria de refrigerantes e de bebidas não-alcoólicas do Brasil – 2007. Disponível em:

<http://www.abir.org.br/rubrique.php3?id_rubrique=180&var_recherche=segmentos+de+mercado>. Acesso em 18/02/2009.

ACCARINE, J.H. Pontos de estrangulamento. **Revista Agroanalysis**, Rio de Janeiro, v.20, n.2, p. 32-36, 2000.

ALTERNATIVE MEDICINE REVIEW. Lutein and Zeaxanthin – Monograph. **Alternative Medicine Review**, v.10, n.2, p.128-135, 2005.

AMARA-MOKRANE, Y.A.; LEBUCHER-MICHEL, M.P.; BALANSARD, G.; DUMÉNIL, G.; BOTTA, A. Protective effects of α -hederin, chlorophyllin and ascorbic acid towards the induction of micronuclei by doxorubicin in cultured human lymphocytes, **Mutagenesis** 11, pp. 161–167, 1996.

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation Research**, Amsterdam, v.350, n.1, p.103-108, 1996.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos**: lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em 02/02/2009.

ARAÚJO, A.C.; KHAN, A.S.; SILVA, L.M.R.; VALENÇA, L.H.R.; CARVALHO, R.M; VALLE, R.R. O agrobusiness de polpa de frutas no estado da Bahia. **Anais do Congresso brasileiro de economia e sociologia rural**, Foz do Iguaçu. 1999.

BARREIROS, A.L.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, Vol. 29, No. 1, 113-123, 2006.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: Unicamp. 401 p., 2001.

BEATTY, S.; NOLAN, J.; KAVANAGH, H.; O'DONOVAN, O. Macular pigment optical density and its relationship with serum and dietary levels of lutein and zeaxanthin. **Archives of Biochemistry and Biophysics** n. 430, p. 70–76, 2004.

BERENDSCHOT, T.T.J.M.; GOLDBOHM, R. A.; KLOPPING, W.A.A; KRAATS, J.V.; NOREL, J.V.; NORREN, D.V. Influence of lutein supplementation on macular pigment, assessed with two objective techniques. **Investig. Ophthalmol. Visual Sci.**, v. 41, p. 3322-3326, 2000.

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

BONNE, C.W., KELLOFF, G.J., MALONE, W.E. Identification of candidate cancer chemopreventive agents and their evaluation in animal models and human clinical trials: a review. **Cancer Research**, Philadelphia, v.50, n.1, p.2-9, 1990.

BRAINER, M.S.C.P.; CARNEIRO, W.M.A.; SANTOS, J.A.N.; SOUZA, G.S.; SILVA, C.E.G. A agroindústria de alimentos de frutas e hortaliças no Nordeste e Norte dos estados de Minas Gerais e Espírito Santo. **Anais XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**. Rio Branco – Acre, 20 a 23 de julho de 2008.

BRANCO, I.G.; GASPARETTO, C.A. Aplicação da metodologia de superfície de resposta para o estudo do efeito da temperatura sobre o comportamento reológico de misturas ternárias de polpa de manga e sucos de laranja e cenoura. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 23(Supl): 166-171, dez. 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Fruticultura**, O setor produtivo da fruticultura. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 14/03/2008; 2007a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Secretaria de Relações Internacionais do Agronegócio**. Balança Comercial do Agronegócio, 2007. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 14/03/2008; 2007b.

BRASIL. 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 e Néctar Tropicais. 09/09/2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução nº 19, de 30 de abril de 1999**. Aprova o Regulamento Técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. Diário Oficial da União, Brasília, 1999a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 12, de 10 de setembro de 1999**. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade Gerais para Suco e Néctar Tropicais. 13/09/1999b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 2.314 de 5 de setembro de 1997**. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. 05/09/1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994**. Estabelece as normas gerais sobre registro, padronização, classificação e, ainda, inspeção e fiscalização da produção e do comércio de bebidas. 15/07/1994.

BRESLIN, P. Interactions among salty, sour and bitter compounds. **Food Science & Technology**. v. 7, n. 12, p. 390-399, 1996.

CAMARGO FILHO, W.P.; MAZZEI, A.R. Hortaliças prioritárias no planejamento da produção orientada: estacionalidade da produção e dos preços. **Informações Econômicas**, SP, v.24, n.12, dez. 1994.

CARAGAY, A.B. Cancer preventive foods and ingredients. **Food Technology**, Chicago, v.46, p.65-68, 1992.

CARNEIRO, R.L.; SILVA, R.S.S.F.; BORSATO, D.; BONA, E. Métodos de gradiente para otimização simultânea: estudo de casos de sistemas alimentares **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 3, p. 353-362, jul./set. 2005.

CASTENMILLER, J.J.M.; WEST, C.E.; LINSSEN, J.P.H.; van het HOF K.H.; VORAGEN, A.G.J. The food matrix of spinach is a limiting factor in determining the bioavailability of β -carotene and to a lesser extent of lutein in humans. **J. Nutr.**, v. 129, p. 349-355, 1999.

CASTRO, I. A.; SILVA, R. S. F.; TIRAPEGUI, J.; BORSATO, D.; BONA, E. Simultaneous optimization of response variables in protein mixtures formulation: constrained simplex method approach, **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 38, p. 103-110, 2003.

CERUTTI, P.A. Oxy-radicals and cancer. **Lancet**, London, v.344, n.8926, p.862-863, 1994.

CHAVES, B. **Manual de Análise Sensorial. Apostila**. Viçosa. Imprensa universitária. Universidade Federal de Viçosa, MG. 117 p. 2000.

CHITARRA, M.I.F. Colheita e qualidade pós-colheita de frutas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.17, n.179, p.11-26, 1994.

CORNELL, J.A. **Experiments with Mixtures**. Designs, Models and the Analysis of Mixture Data, 2nd ed., Wiley-Interscience, 1990.

CORSI G.; PAGNI A.M. **Piante selvatiche di uso alimentare in Toscana**. Pisa: Pacini, 1979.

COZZI, R., RICORDY, R., AGLITTI, T., GATTA, V., PERTICONE, P., DE SALVIA, R. Ascorbic acid and β -carotene as modulators of oxidative damage. **Carcinogenesis**, London, v.18, n.1, p.223-228, 1997.

DAVIES, N.P.; MORLAND, A.B. Macular pigments: their characteristics and putative role. **Progress in Retinal and Eye Research**, v.23, p.533-559, 2004.

DELLA MODESTA, R. C. **Manual de análise sensorial de alimentos e bebidas**. (Tomo I). Rio de Janeiro, EMBRAPA - CTAA. 115 p. 1994.

DINGSTAD, G.I.; WESTAD, F.; NÆS, T. Three case studies illustrating the properties of ordinary and partial least squares regression in different mixture models. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems** 71 p.33–45. 2004.

DONADIO, L.C. Produtividade qualidade e diversificação. **Revista Frutas & Cia**, São Paulo, n.1, p.4-6, 2000.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba. Ed. Champagnat, 123p. 1996.

DUTHIE, S.J., MA, A., ROSS, M.A., COLLINS, A.R. Antioxidant supplementation decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes. **Cancer Research**, Baltimore, v.56, n.6, p.1291-1295, 1996.

EDGE R, MC GARVEY DJ, TRUSCOTT TG. The carotenoids as anti-oxidants – A review. **J Photoch Photobiol B Biology**; 41:189-200, 1997.

EMBRAPA – MANDIOCA E FRUTICULTURA TROPICAL. **Acerola**. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br/index.php?p=pesquisaculturas_pesquisadas-acerola.php&menu=3>. Acesso em: 10/02/2009.

FERGUSON, E. L.; DARMON, N.; FAHMIDA, U.; FITRIYANTI, S.; HARPER, T. B.; PREMACHANDRA. Design of Optimal Food-Based Complementary Feeding Recommendations and Identification of Key "Problem Nutrients" Using Goal Programming I. M.; **J. Nutr.**, 136, 2399-2404. 2006.

GUARRERA, P.M. Food medicine and minor nourishment in the folk traditions of Central Italy (Marche, Abruzzo and Latium). **Fitoterapia** 74, 515–544. 2004.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, New York, v.52, n.8 p.253-265, 1994.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa Agrícola Municipal**, v.31, 2004. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2004/comentario.pdf>> Acesso em: 10/02/2009.

IBRAF. **Cadeia produtiva da fruticultura: termo de referência**. Brasília: IBRAF – Instituto Brasileiro de Frutas, 2001.

KRAMER, A, & TWIGG, B. A. **Fundamentals of quality control for the food industry**. West Port, CT: AVI Publishing Co. p. 512. 1962.

KRINSKY, N.I., JOHNSON E.J. Carotenoid Actions and their Relation to Health and Disease. **Mol Aspects Med**, v.26, n.6, p.459-516, 2005

KRINSKY, N.I.; LANDRUM, J.T.; BONE, R.A. Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 23, p. 171-201, 2003.

KUHN, R.E., GUZMÁN-SILVA, M.A., GUIMARÃES, J.S.P. Dialquilnitrosaminas e câncer. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v.37, n.1/4, p.19-26, 1991.

LAJOLO, F. **Zeaxantina e luteína reduzem riscos de degeneração macular**. Disponível em: http://www.nutricaoempauta.com.br/lista_artigo.php?cod=325. Acesso em: 28/09/2008.

LANDRAULT, N.; POUCHERET, P.; RAVEL, P.; GASE, F.; CROS, G.; TEISSEDE, P.L. antioxidant capacities and phenolics level of French wines from different varieties and vintages. **J. Agric. Food Chem**, n.49, p.3341-3348, 2001.

LANDRUM, J.T.; BONE, R.A.; JOA, H.; KILBURN, M.D.; MOORE, L.L.; SPRAGUE, K.E. A one year study of the macular pigment: the effect of 140 days of a lutein supplement. **Exp. Eye Res.**, v. 65, p. 57-62, 1997.

LANGSETH, L. Oxidants, antioxidants, and disease preventions. In BRACCO, U. **ILSI Europe concise monograph series**. Washington ILSI Press. 1995.

LAUGERETTE, F.; GAILLARD, D.; PASSILLY-DEGRACE, P.; NIOT, I.; BESNARD, P. Do we taste fat? **Biochimie**, v.89, p.265-269, 2007.

LEPORATTI, M.L.; IVANCHEVA, S. Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy. **Journal of Ethnopharmacology** 87, 123–142. 2003.

LUPULESCU, A. The role of vitamins A, b-carotene, E and C in cancer cell biology. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, Bern, v.63, n.3, p.3-14, 1993.

MACHLIN, L.J. Introduction. **Annals of the New York Academy Sciences**, New York, v.669, n.4, p.1-6, 1992.

MANELA-AZULAY, M.; MANDARIM-DE-LACERDA, C.A.; PEREZ, M.A.; FILGUEIRA, A.L.; CUZZI, T. Vitamina C. **An bras Dermatol**, Rio de Janeiro, 78(3):265-274, maio/jun. 2003.

MARTIN, H-D, RUCK, C. SCHMIDT, M. SELL, S. BEUTNER, S.; MAYER, B.; WALSH, R. Chemistry of carotenoid oxidation and free radical reactions. **Pure Appl. Chem.** 71, p.2253–2262, 1999.

MASCARENHAS, J.M.O. **Corantes em Alimentos: perspectivas, uso e restrições**. Dissertação de Mestrado. Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, DTA/UFV, 1998.

MAZZA, G.; FUKUMOTO, L.; DELAQUIS, P.; GIRARD, B.; EWERT, B. Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia. **J. Agric. Food Chem.** n.47, p.4009-4017, 1999.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A.J.; VICARIO, I.M.; HEREDIA, F.J.. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides **Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN)**. v.54 n.2 Caracas jun. 2004

MENESES, F.; TRUGO, N.M.F. Retinol, β -carotene, and lutein + zeaxanthin in the milk of Brazilian nursing women: associations with plasma concentrations and influences of maternal characteristics. **Nutrition Research** n. 25, p. 443-451, 2005.

MINIM, V. P. R (Ed) **Análise Sensorial – Estudo com Consumidores**. Viçosa: Ed. UFV, 225p. 2006.

MOZAFFARIEH, M.; SACU, S.; WEDRICH, A. The role of carotenoids, lutein, and zeaxanthin, in protecting against age-related macular degeneration: A review based on controversial evidence. **Nutrition Journal**, 2:20. 2003.

NACHTIGALL, A.M.; STRINGHETA, P.C; FIDELIS, P.C.; NACHTIGALL, F.M. Determinação do teor de luteína em hortaliças. **B.CEPPA**, Curitiba v.25, n.2, jul./dez. 2007.

NASCENTE, A.S. Embrapa Rondônia. **Uso medicinal de frutas**. Embrapa Rondônia. Disponível em:
<http://www.cpafrro.embrapa.br/embrapa/Artigos/uso_medic.htm>. Acesso em: 11/02/2009.

NASCIMENTO, W.M. **Novos rumos na produção de hortaliças**. Embrapa Hortaliças. Disponível em:
<<http://www.cnph.embrapa.br/public/textos/texto1.html>> Acesso em: 11/02/2009.

NIIZU, P. Y. **Fontes de carotenóides importantes para a saúde humana**. 76 f. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Faculdade de Engenharia de alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2003.

NIJVELDT, J.R.; NOOD, E.V.; HOORN, D.E.V.; BOELEN, P.G.; NORREN, K.V.; LEEUWEN, P.V. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **Am J Clin Nutr.**; 74:418–25. 2001.

NISHIKIMI, M.R.; FUKUYAMA, S.; MINOSHIMA, N.; SHIMIZU, K.; YAGI. Cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L-gulonogamma-lactone oxidase, the enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in man. **J Biol Chem**; 269(18):13685-13688. 1994.

ODIN, A.P. Vitamins as antimutagens: advantages and some possible mechanisms of antimutagenic action. **Mutation Research**, Amsterdam, v.386, n.1, p.39-67, 1997.

PEDRÃO, M.R.; CORÓ, F.A.G. Análise sensorial e sua importância na pesquisa de alimentos. **UNOPAR Cient., Ciênc. Biol. Saúde**, Londrina, v.1, n.1, p. 85-89, out. 1999.

POMPELLA, A. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. **International Journal of Vitamin and Nutrition Research**, Bern, v.67, n.5, p.289-297, 1997.

PONTES, L.V. **Avaliação sensorial e instrumental da cor de misturas em pó para refresco, bebida isotônica e gelatina utilizando corantes naturais**. Dissertação de Mestrado. Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, DTA/UFV, 2004.

POOL-ZOBEL, B.L., BUB, A., MÜLLER, H., WOLLOWSKI, I., RECHKEMMER, G. Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first results of a human intervention trial with carotenoid-rich foods. **Carcinogenesis**, London, v.18, n.9, p.1847-1850, 1997.

RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. Avaliação Objetiva da Cor. In: **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologias**. Cap.7, ed. UFV, Viçosa-MG, p. 287-370, 2007.

RITZINGER, R. e RITZINGER, C.H.S.P. **Acerola — Aspectos Gerais da Cultura**. Embrapa Mandioca e Fruticultura. N.9, outubro, 2004. Disponível em: http://www.cnpmf.embrapa.br/publicacoes/produto_em_foco/acerola_09.pdf
Acesso em: 10/02/2009.

ROE, D.A. Effects of drugs on vitamins needs. **Annals of the New York Academy Sciences**, New York, v.669, p.156- 163, 1992.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Compuestos polifenólicos: efectos fisiológicos. Atividade antioxidante. **Alimentaria**, p.29-40. 2002.

SATO, M.; RAMARATHNAM, N.; SUZUKI, Y.; OHKUBO, T. Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. **J. Agric. Food. Chem**, n.44, p.37-41, 1996.

SCHECTMAN, G. Estimating ascorbic acid requirements for cigarette smokers. **Ann N Y Acad Sci**; 686:335-45; discussion 345-6. 1993.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. 1. ed. Lancaster: Technomic Publishing Co, Inc., 331p. 1995.

SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M. **Modern nutrition in health and disease**. 8ª ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 2v. 1994.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence. Review. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v.215, n.2, p.213- 219, 1993.

SIES, H., STAHL, W. Vitamins E and C, b-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.62, n.6, p.1315-1321, 1995.

SILVA, P.C.F. **Propriedades antioxidantes *in vitro* de uva branca e de uva tinta e de seus respectivos vinhos elaborados**. Tese de Doutorado. Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, DTA/UFV, 2003.

STAHL, W., SIES, H. Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. **Diabetes**, New York, v.46, n.5, p.14S-18S,. Supplement 2. 1997.

TACO - Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA-UNICAMP.- Versão II. -- 2. ed. -- Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, 2006. 113p. Disponível em: <http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_versao2.pdf>. Acesso em: 11/02/2009.

TANUMIHARDJO, S. A.; LI, J.; DOSTI, M.P. Lutein absorption is facilitated with cosupplementation of ascorbic acid in young adults. **Journal of the American Dietetic Association** n. 105, p. 114-1148, 2005.

TOMEI P.E., LIPPI A., UNCINI MANGANELLI R.E. **L'Uso delle specie vegetali spontanee nella preparazione delle zuppe di magro in Lucchesia (Lu).**In: 'Funghi, tartufi erbe mangerecce'. Convegno Internazionale. Atti L'Aquila 28 Settembre 1 Ottobre 1995, L'Aquila: Accademia Italiana della Cucina, Università degli Studi de L'Aquila.p. 243. 1996.

TOMEI P.E.; MONTI G., ONNIS A. **Specie vegetali coltivate e spontanee di uso alimentare e medicinale nella tradizione popolare dell'alta Garfagnana.**Pisa ed: Pacini, 1988.

VILELA, D.; ARAUJO, P. M. M. **Contribuição das câmaras setoriais e temáticas à formulação de políticas públicas e privadas para o agronegócio.** Brasília: MAPA/SE/CGAC, 496 p. 2006.

CAPÍTULO 1

OTIMIZAÇÃO DE SUCO MISTO DE FRUTAS E HORTALIÇA UTILIZANDO DELINEAMENTO DE MISTURAS

RESUMO

Seguindo a tendência de mercado para sucos no Brasil, foi desenvolvido um suco misto composto pelas frutas uva e acerola e pela hortaliça azedinha. As polpas foram misturadas em diferentes proporções, determinadas pelo delineamento de misturas centróide simplex, resultando em dez formulações. Todas as formulações foram avaliadas quanto ao pH, acidez, parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , h^* e C^*) e aceitabilidade. Os resultados indicaram que as diferentes proporções das polpas têm influência sobre os parâmetros físico-químicos avaliados, exceto para aceitabilidade. As formulações 6, 7, 8 e 10, que obtiveram as maiores notas na análise sensorial, foram avaliadas quanto ao teor de luteína e de vitamina C. Não houve diferença significativa para os teores de luteína. A formulação 8, contendo 21,8% de uva, 14% de azedinha e 4,2% de acerola, foi a escolhida pelo maior teor de vitamina C.

ABSTRACT

Following the trend of the market for juices in Brazil, has developed a blend composed of the fruits grape and acerola and vegetable azedinha. The pulps were mixed in different proportions, determined by the design of simplex centroid mixture, resulting ten formulations. All formulations were evaluated for pH, acidity, color parameters (L^* , a^* , b^* , h^* and C^*) and acceptability. The results indicated that the different proportions of pulp have influence on the physico-chemical parameters measured, except for acceptability. The formulations 6, 7, 8 and 10, who obtained the highest notes in the sensory analysis, were evaluated for levels of lutein and vitamin C. There was no significant difference in the levels of lutein. The formulation 8, containing 21.8% of grapes, 14% of azedinha and 4.2% of acerola, was chosen by the highest content of vitamin C.

1.1 – INTRODUÇÃO

As características de qualidade de produtos alimentícios são fortemente dependentes da proporção individual de cada ingrediente presente nas formulações. O uso de delineamentos de mistura e suas análises correspondentes são importantes no desenvolvimento e otimização de produtos alimentícios (DINGSTAD et al., 2004).

A metodologia de superfície de resposta é, atualmente, o mais popular conjunto de técnicas para otimização. A primeira etapa desta técnica consiste na escolha de um delineamento experimental seguida de modelagem matemática, que é realizada ajustando-se modelos lineares ou quadráticos a resultados experimentais, obtidos através de planejamentos fatoriais com ou sem ampliação (BARROS NETO et al., 2001). Após esta etapa é possível deslocar-se sobre a superfície de resposta ajustada, a fim de localizar regiões que satisfaçam condições de interesse. Assim, no desenvolvimento de formulações alimentares, por exemplo, o custo dos ingredientes, bem como, as propriedades funcionais, sensoriais e nutricionais do produto requer tratamento conjunto (CARNEIRO et al., 2005).

Durante o desenvolvimento de novos alimentos é importante avaliar o quanto ele será aceito pela população a que se destina. Existem técnicas na análise sensorial para estudar as impressões causadas pelo alimento no consumidor. Utilizando o delineamento de misturas centróide simplex e aplicando teste de aceitação junto aos consumidores, podemos estudar a contribuição que cada ingrediente representa no sabor e, conseqüentemente, na aceitação, do produto final.

A busca por alimentos mais nutritivos e/ou que auxiliem na prevenção de doenças é uma das causas do aumento do consumo de sucos no Brasil nos últimos anos. O consumo de carotenóides e vitamina C, encontrados nas frutas e hortaliças, tem sido associado à prevenção de diversas doenças não-transmissíveis.

A luteína é um carotenóide diidroxilado, potente antioxidante que atua protegendo os tecidos dos danos causados por radicais livres (BEATTY, 2004).

É um ingrediente muito utilizado na suplementação da dieta humana, por acreditar que promove benefícios à saúde dos olhos, próstata, pele e ao sistema cardiovascular. Outro uso importante deste carotenóide é como substância bioativa, em virtude das suas alegações funcionais, destacando-se na prevenção da aterosclerose, catarata, retinopatia diabética, retinite pigmentosa, câncer e degeneração macular (ALVES-RODRIGUES e SHAO, 2004).

A vitamina C, ou ácido ascórbico (AA), é vitamina hidrossolúvel e termolábil. Os seres humanos e outros primatas são os únicos mamíferos incapazes de sintetizar o AA (NISHIKIMI et al., 1994). Ele participa dos processos celulares de oxi-redução, como também é importante na biossíntese das catecolaminas. Previne o escorbuto, é importante na defesa do organismo contra infecções e é fundamental na integridade das paredes dos vasos sanguíneos. É essencial para a formação das fibras colágenas existentes na derme, cartilagem e ossos; e é considerado excelente antioxidante, capaz de seqüestrar os radicais livres com grande eficiência. (MANELA-AZULAY, 2003).

O objetivo desse trabalho foi otimizar a formulação de um suco misto composto de duas frutas (acerola e uva) e uma hortaliça (azedinha – *Rumex acetosa*), contendo carotenóides totais e vitamina C, que fosse aceito sensorialmente.

1.2 – MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, localizada em Viçosa-MG, Brasil.

1.2.1 – Matéria-prima e Produção do Suco Misto

Na formulação do suco misto, foram utilizadas polpas das frutas uva e acerola, industrializadas e pasteurizadas pela empresa Bela Ischia, juntamente com a polpa da hortaliça “azedinha” (*Rumex acetosa*) produzida no laboratório. As folhas de azedinha foram higienizadas e sanitizadas em água clorada a 150 ppm e sua polpa foi extraída em uma centrífuga Walita, modelo R1 1861. Em seguida foi peneirada, pasteurizada a 90°C/60s (FREITAS et al., 2006), envasada à quente em garrafas de vidro esterilizadas em água fervente por 30 minutos, resfriada em água corrente e congelada até posterior utilização.

Para caracterização das polpas foram analisados parâmetros físico-químicos (pH, acidez total titulável e teor de sólidos solúveis totais), de coloração (L*, a*, b*, h* e C*) e dos compostos bioativos (teores de carotenóides totais expressos em luteína e vitamina C). As metodologias estão descritas a seguir, exceto para sólidos solúveis totais, que foram determinados por leitura direta em refratômetro manual.

O suco misto foi preparado em dez formulações diferentes, seguindo o delineamento de misturas centróide simplex, utilizando o programa STATISTICA versão 6.0, em 3 repetições. A Tabela 2 indica as proporções de cada polpa em cada uma das dez formulações.

Tabela 2. Delineamento simplex aumentado de 10 tratamentos para as formulações das misturas das polpas de uva, acerola e azedinha.

Tratamento	Proporções das polpas					
	Uva (A)		Azedinha (B)		Acerola (C)	
	R	N	R	N	R	N
1	19,27	0,48	19,07	0,47	1,67	0,04
2	20,53	0,51	16,53	0,41	2,93	0,07
3	18,00	0,45	21,60	0,54	0,40	0,01
4	18,00	0,45	14,00	0,35	8,00	0,20
5	19,27	0,48	15,27	0,38	5,47	0,13
6	25,60	0,64	14,00	0,35	0,40	0,01
7	21,80	0,54	17,80	0,44	0,40	0,01
8	21,80	0,54	14,00	0,35	4,20	0,10
9	18,00	0,45	17,80	0,44	4,20	0,10
10	23,07	0,57	15,27	0,38	1,67	0,04

R, proporções reais (considerando-se a formulação como um todo); N, proporções normalizadas (considerando apenas o total das três polpas).

Na fabricação do suco, as polpas foram pesadas e homogeneizadas com água mineral (60% da formulação) e o teor de sólidos solúveis ajustado para 14°Brix com sacarose. Adicionou-se os conservantes benzoato de sódio (260mg/L) e metabissulfito de sódio (40mg SO₂/L). Em seguida, o suco foi pasteurizado a 90°C/60s (FREITAS et al., 2006) em tacho aberto, envasado à quente em garrafas de vidro esterilizadas em água fervente por 30 minutos, resfriados com água corrente e armazenados a temperatura ambiente.

1.2.2 – Análises Químicas e de Cor

As determinações de pH e acidez total por titulação potenciométrica seguiram a metodologia da AOAC (1997).

A coloração do suco foi determinada por colorimetria, em colorímetro (modelo Color Quest II Spera – Hunter Lab, Reston, VA), com leitura direta dos parâmetros: **L***, luminosidade; **a***, contribuição do vermelho; **b***, contribuição do

amarelo. Os parâmetros de tonalidade (h^*) e saturação (C^*) foram calculados a partir dos valores de a^* e b^* , conforme as equações 1 e 2.

$$h^* = \arctang(b^*/a^*) \quad (\text{Eq. 1})$$

$$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \quad (\text{Eq. 2})$$

1.2.3 – Análise sensorial

Os 10 sucos resultantes foram avaliados por 43 consumidores. Cada consumidor avaliou 5 amostras por dia para evitar a fadiga sensorial. Os sucos foram apresentados individualmente e os consumidores utilizaram a escala hedônica de nove pontos, com termos variando do “gostei extremamente” ao “desgostei extremamente” (Figura 1), para indicar o quanto gostaram ou desgostaram de cada formulação. Todas as avaliações foram realizadas em cabines individuais.

Nome: _____ Data: _____

Você está recebendo uma amostra de suco misto. Por favor, prove a amostra e indique o quanto você gostou ou desgostou da amostra, utilizando a escala abaixo.

Amostra: _____

- () gostei extremamente
- () gostei muito
- () gostei moderadamente
- () gostei ligeiramente
- () não gostei / nem desgostei
- () desgostei ligeiramente
- () desgostei moderadamente
- () desgostei muito
- () desgostei extremamente

Comentários: _____

Figura 1. Ficha de respostas para o teste de aceitação

1.2.4 – Determinação de Carotenóides Totais e de Vitamina C

As 4 formulações que obtiveram as melhores notas na análise sensorial foram avaliadas quanto aos teores de carotenóides totais e de vitamina C.

Os carotenóides foram extraídos seguindo metodologia descrita por Nachtigall (2007), utilizando acetona como solvente extrator, quantificado nas diferentes amostras por medidas espectrofotométricas, utilizando o coeficiente de extinção $E_{1cm}^{1\%} = 2550$ em etanol com leitura no λ máx (445 nm). As análises foram realizadas em espectrofotômetro (UV-1601 PC Shimadzu), seguindo metodologia descrita por Cisneros et al. (2004).

A extração e análise da vitamina C seguiram as condições desenvolvidas por Campos (2006). A extração foi feita triturando uma alíquota de suco misto com solução extratora, composta de ácido metafosfórico à 3%, 1mM de EDTA, ácido acético à 8% e 0,3 N de ácido sulfúrico, com auxílio de microtritador. Filtrou-se o material a vácuo, diluindo para volume conhecido com água ultrapura. Procedeu-se a centrifugação e a filtração do sobrenadante em unidades filtrantes com 0,45 μ m de porosidade, antes da análise.

A quantificação de vitamina C no suco foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). As condições para análise foram: coluna cromatográfica RP-18; detector espectrofotométrico de arranjos de diodos, fase móvel composta de água ultrapura contendo 1 mM de fosfato monobásico de sódio, 1mM de EDTA e pH ajustado para 3,0 com ácido fosfórico; fluxo da fase móvel: 1,0 mL/minuto; tempo de corrida: 5 minutos. Os cromatogramas foram lidos em comprimento de onda de 245 nm (CAMPOS, 2006). A quantificação se dá por comparação com a curva padrão de ácido ascórbico construída com os mesmos parâmetros descritos acima.

1.2.5 – Análise Estatística

A descrição matemática da modelagem de misturas, para as determinações químicas e de cor, foi feita por meio da utilização do programa STATISTICA, versão 6.0. Dentro das possibilidades da estatística industrial e seis sigma, foi utilizado o delineamento simplex centróide, aumentado para 10, que faz parte do delineamento de misturas e superfícies de resposta triangular.

Os modelos obtidos para as respostas experimentais foram avaliados em termos de sua significância ($p \leq 0,05$) e coeficientes de determinação (R^2) ao nível de 5% de probabilidade.

Os coeficientes de determinação (R^2) foram calculados pela razão entre a soma de quadrados da regressão e a soma de quadrados do total.

Os coeficientes de variação (CV%) foram calculados pela raiz quadrada do quadrado médio do resíduo dividido pela média aritmética dos resultados em cada tempo avaliado e multiplicando-se este valor por 100.

O experimento sensorial foi montado em delineamento de blocos casualizados e os dados experimentais foram processados em termos de valores de F ($p \leq 0,05$) utilizando o Programa Statistical Analysis System (SAS®) licenciado pela UFV.

O experimento de carotenóides totais e de vitamina C foi montado em delineamento inteiramente casualizado e os dados experimentais foram processados em termos de valores de F ($p \leq 0,05$) utilizando o Programa Statistical Analysis System (SAS®) licenciado pela UFV.

1.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.3.1 – Caracterização das Polpas

A Tabela 3 indica os valores médios da caracterização físico-química, de cor, vitamina C e carotenóides totais, realizada no mínimo em duplicata, das polpas de uva, azedinha e acerola, utilizadas nas formulações de suco misto.

Tabela 3. Média dos valores e desvio padrão da caracterização das polpas utilizadas nas 10 formulações de suco misto. Acidez expressa em % ácido orgânico predominante.

	Uva	Azedinha	Acerola
pH	2,83 ± 0,01	2,58 ± 0,01	2,95 ± 0,01
ATT	0,75 ± 0,01	0,72 ± 0,00	1,19 ± 0,01
SST	14,8 ± 0,01	2,5 ± 0,01	6,0 ± 0,01
L*	27,05 ± 0,53	34,85 ± 0,29	42,10 ± 0,36
a*	0,64 ± 0,56	0,28 ± 0,76	17,98 ± 1,12
b*	-0,67 ± 0,20	8,72 ± 0,25	16,95 ± 0,23
hue	0,93 ± 2,68	8,72 ± 2,69	24,71 ± 1,65
Chroma	-0,81 ± 0,57	1,54 ± 0,76	0,76 ± 1,19
Vit C (mg/100g)	3,35 ± 0,01	9,50 ± 0,01	2512,81 ± 0,01
Carotenóides totais (mg/100g)	-	1,95 ± 0,01	0,71 ± 0,01

A acidez da polpa de acerola foi expressa em termos de ácido málico, a da azedinha em termos de ácido cítrico e a da uva em termos de ácido tartárico, pois são os ácidos orgânicos presentes em maior quantidade nessas frutas. A polpa de fruta mais ácida foi a de acerola. A que mais contribuiu para o aumento dos sólidos solúveis dos sucos foi a polpa de uva. A polpa de uva teve o valor de b^* menor (tendendo para o azul), a de azedinha teve o valor de a^* menor (tendendo para o verde) enquanto que a polpa de acerola apresentou valores maiores de a^* (tendendo para o vermelho) e de b^* (tendendo para o amarelo). Resultados que confirmam a avaliação visual em que a polpa de uva é indicada como azulada/arroxeadada, a de azedinha verde oliva e a acerola alaranjada. A polpa de acerola contém o maior teor de vitamina C e a polpa de azedinha a maior quantidade de carotenóides totais entre as polpas, enquanto que a polpa de uva não apresentou carotenóides. O carotenóide predominante nas hortaliças verdes é a luteína (NACHTIGALL et al., 2007; VARDAVAS et al., 2006) e na acerola, encontramos maior quantidade de carotenóides pró-vitamínicos A, como β -criptoxantina e β -caroteno, sendo este último predominante (AGOSTINI-COSTA et al., 2003). Porcu (2004) encontrou também luteína entre os carotenóides de polpa de acerola, mas seu trabalho confirmou a predominância de β -caroteno.

1.3.2 – Características Químicas e de Cor

Na Tabela 4 estão representados os dados das propriedades químicas e de cor das 10 formulações de suco misto. Esses valores se referem à média aritmética de 3 repetições e seu respectivo desvio padrão. A acidez foi calculada em termos de % ácido tartárico.

Tabela 4. Valores médios e desvio padrão das características químicas e de cor das 10 formulações de suco misto.

Formulação	pH	Acidez (%AT)				C	Hue (rad)
		L*	a*	b*	C		
1	3,03	0,47	26,84	2,57	0,69	2,66	0,26
	±0,02	±0,01	±0,09	±0,09	±0,09	±0,10	±0,03
2	3,04	0,47	26,93	2,75	0,72	2,87	0,26
	±0,01	±0,01	±0,28	±0,22	±0,43	±0,09	±0,17
3	3,02	0,49	26,79	2,38	0,91	2,65	0,37
	±0,03	±0,01	±0,70	±0,43	±0,78	±0,10	±0,34
4	3,07	0,47	27,44	3,19	1,20	3,46	0,37
	±0,02	±0,01	±0,28	±0,60	±0,54	±0,35	±0,22
5	3,08	0,47	27,15	2,82	1,04	3,01	0,36
	±0,01	±0,03	±0,10	±0,24	±0,19	±0,16	±0,09
6	3,06	0,46	27,26	2,31	-0,03	2,31	-0,02
	±0,01	±0,00	±1,04	±0,21	±0,09	±0,21	±0,04
7	3,02	0,48	27,63	2,18	0,30	2,21	0,14
	±0,01	±0,03	±1,03	±0,23	±0,09	±0,23	±0,04
8	3,06	0,46	28,25	2,44	0,21	2,46	0,08
	±0,01	±0,01	±0,36	±0,23	±0,27	±0,25	±0,11
9	3,05	0,47	27,58	2,62	0,81	2,74	0,30
	±0,00	±0,01	±0,94	±0,31	±0,19	±0,34	±0,05
10	3,05	0,44	28,08	2,17	0,10	2,18	0,05
	±0,00	±0,01	±0,04	±0,06	±0,05	±0,05	±0,03

(%AT), acidez expressa em % de ácido tartárico; (rad), radianos.

Na Tabela 5 está o resumo da análise de variância dos parâmetros químicos e de cor do suco misto, indicando que houve diferença significativa, à 5% de probabilidade, para todos os parâmetros em todas as formulações avaliadas, portanto, as diferentes proporções das polpas interferem significativamente nas características de pH, acidez total titulável, L*, a*, b*, saturação (C*) e tonalidade (h*).

Tabela 5. Resumo da análise de variância dos resultados das análises químicas e de cor nas 10 formulações de suco misto

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio						
		pH	ATT	L	a	b	h	C
Fórmula	9	0,0054*	0,0012*	1,0954*	1,1489*	2,0527*	0,2397*	0,6453*
Resíduo	20	0,0002	0,0002	0,3701	0,0868	0,1177	0,0204	0,0404
CV(%)	29	0,4637	3,0089	2,2211	11,599	58,148	64,922	7,5848

* diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste F

As equações ajustadas que representam os resultados das análises químicas e de cor estão expressas na Tabela 6.

Tabela 6. Equações ajustadas para as determinações químicas e de cor

Variável	Equações Ajustadas	R ²
pH	$\text{pH} = 3,050889A + 3,013111B + 3,082C$	0,621
Acidez	Os dados experimentais não se ajustaram a nenhum modelo testado	-
L*	Os dados experimentais não se ajustaram a nenhum modelo testado	-
a*	$a^* = 2,188926A + 2,362259B + 3,137815C$	0,483
b*	Os dados experimentais não se ajustaram a nenhum modelo testado	-
h*	Os dados experimentais não se ajustaram a nenhum modelo testado	-
C*	$C^* = 2,24001A + 2,67541B + 3,46463C - 1,17424^{\text{ns}}AB - 0,98560^{\text{ns}}AC - 1,18542^{\text{ns}}BC + 9,24743ABC$	0,730

ns. diferença não significativa a 5% de probabilidade

Os gráficos apresentados nas Figuras 2 a 8 representam a superfície de resposta gerada pela projeção das equações do Quadro 5 em um diagrama de coordenadas triangular. Os modlos testados foram linear, quadrático e cúbico.

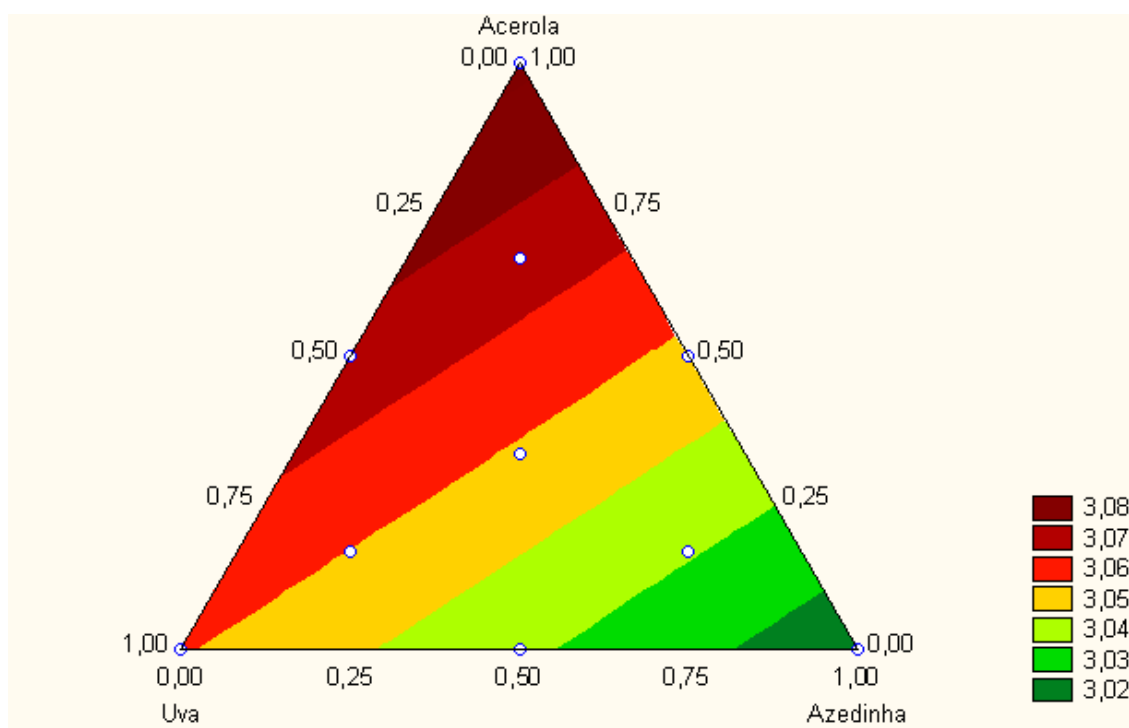


Figura 2. Diagrama ternário da superfície de resposta do modelo linear relativo ao pH

A Figura 2 representa como as diferentes polpas interferem nos valores de pH, indicando que a polpa de acerola contribuiu para o aumento do pH e a polpa de azedinha para a diminuição do mesmo, resultado confirmado na

caracterização das polpas, onde a azedinha teve menor pH e a acerola o maior. O modelo estatístico que melhor se ajustou foi o linear, com $R^2_{ajustado}=0,6212$, à 5% de probabilidade.

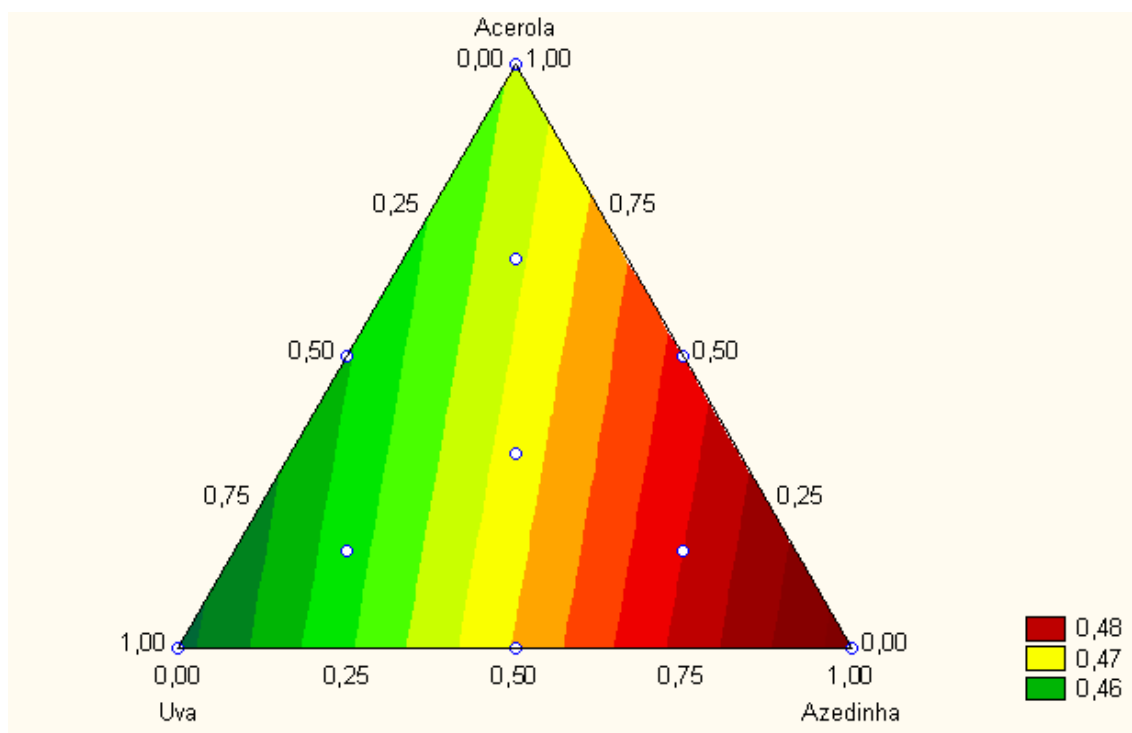


Figura 3. Diagrama ternário da superfície de resposta do modelo linear relativo à acidez total titulável (expressa em % ácido tartárico).

Analisando a Figura 3 percebemos uma tendência que a uva contribuiu para uma menor acidez do suco misto e que a azedinha contribuiu para maior acidez. A acidez foi expressa em % ácido tartárico, pois o ácido tartárico é o ácido orgânico predominante na polpa de uva e todas as 10 formulações possuem maior conteúdo de polpa de uva em relação às polpas de acerola e azedinha. Como vimos no Quadro 4, a análise de variância foi significativa, à 5% de probabilidade, entre os valores de acidez em todas as formulações, porém, os dados experimentais não se ajustaram à nenhum modelo testado. A Figura 3 indica apenas uma tendência, expressa em modelo linear.

Na Figura 4 encontramos representada uma tendência da influência de cada polpa sobre o parâmetro L^* , indicando que a polpa de azedinha pode ter contribuído para o decréscimo da luminosidade, enquanto que as polpas de acerola e uva podem ter contribuído para o aumento da mesma. Da mesma maneira que para acidez, a análise de variância foi significativa, à 5% de

probabilidade, para os valores do parâmetro L^* em todas as formulações, porém os dados experimentais não se ajustaram à nenhum modelo testado. A Figura 4 indica apenas uma tendência, expressa em modelo cúbico.

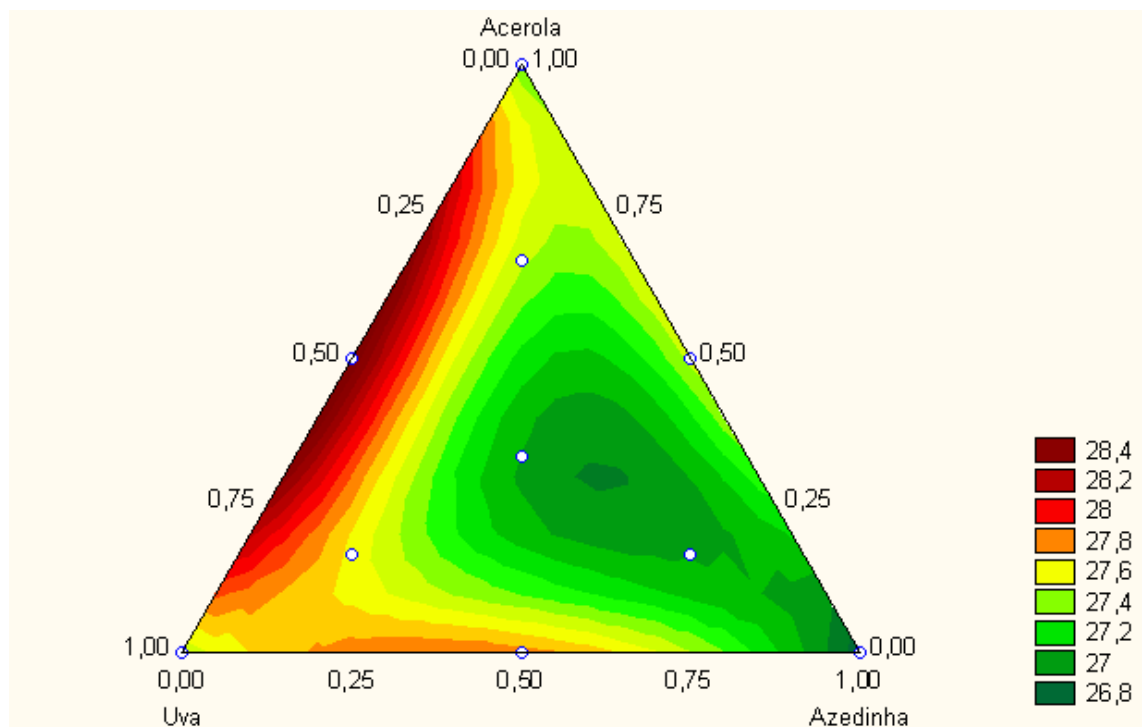


Figura 4. Diagrama ternário da superfície de resposta do modelo cúbico relativo à luminosidade (L^*).

Podemos observar na Figura 5, que a polpa de acerola contribuiu para um maior valor de a^* , enquanto que as polpas de uva e azedinha contribuíram para diminuí-lo. Esse resultado era o esperado, já que os valores positivos de a^* tendem para o vermelho e os valores negativos de a^* tendem para o verde, resultado confirmado no Quadro 2, onde a polpa de acerola possui maior valor de a^* . O modelo estatístico que melhor se ajustou foi o linear, com $R^2_{ajustado} = 0,4829$.

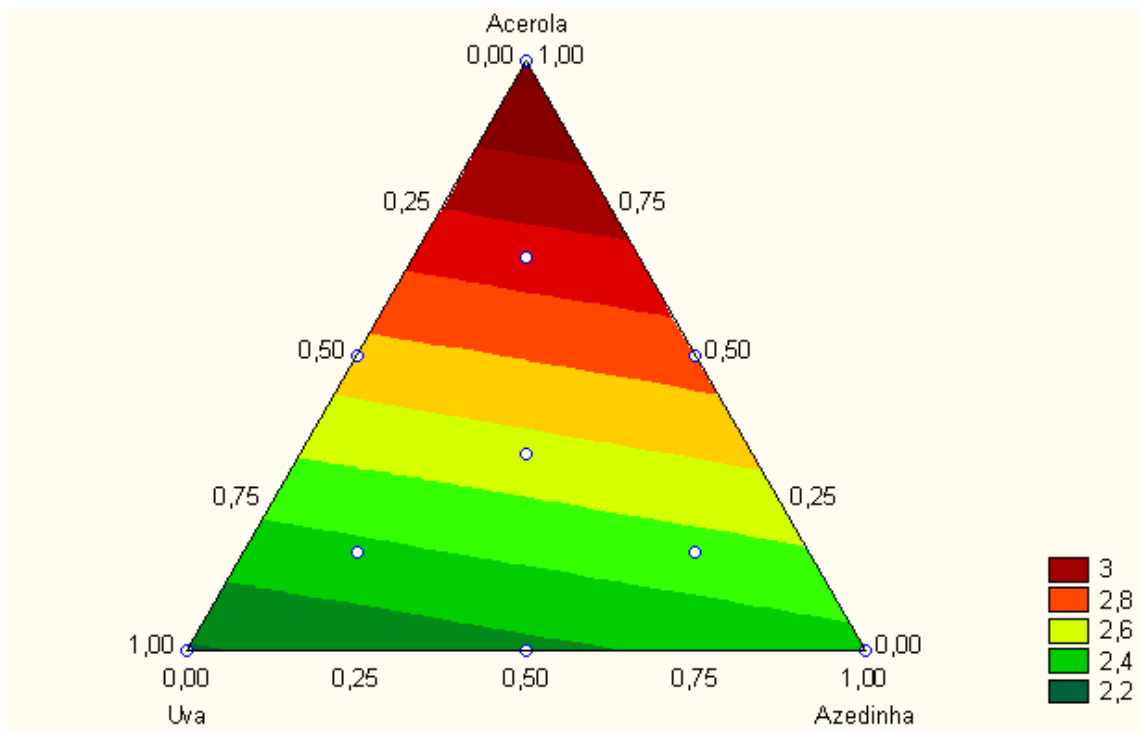


Figura 5. Diagrama ternário da superfície de resposta do modelo linear relativo ao parâmetro de coloração a^*

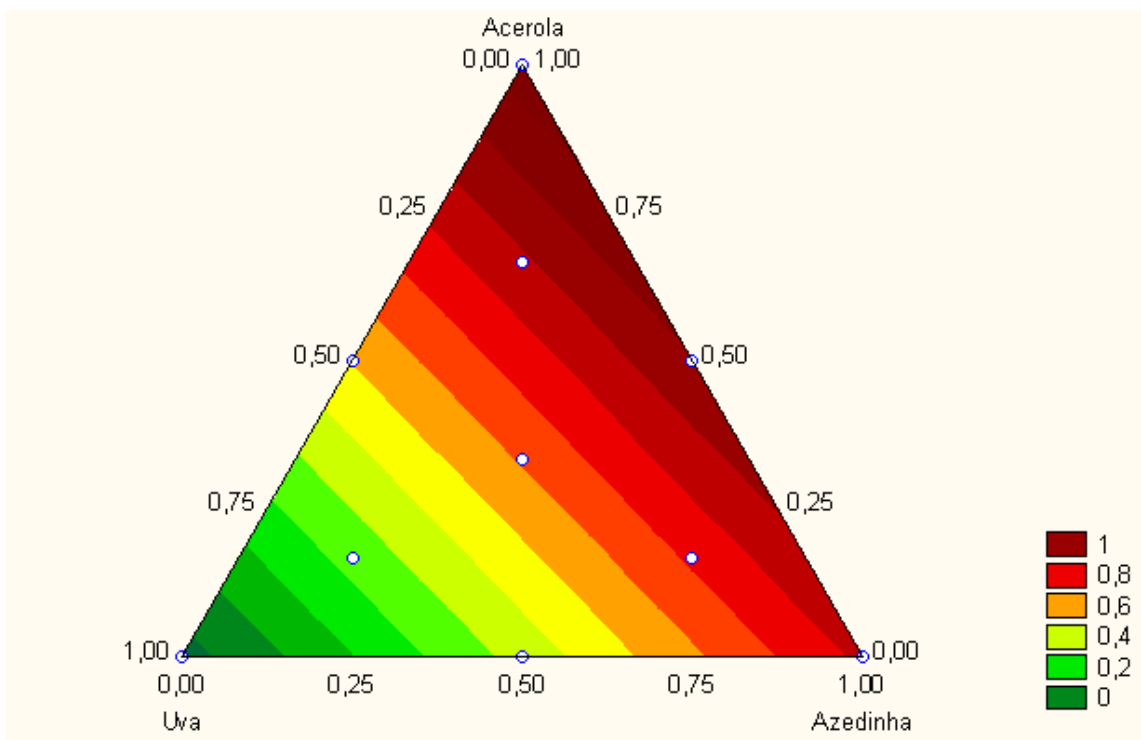


Figura 6. Diagrama ternário da superfície de resposta do modelo linear relativo ao parâmetro de coloração b^*

A Figura 6 mostra a tendência de que maior teor de polpa de acerola provavelmente influenciou no aumento do valor de b^* , enquanto que maior

proporção de polpa de uva contribuiu para a diminuição dos valores de b^* . Os valores positivos de b^* tendem para o amarelo, mostrando que os carotenóides da acerola podem ter contribuído para o aumento do parâmetro que representa o amarelo (b^+). A análise de variância foi significativa, à 5% de probabilidade, para os valores de b^* em todas as formulações, porém os dados experimentais não se ajustaram à nenhum modelo testado. A Figura 6 indica apenas uma tendência, expressa em modelo linear.

A Figura 7 mostra a tendência de que as polpas de acerola e azedinha influenciaram positivamente no parâmetro de tonalidade, enquanto que maior proporção de polpa de uva pode ter contribuído para a diminuição do ângulo de tonalidade, conforme Quadro 2, onde os valores de h^* para acerola e azedinha são maiores que para uva. A análise de variância foi significativa, à 5% de probabilidade, para o parâmetro h^* , porém os dados experimentais não se ajustaram à nenhum dos modelos testados. Sendo assim, a Figura 7 indica apenas uma tendência, expressa em modelo linear.

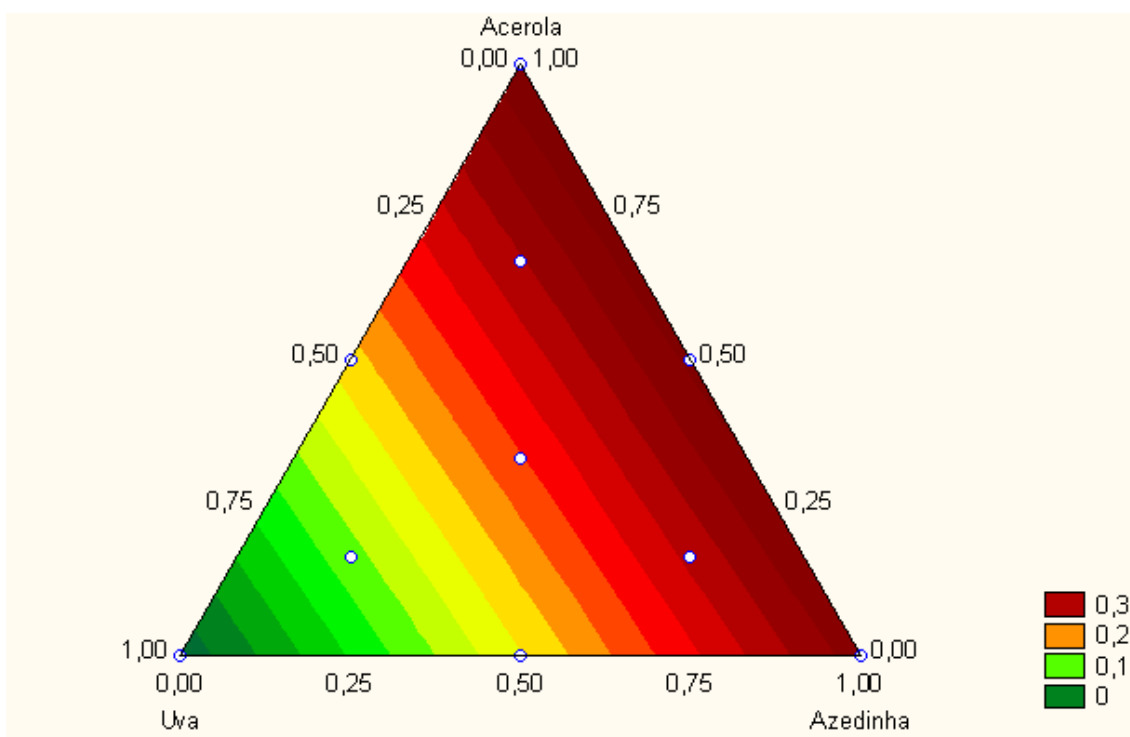


Figura 7. Diagrama ternário da superfície de resposta do modelo linear relativo ao parâmetro de coloração Hue

A Figura 8 mostra que maior teor de polpa de acerola influenciou no aumento do valor da saturação, enquanto que maior proporção de polpa de uva contribuiu para a diminuição dos valores de saturação. O modelo estatístico que melhor se ajustou foi o cúbico, com $R^2_{\text{ajustado}} = 0,7301$, à 10% de probabilidade.

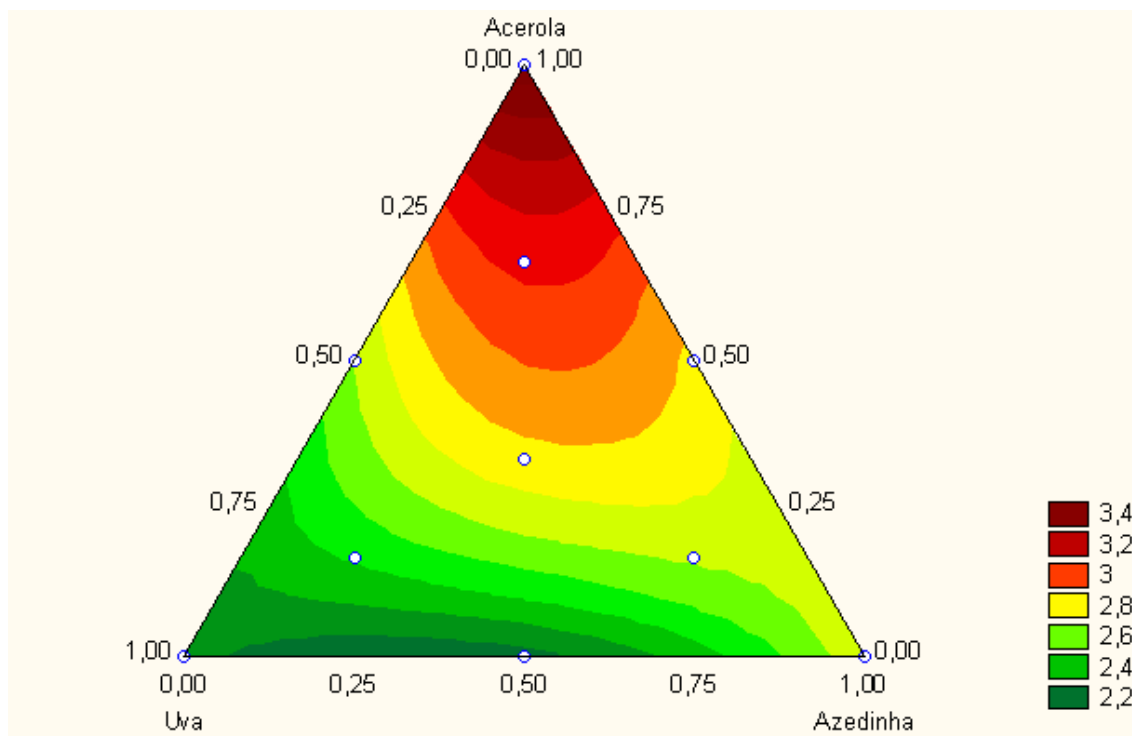


Figura 8. Diagrama ternário da superfície de resposta do modelo cúbico relativo ao parâmetro de coloração Chroma

1.3.3 – Análise Sensorial

Para determinar as quatro formulações mais aceitas sensorialmente foi feita uma análise de variância, representada na Tabela 7, onde pudemos concluir que não houve diferença significativa entre as médias das notas dadas pelos provadores para as 10 diferentes formulações de suco misto, sendo que todas as formulações foram aceitas e ficaram entre os termos hedônicos “gostei ligeiramente” e “gostei muito”. Foram escolhidas as formulações com as 4 notas numericamente superiores.

Tabela 7. Resumo da análise de variância das notas no teste de aceitação

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio	valor de F
Formulação	9	1,6953	0,3396 ^{ns}
Provador	42	8,6071	
Resíduo	378	1,4991	
CV%		18,03	

ns - F não significativo a 5% de probabilidade; CV% - coeficiente de variação

Na Tabela 8 estão representados os valores das notas dadas pelos provadores durante o teste de aceitação. Esses valores referem-se à média aritmética, e seu respectivo desvio padrão, dos 43 consumidores, que foram considerados como blocos no delineamento do experimento.

Tabela 8. Escores médios de aceitação para as 10 formulações de suco misto

Fórmula	1	2	3	4	5	6*	7*	8*	9	10*
Nota	6,74	6,7	6,37	6,86	6,81	7,07	6,95	6,93	6,63	6,91

* Formulações selecionadas.

A produção de bebidas mistas tem sido estudada por diversos pesquisadores. Prati et al. (2005) avaliaram a aceitação sensorial e as características físico-químicas de uma bebida mista de caldo de cana e sucos de frutas cítricas, como maracujá, limão e abacaxi. Da mesma forma, um néctar misto de cajá em umbu, frutos típicos das regiões Norte de Nordeste do Brasil, foi desenvolvido por Mattietto et al. (2007) para obter uma bebida com novo sabor. Diversas polpas foram misturadas criando novos sabores, assim como manga, laranja e acerola (BRANCO e GASPARETTO, 2003), cenoura e laranja (FREITAS e JACKIX, 2005), acerola e abacaxi (MATSUURA e ROLIM, 2002), caju, manga e acerola (SOUSA et al. 2005), acerola, mamão e maracujá (MATSUURA et al., 2004) e caju, uva e manga (AKINWALE, 2000).

1.3.4 – Determinação de Carotenóides Totais e de Vitamina C

A Tabela 9 representa a ANOVA dos resultados obtidos nas análises de carotenóides totais e de vitamina C das formulações 6, 7, 8 e 10. Os teores de carotenóides totais expressos em luteína (mg/100 g suco) não foram diferentes significativamente entre si, ao contrário da vitamina C (mg/ 100g suco), que

apresentou a formulação 8 como a contendo maior teor de vitamina C, diferindo dos teores presentes nas formulações 6, 7 e 10. Ainda, a formulação 10 obteve mais vitamina C que as formulações 6 e 7, que não diferiram significativamente entre si, conforme Tabela 10.

Tabela 9. Resumo da análise de variância dos teores de carotenóides totais e vitamina C

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio	
		Vitamina C (mg/100g)	Carotenóides (mg/100g)
Formulação	3	249,0289*	0,0211 ^{ns}
Resíduo	9	0,0338	0,0132
CV%		1,87	86,71

* diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste F

ns – F não significativo a 5% de probabilidade

Tabela 10. Média e desvio padrão dos teores de vitamina C (mg/100g) e carotenóides totais expressos em luteína (mg/100g), em quatro formulações de suco misto.

Formulação	6	7	8	10
Luteína	0,08 ^a	0,10 ^a	0,10 ^a	0,25 ^a
Vitamina C	3,47 ^c	3,66 ^c	22,89 ^a	9,29 ^b

As médias seguidas de uma mesma letra na linha não apresentam diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Alguns vegetais folhosos de coloração verde possuem valores expressivos de luteína, como couve-de-bruxelas (0,43 mg/100g), couve-flor (0,13 mg/100g), repolho (0,14 mg/100g), brócolis (0,47 mg/100g) (SINGH et al., 2007), couve (1,95 – 3,51mg/100g), espinafre (0,43 – 2,21 mg /100g), rúcula (1,96 – 5,12 mg/100g) e mostarda (0,97 – 2,47 mg/100g) (NACHTIGALL et al., 2007). Foi encontrado o valor de 3,44 mg de luteína/100g de *Rumex obtusifolius*, um vegetal folhoso do mesmo gênero que a azedinha avaliada neste trabalho (VARDAVAS et al., 2006), indicando que a azedinha (*Rumex acetosa*) pode ser boa fonte deste carotenóide.

Bernstein et al. (2002) demonstraram que em indivíduos com degeneração macular, a suplementação diária de 4 mg de luteína, resultou em um maior nível de concentração de tal pigmento na mácula, quando comparado

ao grupo controle, no qual não foi administrada a suplementação. Pesquisas indicam de 4 a 20 mg/dia de luteína para efeito benéfico à saúde (KRINSKY et al., 2003; ALTERNATIVE MEDICINE REVIEW, 2005; KRINSKY e JOHNSON, 2005).

A importância da administração de luteína juntamente com vitamina C foi descoberta em um estudo feito sobre a absorção de luteína, onde foi observado que o aumento de luteína no sangue foi significativo quando esse carotenóide foi co-suplementado com vitamina C. Além disso, a concentração sérica do grupo que recebeu luteína e vitamina C aumentou bem mais rapidamente do que a do grupo que fez uso apenas da luteína (TANUMIHARDJO et al., 2005). Muitos fatores podem influenciar a biodisponibilidade de um carotenóide e nesse estudo observou-se que a absorção de luteína cristalina em suplementos varia individualmente, mesmo com dieta controlada. A forma como a luteína é consumida também interfere em sua absorção (TANUMIHARDJO et al., 2005). Esse estudo é importante para mostrar que os alimentos não são apenas soma de macro e micro nutrientes, mas sim um sistema como um todo, havendo sinergismo entre seus componentes.

A formulação 8 foi a formulação escolhida por ter o maior teor de vitamina C. É a formulação composta pela maior quantidade de polpa de acerola, dentre as formulações 6, 7 e 10. Ela possui aproximadamente 10 vezes mais polpa de acerola que as formulações 6 e 7 e 2 vezes mais que a formulação 10, indicando que a polpa de acerola é a maior contribuinte de vitamina C para o suco misto. Podemos enfatizar este dado com o Quadro 2 que caracteriza a polpa de acerola com 2512,81 mg de vitamina C/100g de polpa, sendo que foram encontrados valores de 3,34 mg/100g e 9,50 mg/100g para as polpas de uva e azedinha, respectivamente.

Muitos estudos têm relacionado a adição de polpas de frutas ricas em vitamina C na formulação de sucos mistos para melhorar sua qualidade nutricional. Jain e Khurdiya (2004) adicionaram polpa de gooseberry indiana, uma fruta considerada fonte de vitamina C, em suco de romã, maçã, entre outros. Matsuura e Rolim (2002) utilizaram a polpa de acerola para enriquecer o suco de abacaxi. Sousa et al. (2005) desenvolveram um néctar misto de caju,

manga e acerola. Da mesma maneira, Matsuura et al. (2004) utilizaram polpa de acerola para enriquecer um néctar misto de mamão e maracujá. Akinwale (2000) misturou polpa de caju com polpas de frutas, como uva e manga, para aumentar o teor de vitamina C de frutas que contém menor quantidade desta vitamina. Aragão et al. (2002) adicionaram polpa de acerola em bebidas carbonatadas, como refrigerante, energéticos e alcoólicas. Todos os trabalhos descritos acima obtiveram resultados positivos quanto ao aumento do teor de vitamina C das bebidas desenvolvidas.

1.4 – CONCLUSÕES

As polpas de frutas influenciaram os parâmetros avaliados, químicos e de cor, conforme a quantidade de polpa presente em cada formulação. A polpa de acerola contribuiu para o aumento do pH, dos parâmetros de cor L* e a*, além do aumento do teor de vitamina C. A polpa de azedinha contribuiu para diminuir pH e a*, aumentar C* e o teor de carotenóides totais.

As diferentes proporções de polpa na formulação do suco misto não influenciaram significativamente na aceitação. Todas as formulações foram bem aceitas pelos consumidores e foram selecionadas as 4 maiores notas para avaliação de vitamina C e carotenóides totais.

A formulação 8, que continha 21,8% de polpa de uva, 14% de azedinha e 4,2% de acerola foi a escolhida por seu maior teor de vitamina C.

1.5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINI-COSTA, T.S.; ABREU, L.N.; ROSSETTI, A.G. Efeito do congelamento e do tempo de estocagem da polpa de acerola sobre o teor de carotenóides. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 25, n. 1, p. 56-58, Abril 2003.

AKINWALE, T.O. Cashew apple juice: its use in fortifying the nutritional quality of some tropical fruits. **Eur Food Res Technol**, 211:205-207, 2000.

ALTERNATIVE MEDICINE REVIEW. Lutein and Zeaxanthin – Monograph. Nenhum autor listado. **Alternative Medicine Review**, v.10, n.2, p.128-135, 2005.

ALVES – RODRIGUES, A.; SHAO, A. The science behind lutein. **Toxicol. Let.**, v. 150, p. 57- 83, 2004.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International**. 16. ed. Washington: AOAC, v.2, 1997.

ARAGÃO, A.O.; SOUZA FILHO, M.S.M.; HILUY FILHO, J.J.; NASSU, R.T.; CARVALHO, J.M. Utilização de suco de acerola clarificado e concentrado no desenvolvimento de bebidas carbonatadas. EMBRAPA, 2002. <http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_1928.pdf>, Acesso em 18/02/2009.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: Unicamp. 401 p., 2001.

BEATTY et al. Macular pigment optical density and its relationship with serum and dietary levels of lutein and zeaxanthin. **Archives of Biochemistry and Biophysics** v. 430 p. 70–76, 2004.

BRANCO, I.G e GASPARETTO, C.A. Aplicação da metodologia de superfície de resposta para o estudo do efeito da temperatura sobre o comportamento reológico de misturas ternárias de polpa de manga e sucos de laranja e cenoura. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 23(Supl): 166-171, dez. 2003.

CAMPOS, F.M. **Avaliação de práticas de manipulação de hortaliças visando a preservação de vitamina C e carotenóides**. Dissertação de mestrado. Programa de pós-graduação em Ciência da Nutrição, UFV, 2006.

CARNEIRO, R.L.; SILVA, R.S.S.F.; BORSATO, D.; BONA, E. Métodos de gradiente para otimização simultânea: estudo de casos de sistemas alimentares **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 3, p. 353-362, jul./set. 2005.

CISNEROS, M.; BENAVIDES, J.; BRENES, C. H.; RITO-PALOMARES, M. Recovery in aqueous two-phase systems of lutein produced by the green microalga *Chlorella protothecoide*. **Journal of Chromatography B**, v. 807, n.1, p. 105-110, 2004.

CORNELL, J.A. **Experiments with Mixtures**. Designs, Models and the Analysis of Mixture Data, 2nd ed., Wiley-Interscience, 1990.

DINGSTAD, G.I.; WESTAD, F.; NÆS, T. Three case studies illustrating the properties of ordinary and partial least squares regression in different mixture models. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems** 71 p.33–45. 2004.

FREITAS, C.A.S; MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M.; BRASIL, I.M.; PINHEIRO, A.M. Storage stability of acerola tropical fruit juice obtained by hot fill method. **International Journal of Food Science and Technology**, 41, 1216–1221, 2006.

FREITAS, D.G.C. e JACKIX, N.H. Efeito de Bebida Adicionada de Frutoligossacarídeo e Pectina no Nível de Colesterol e Estimulação de Bifidobactérias em Hamsters Hipercolesterolêmicos. **Braz. J. Food Technol.**, v.8, n.1, p. 81-86, jan./mar., 2005.

JAIN, S.K. e KHURDIYA, D.S. Vitamin C Enrichment of Fruit Juice Based Ready-to-Serve Beverages Through Blending of Indian Gooseberry (*Emblica officinalis Gaertn.*) Juice. **Plant Foods for Human Nutrition** 59: 63–66, 2004.

KRINSKY, N. I., JOHNSON E. J. Carotenoid Actions and their Relation to Health and Disease. **Mol Aspects Med**, v.26, n.6, p.459-516, 2005.

KRINSKY, NORMAN I.; LANDRUM, JOHN T.; BONE, RICHARD A. Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 23, p. 171-201, 2003.

MANELA-AZULAY, M.; MANDARIM-DE-LACERDA, C.A.; PEREZ, M.A.; FILGUEIRA, A.L.; CUZZI, T. Vitamina C. **An bras Dermatol**, Rio de Janeiro, 78(3):265-274, maio/jun. 2003.

MATSUURA, F.C.A.U. e ROLIM, R.B. Avaliação da adição de suco de acerola em suco de abacaxi visando à produção de um "blend" com alto teor de vitamina C. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 24, n. 1, p. 138-141, abril 2002.

MATSUURA, F.C.A.U.; FOLEGATTI, M.I.S.; CARDOSO, R.L.; FERREIRA, D.C. Sensory acceptance of mixed nectar of papaya, passion fruit and acerola. **Sci. Agric.** (Piracicaba, Braz.), v.61, n.6, p.604-608, Nov./Dec. 2004.

MATTIETTO, R.A.; LOPES, A.S.; MENEZES, H.C. Estabilidade do néctar misto de cajá e umbu. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 27(3): 456-463, jul.-set. 2007.

NACHTIGALL, A.M.; STRINGHETA, P.C; FIDELIS, P.C.; NACHTIGALL, F.M. Determinação do teor de luteína em hortaliças. **B.CEPPA**, Curitiba v.25, n.2, jul./dez. 2007.

NISHIKIMI, M.R.; FUKUYAMA, S.; MINOSHIMA, N.; SHIMIZU, K.; YAGI. Cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L-gulonolactone oxidase, the enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in man. **J Biol Chem**; 269(18):13685-13688. 1994.

PORCU, O. M. **Fatores que influenciam na composição de carotenóides em goiaba, acerola, pitanga e seus produtos processados.** Tese de Doutorado. Programa de pós-graduação em Ciência de Alimentos, UNICAMP, 2004.

PRATI, P.; MORETTI, H. CARDELLO, H.M.A. Elaboração de bebida composta por mistura de garapa parcialmente clarificada-estabilizada e sucos de frutas ácidas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 25(1): 147-152, jan.-mar. 2005.

RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. Avaliação Objetiva da Cor. In: Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologias. Cap.7, ed. UFV, Viçosa-MG, p. 287-370, 2007.

SINGH, J.; UPADHYAY, A.K.; PRASAD, K.; BAHADUR, A.; RAI, M. Variability of carotenes, vitamin C, E and phenolics in Brassica vegetable. **Journal of Food Composition and Analysis** 20,106–112, 2007.

SOUSA, P.H.M.; RAMOS, A. M. ; BRITO, E.S.; AZEREDO, H.; MAIA, G.A.; PRADO, G. Optimización de Néctar Mixto de Frutas Tropicales. In: **V Congresso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos**, Puerto Vallarta, Mexico,. v. 5. p. 23-23, 2005.

TANUMIHARDJO, S. A.; LI, J.; DOSTI, M.P. Lutein absorption is facilitated with cosupplementation of ascorbic acid in young adults. **Journal of the American Dietetic Association** n. 105, p. 114-1148, 2005.

VARDAVAS, C. I.; MAJCHRZAK, D.; WAGNER, K. H.; ELMADFA, I.; KAFATOS, A. The antioxidant and phyloquinone content of wildly grown greens in Crete. **Food Chemistry**, v. 99, n. 4, p. 813-821, 2006.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DE COMPONENTES BIOATIVOS EM SUCO MISTO DE FRUTAS E HORTALIÇA DURANTE 100 DIAS DE ARMAZENAMENTO

RESUMO

O suco misto composto de 21,8% de polpa de uva, 14% de polpa de azedinha e 4,2% de polpa de acerola, foi avaliado quanto aos parâmetros de aceitabilidade, pH, acidez, cor (L^* , a^* , b^* , h^* e C^*), teores de luteína, compostos fenólicos e vitamina C e atividade antioxidante, durante 100 dias de armazenamento. Não houve alteração para pH, acidez, L^* , a^* e C^* . Os valores de b^* e h^* foram alterados, indicando mudança na tonalidade do suco ao longo do tempo. Os teores de vitamina C e de compostos fenólicos diminuíram, porém a atividade antioxidante e o teor de luteína permaneceram iguais, indicando que a luteína é o principal composto responsável pela atividade antioxidante do suco misto, justificando o uso de polpa de hortaliças em sucos. Após 100 dias de armazenamento, o suco misto possuía boa atividade antioxidante, mantendo suas propriedades bioativas de auxílio na prevenção de doenças causadas pelos radicais livres.

ABSTRACT

Blend composed of 21.8% pulp of grapes, 14% pulp of azedinha and 4.2% pulp of acerola, was evaluated as the parameters of acceptability, pH, acidity, color (L^* , a^* , b^* , h^* and C^*), levels of lutein, vitamin C and phenolic compounds and antioxidant activity, during 100 days of storage. There was no change in pH, acidity, L^* , a^* and C^* . The values of b^* h^* changed, indicating differences in tone of juice over time. The levels of vitamin C and phenolic compounds decreased, but the antioxidant activity and content of lutein remained the same, indicating that lutein is the main component responsible for the antioxidant activity of blend, justifying the use of pulp from vegetables into juices. After 100 days of storage, the juice mixture had good antioxidant activity, keeping its bioactive properties of aid in the prevention of diseases caused by free radicals.

2.1 - INTRODUÇÃO

O Brasil é um grande exportador de produtos do agronegócio e a arrecadação com esses produtos cresce a cada ano. Com clima privilegiado e território fértil disponível, o Brasil produz as mais variadas espécies de frutas tropicais, sendo parte da produção destinada à indústria de sucos de frutas, que correspondeu à cerca de 4% do total das exportações do agronegócio brasileiro em 2007 (BRASIL, 2007).

Os sucos de frutas são apreciados não só pelo sabor agradável, mas também, pelas suas propriedades nutritivas e funcionais. As vitaminas são os componentes bioativos mais importantes da maioria das frutas, porém encontramos também benefícios nos compostos fenólicos, nos carotenóides e, conseqüentemente, na atividade antioxidante produzida por estes compostos.

A vitamina C é hidrossolúvel e termolábil. Os seres humanos e outros primatas são os únicos mamíferos incapazes de sintetizá-la (NISHIKIMI et al., 1994). Considerada um excelente antioxidante, os benefícios obtidos na utilização terapêutica da vitamina C em ensaios biológicos com animais incluem o efeito protetor contra os danos causados pela exposição às radiações e medicamentos (AMARA-MOKRANE et al., 1996), sendo também atribuído a ela um possível papel de proteção no desenvolvimento de tumores nos seres humanos (LUPULESCU, 1993; DUTHIE et al., 1996). A vitamina C participa dos processos celulares de oxi-redução, previne o escorbuto, é importante na defesa do organismo contra infecções e fundamental na integridade das paredes dos vasos sanguíneos (MANELA-AZULAY et al., 2003).

Os compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário das plantas (SÁNCHEZ-MORENO, 2002). Alimentos comuns, como uva e seus produtos derivados, contêm uma grande variedade de compostos fenólicos em quantidades variando de traços a alguns gramas por quilograma do alimento fresco. Tem sido relatado que estes compostos possuem múltiplos efeitos biológicos como atividade antioxidante, ação antiinflamatória, inibição da agregação de plaquetas nos vasos sanguíneos e atividade antimicrobiana (MAZZA et al., 1999). Incluem-se, principalmente, na categoria de

seqüestradores de radicais livres (HASLAM, 1996; SOARES, 2002), ainda que também possam exercer sua ação antioxidante através de outros mecanismos, como quelantes de íons metálicos que catalisam reações de oxidação. Esses compostos interferem na oxidação dos lipídeos e de outras moléculas por uma rápida doação de um átomo de hidrogênio aos radicais livres. Os radicais fenólicos formados são intermediários bastante estáveis (ressonância com o anel benzênico) e dificilmente iniciam uma nova reação em cadeia. Esses radicais intermediários fenólicos atuam reagindo com outros radicais livres, culminando com a terminação das reações de propagação (SÁNCHEZ-MORENO, 2002).

A luteína é um carotenóide encontrado em frutas e, principalmente, hortaliças verdes. Estudos epidemiológicos recentes demonstram uma associação entre elevados níveis de carotenóides na dieta ou no sangue e um efeito protetor contra o desenvolvimento de doenças crônicas, como certos tipos de câncer, doenças cardiovasculares, doenças degenerativas da mácula e cataratas (EDGE et al., 1997). É considerada o antioxidante predominante no olho, protegendo os tecidos da oxidação ao filtrar a luz azul e ao neutralizar os radicais livres. A mácula é um dos tecidos mais metabolicamente ativos de todo o organismo, tem grande concentração de ácidos graxos polinsaturados, é bastante susceptível a danos, e possui baixa capacidade de regeneração. A luteína, não é sintetizada pelo organismo, assim é necessário que ela seja suprida pela ingestão alimentar (DAVIES e MORLAND, 2004).

A produção de polpa e/ou sucos compostos de hortaliças pode ser uma alternativa para aproveitar o excedente da produção de hortaliças, diminuindo o prejuízo dos produtores, que é causado pela queda dos preços durante a safra, proporcionando ao produtor a possibilidade de comercializar o seu produto durante o ano todo. Uma das vantagens de se obter um suco composto de polpa de hortaliça é o desenvolvimento de novos sabores, além do enriquecimento do valor nutritivo e funcional do suco.

O fator determinante para a aceitação de novos produtos de origem alimentícia é a aparência, ou seja, a coloração, forma e embalagem, seguida pelo aroma, sabor e textura. A análise sensorial trabalha de forma sincronizada

com estes atributos sensoriais, buscando atender às necessidades dos consumidores e dos produtores.

A cor é descrita em termos de um sólido tridimensional, introduzindo a cor como consistindo de três atributos: Tonalidade (Hue) que é a grandeza que caracteriza a qualidade da cor (vermelho, verde, azul, etc.), permitindo diferenciá-la; Saturação (Chroma) que descreve a intensidade ou quantidade de uma tonalidade, indicando a proporção em que ela está misturada com o branco, preto ou cinza; e Luminosidade que caracteriza o grau de claridade da cor, indicando se as cores são claras ou escuras. A luminosidade varia de preto a branco, estando associada à sensação produzida por uma superfície com esta cor quando iluminada por uma luz branca de intensidade constante (RAMOS e GOMIDE, 2007).

O objetivo deste trabalho foi avaliar, ao longo de 100 dias, as características físico-químicas, como cor, pH e acidez; e de aceitabilidade em relação ao sabor, impressão global e intenção de compra, de suco misto de polpa de uva, acerola e azedinha; bem como determinar o comportamento das propriedades funcionais de seus componentes bioativos, ao longo deste tempo de armazenamento.

2.2 – MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, localizada na cidade de Viçosa-MG, Brasil.

2.2.1 – Matéria-prima e Produção do Suco Misto

Na formulação do suco misto, foram utilizadas polpas das frutas uva e acerola, industrializadas e pasteurizadas pela empresa Bela Ischia, juntamente com a polpa da hortaliça azedinha (*Rumex acetosa*), produzida no laboratório. As folhas de azedinha foram higienizadas e sanitizadas em água clorada a 150 mg/L de cloro residual livre e sua polpa foi extraída em uma centrífuga Walita, modelo R1 1861. Em seguida foi peneirada, pasteurizada a 90°C/60s (FREITAS et al., 2006a), envasada à quente em garrafas de vidro esterilizadas por 30 minutos em água fervente, resfriada em água corrente e congelada até posterior utilização.

Na fabricação do suco, as polpas de uva (21,8%), acerola (4,2%) e azedinha (14%) foram pesadas e homogeneizadas com água mineral (60% da formulação) e o teor de sólidos solúveis ajustado para 14°Brix com sacarose. Adicionou-se os conservantes benzoato de sódio (260mg/L) e metabissulfito de sódio (40mg SO₂/L). Em seguida, o suco foi pasteurizado a 90°C/60s (FREITAS et al., 2006a) em tacho aberto, envasado à quente (hot fill) em garrafas de vidro esterilizadas em água fervente por 30 minutos, resfriados com água corrente e armazenados a temperatura ambiente. O processamento do suco se realizou em três repetições conforme delineamento estatístico.

Todas as determinações foram realizadas nos tempos zero, 20, 40, 60, 80 e 100 dias de armazenamento.

2.2.2 – Aceitabilidade Sensorial

O suco resultante foi avaliado durante 100 dias, de 20 em 20 dias, em cabines individuais. Sessenta consumidores provaram uma amostra de suco e utilizaram a escala hedônica de nove pontos, com os termos variando do “gostei extremamente” ao “desgostei extremamente”, para indicar o quanto

gostaram ou desgostaram do sabor e da impressão global. Da mesma maneira avaliaram a própria intenção de compra utilizando uma escala de cinco pontos, com os termos variando do “certamente compraria” ao “certamente não compraria” (Figura 9).

Nome: _____ Data: _____

Você está recebendo uma amostra de suco misto. Por favor, prove a amostra e indique o quanto você gostou ou desgostou da amostra, utilizando a escala abaixo.

SABOR

- gostei extremamente
- gostei muito
- gostei moderadamente
- gostei ligeiramente
- não gostei / nem desgostei
- desgostei ligeiramente
- desgostei moderadamente
- desgostei muito
- desgostei extremamente

IMPRESSÃO GLOBAL

- gostei extremamente
- gostei muito
- gostei moderadamente
- gostei ligeiramente
- não gostei / nem desgostei
- desgostei ligeiramente
- desgostei moderadamente
- desgostei muito
- desgostei extremamente

Baseado na IMPRESSÃO GLOBAL desta amostra, indique na escala abaixo o grau de certeza com que você compraria ou não compraria esta amostra, caso esta estivesse à venda nos supermercados

- certamente compraria
- Possivelmente compraria
- Talvez comprasse, talvez não comprasse
- Possivelmente não compraria
- Certamente não compraria

Figura 9. Ficha de respostas para o teste de aceitação

2.2.3 – Análise Microbiológica

A qualidade microbiológica do suco foi analisada, no tempo zero, pela técnica de esterilidade comercial, conforme metodologia recomendada por Silva e Naves (2001). Foi determinado se haveria qualquer alteração de pH maior que 0,2, alteração na embalagem ou modificações químicas, físicas ou sensoriais no produto após ser incubado por 10 dias sob temperatura de 35-37°C.

2.2.4 – Determinações Químicas e de Cor

As determinações de pH e acidez total por titulação potenciométrica seguiram a metodologia da AOAC (1997).

A coloração do suco foi determinada por colorimetria, em colorímetro (modelo Color Quest II Spera – Hunter Lab, Reston, VA), com leitura direta dos parâmetros: **L***, luminosidade; **a***, contribuição do vermelho; **b***, contribuição do amarelo. Os parâmetros de tonalidade (**h***) e saturação (**C***) foram calculados a partir dos valores de **a*** e **b***, conforme as equações 1 e 2.

$$h^* = \arctang(b^*/a^*) \quad (\text{Eq. 1})$$

$$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{-1/2} \quad (\text{Eq. 2})$$

2.2.5 – Determinação dos Teores de Luteína e de Vitamina C

A luteína foi extraída seguindo metodologia descrita por Nachtigall (2007), utilizando acetona como solvente extrator. A quantificação do teor de luteína foi efetuada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) de acordo com Nunes e Mercadante (2004), empregando cromatógrafo a líquido Shimadzu CLASS-VP. Ocorrendo a separação dos carotenóides em coluna de fase reversa C₃₀ YMC (5µm, 250 mm x 4,6 mm), utilizando como fase móvel metanol (0,1% de trimetilamina)/ metil-terc-butil éter 95:5 e fluxo de 1mL/min em modo isocrático, injeção de 50 µL, temperatura da coluna variando entre 29 e 33°C e leitura em comprimento de onda de 450 nm. A quantificação se dá por comparação com a curva padrão de luteína construída com os mesmos parâmetros descritos acima.

As condições para extração e análise da vitamina C seguiram as condições desenvolvidas por Campos (2006). A extração foi feita triturando uma alíquota de suco misto com solução extratora, composta de ácido metafosfórico à 3%, 1mM de EDTA, ácido acético à 8% e 0,3 N de ácido sulfúrico, com auxílio de microtritador. Filtrou-se o material a vácuo, diluindo para volume conhecido com água ultrapura. Procedeu-se a centrifugação e a filtração do sobrenadante em unidades filtrantes com 0,45µm de porosidade, antes da análise.

A quantificação de vitamina C no suco foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). As condições para análise foram: coluna cromatográfica RP-18; detector espectrofotométrico de arranjos de diodos, fase móvel composta de água ultrapura contendo 1 mM de fosfato monobásico de

sódio, 1mM de EDTA e pH ajustado para 3,0 com ácido fosfórico; fluxo da fase móvel: 1,0 mL/minuto; tempo de corrida: 5 minutos. Os cromatogramas foram lidos em comprimento de onda de 245 nm (CAMPOS, 2006). A quantificação se dá por comparação com a curva padrão de ácido ascórbico construída com os mesmos parâmetros descritos acima.

2.2.6 – Determinação do Teor de Compostos Fenólicos e da Atividade Antioxidante

Na determinação dos compostos fenólicos seguiu-se a metodologia do reagente de Folin-Denis, modificada por Silva (2003). O extrato fenólico foi preparado triturando uma alíquota de 5 mL de suco juntamente com 20 mL do solvente extrator (acetona: água, 70:30) por 5 minutos e, posteriormente, deixado em repouso por 25 minutos. O material foi filtrado em papel whatman nº1 e concentrado em evaporador à vácuo a 37°C, até que toda acetona fosse retirada. O material foi suspenso novamente em água:etanol (90:10) em volume conhecido.

Para quantificação dos compostos fenólicos procedeu-se da seguinte maneira: misturou-se em um tubo de ensaio 1 mL do extrato fenólico, 7,5 mL de água destilada e 0,5 mL de reagente de Folin-Denis. Agitou-se a solução e deixou-a em repouso por 3 minutos ao abrigo de luz. Posteriormente, foi adicionado 1 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio e permaneceu em repouso por 1h ao abrigo de luz. O “padrão” foi preparado nas mesmas condições do extrato fenólico, porém o volume do extrato fenólico foi substituído por 1,0 mL do solvente em qual foi preparado (água:etanol, 90:10). A linha de base do espectrofotômetro foi feita com a solução “padrão” e a leitura dos demais tubos, em 725 nm. A quantidade de polifenóis totais foi calculada com base na curva padrão de ácido gálico P.A. preparada com soluções do padrão variando entre 0 e 170 mg/L. O conteúdo fenólico total foi expresso em AGE (ácido gálico equivalente) obtido pela curva padrão.

Vários métodos são utilizados para determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas e um dos mais usados consiste em avaliar a atividade seqüestradora do radical livre 2,2- difenil-1-picril-hidrazila - DPPH•, de coloração púrpura que absorve a 515 nm. Por ação de um antioxidante (AH)

ou uma espécie radicalar (R•), o DPPH• é reduzido formando difenil-picrilhidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou seqüestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH• remanescente no meio reacional num determinado tempo (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; SÁNCHEZ-MORENO et al., 1998).

A determinação da atividade antioxidante foi realizada seguindo a metodologia de avaliação da capacidade sequestrante de radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•), descrita por Espín et al. (2000) e Pukalskas et al. (2002) com modificações, sendo analisada a porcentagem de moléculas do radical DPPH seqüestrado, após determinado tempo, pelos extratos a 50 ppm de polifenóis expressos em AGE. Foi previamente preparada uma solução etanólica 95% de DPPH (0,1mM) e misturada em cubeta de vidro com extratos fenólicos do suco misto nas proporções de 3,5 para 0,5 respectivamente em temperatura ambiente. Foram então realizadas leituras da absorbância apresentada pela mistura em 517 nm em espectrofotômetro (UV-1601 PC Shimadzu) no tempo zero e após 7 minutos de reação no escuro e à temperatura ambiente. Uma solução “branco” foi preparada contendo as mesmas concentrações de todos os componentes, substituindo 0,5 mL DPPH radical por 0,5 mL de etanol 95%. A quantificação foi realizada de acordo com a Equação 3, onde (DPPH•)_f é a absorbância medida no tempo 7 minutos e (DPPH•)_o a absorbância medida no tempo zero.

$$\% \text{ atividade sequestrante} = [1 - (\text{DPPH}^{\bullet})_f / (\text{DPPH}^{\bullet})_o] \times 100 \quad (\text{Eq.3})$$

2.2.7 – Estatística

Os dados experimentais foram processados por regressão em termos de valores de F (p<0,01) utilizando o Programa SAEG 9.1, licenciado pela UFV. Avaliando a influência do tempo no comportamento dos componentes analisados.

Os coeficientes de determinação (R²) foram calculados pela razão entre a soma de quadrados da regressão e a soma de quadrados do total.

Os coeficientes de variação (CV%) foram calculados pela raiz quadrada do quadrado médio do resíduo dividido pela média aritmética dos resultados em cada tempo avaliado e multiplicando-se este valor por 100.

Para os resultados da aceitação sensorial, os provadores foram considerados como blocos no delineamento estatístico para diminuir sua interferência no resultado.

Todas as determinação físico-químicas foram realizadas em 3 repetições e, no mínimo, em duplicata. Na aceitação sensorial, os 60 provadores foram considerados repetições.

2.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 – Aceitabilidade Sensorial

A Tabela 11 representa os resultados da análise de variância do tempo, onde podemos observar que houve diferença significativa, à 1% de probabilidade, entre as notas dadas pelos provadores nos 6 tempos avaliados. As notas para sabor, impressão global e intenção de compra, foram diminuindo com o passar do tempo, porém devemos ressaltar que, na avaliação do centésimo dia, o produto teve a média das notas localizada na faixa de aceitação, indicando que o suco permanecia aceito pelos consumidores. A avaliação nos 100 dias de armazenamento obteve as notas variando entre os termos hedônicos “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”, para os atributos de sabor e impressão global, e “talvez comprasse/talvez não comprasse” e “provavelmente compraria”, para o atributo intenção de compra.

Tabela 11. Resumo da análise de variância dos testes de aceitação para impressão global, sabor e intenção de compra

FV	GL	Quadrados Médios		
		Sabor	Impressão Global	Intenção de Compra
Tempo	5	3,0983**	10,3161**	3,0561**
Provador	59	1,0532	1,3417	0,814
Resíduo	295	0,6859	1,072	0,5499
CV (%)		11,15	14,39	18,84

** diferença significativa a 1% de probabilidade pelo teste F

Na Tabela 12 estão representados os valores das notas dadas pelos provadores durante o teste de aceitação, para os atributos sabor, impressão global e intenção de compra durante o tempo de armazenamento. Esses valores referem-se à média aritmética das notas dadas pelos 60 consumidores, que foram considerados como blocos no delineamento do experimento.

Tabela 12. Escores médios e desvio padrão de aceitação para sabor, impressão global e intenção de compra, ao longo de 100 dias de armazenamento.

Tempo	Sabor	Impressão Global	Intenção de Compra
0	7,47	7,50	3,90
20	7,58	7,47	4,20
40	7,60	7,33	4,12
60	7,42	7,18	3,83
80	7,50	7,32	4,00
100	6,98	6,38	3,57

Na Tabela 13 estão representadas as equações dos modelos de regressão ajustadas para os resultados do teste de aceitação que avaliou, na opinião do provável consumidor, o comportamento do sabor, impressão global e intenção de compra ao longo de 100 dias de armazenamento.

Tabela 13. Equações de regressão para as variáveis sabor, impressão global e intenção de compra em função do tempo

Variável	Equações Ajustadas	R ²
Sabor	$Sabor = 7,4559 + 0,008875t - 0,0001294t^2$	0,837
Impressão global	$Global = 7,4345 + 0,006494t - 0,0001533t^2$	0,799
Intenção de compra	$Compra = 3,9595 + 0,008262t - 0,0001190t^2$	0,766

As Figuras 10, 11 e 12 representam o comportamento das notas para os atributos sensoriais de sabor, impressão global e intenção de compra ao longo dos 100 dias de armazenamento.

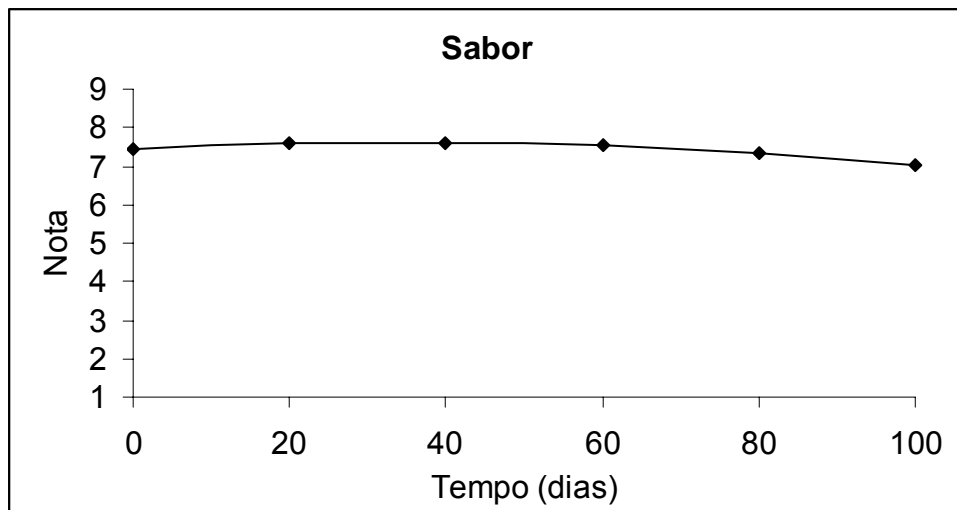


Figura 10. Variação das notas para sabor ao longo do tempo.

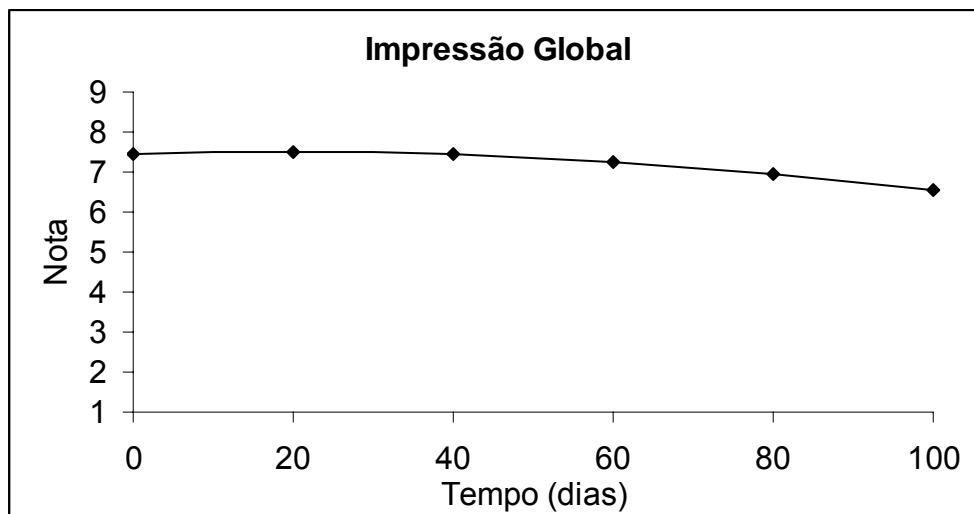


Figura 11. Variação das notas para impressão global ao longo do tempo.

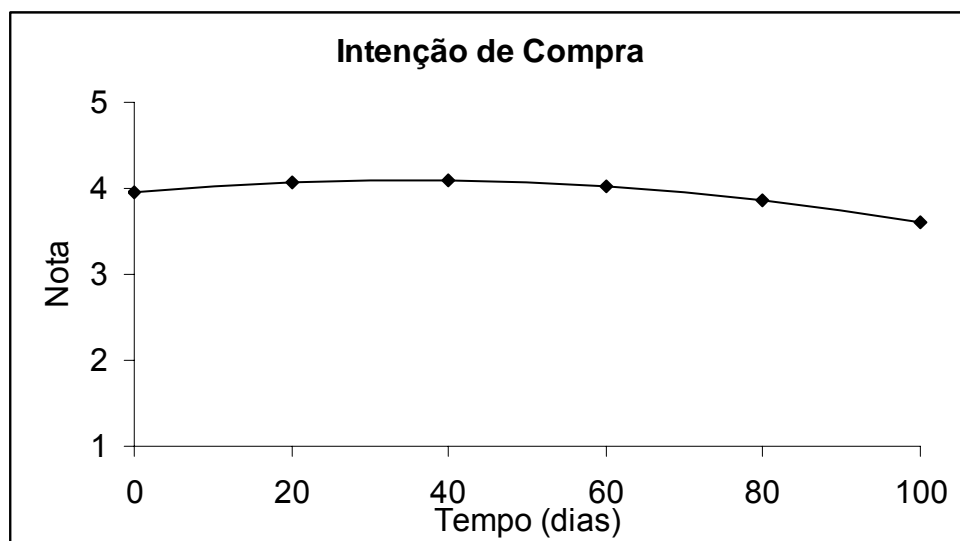


Figura 12. Variação das notas para intenção de compra ao longo do tempo.

Podemos observar uma pequena queda dos valores das notas para os atributos sensoriais avaliados, sendo mais acentuada nos últimos 20 dias de armazenamento. Devemos ressaltar, porém, que durante os 80 primeiros dias de armazenamento, as notas para os atributos sabor e impressão global permaneceram na faixa de ótima aceitação, entre as notas 8 e 7, que representam os termos hedônicos “gostei muito” e “gostei moderadamente”. Somente na avaliação do tempo 100, a média das notas dadas pelos provadores ficou entre 7 (gostei moderadamente) e 6 (gostei muito), permanecendo, mesmo assim, na faixa de aceitação. Para o atributo intenção de compra, durante os 100 dias de armazenamento, as notas variaram entre os termos “provavelmente compraria” e “talvez comprasse/talvez não comprasse”.

A pequena queda das notas dos atributos sensoriais pode ter ocorrido devido à mudança significativa da tonalidade (h^*) do suco, explicada pela Figura 14. Outro provável motivo é a exposição à luz, pois os sucos foram envasados em garrafa de vidro, e a luz, juntamente com o oxigênio presente no espaço vazio da garrafa, podem ser os responsáveis por diversas alterações químicas não identificadas neste experimento.

Uma vez controlados os aspectos microbiológicos e enzimáticos, a estabilidade dos sucos de frutas está relacionada com a ocorrência de reações químicas complexas que comprometem suas qualidades sensoriais (aroma, sabor, cor, consistência, estabilidade da turbidez, separação das fases sólida-líquida, etc.) e que também acarretam perdas nutricionais (ALVES e GARCIA, 1993). No Brasil, no segmento de mercado de sucos estáveis à temperatura ambiente, são usados tradicionalmente frascos de vidro, bem como as embalagens cartonadas de acondicionamento asséptico (BESERRA e GUIMARÃES, 1998).

Freitas et al. (2006b) compararam a estabilidade de suco de acerola envasado em garrafa de vidro pelo processo hot fill e em embalagem cartonada assepticamente, onde ambos apresentaram estabilidade microbiológica durante o tempo de 350 dias de armazenamento. Quanto ao sabor, os sucos do processo hot fill mantiveram o sabor, enquanto que os sucos do processo asséptico tiveram uma piora na aceitação. Da mesma maneira, houve alterações nas características físico-químicas de ambos os processos, porém,

as amostras do processo hot fill apresentaram maior estabilidade ao longo do período de armazenamento

2.3.2 – Análise Microbiológica

Não houve qualquer alteração de pH maior que 0,2, alteração na embalagem ou modificações químicas, físicas ou sensoriais no produto após ser incubado, indicando que o produto estava estéril comercialmente.

2.3.3 – Análises Químicas e de Cor

Os valores das determinações químicas de pH, acidez titulável e de cor L*, a*, b*, h* e C* estão expressos na Tabela 14. Estes valores representam a média aritmética de três repetições que foram avaliadas durante 100 dias de armazenamento.

O valor médio de pH foi 3,02, muito próximo dos valores de pH das polpas de uva (2,83) e acerola (2,95) encontrados na caracterização das polpas. A legislação brasileira determina o valor de pH para polpa de uva igual a 2,9. Para acidez total titulável, a legislação determina o valor de 0,41g de ácido tartárico/100g de suco de uva, e o valor encontrado no suco misto foi de 0,43g de ácido tartárico/100g de suco (BRASIL, 1999). Esta diferença pode ser explicada pelo fato do suco não ser composto apenas por polpa de uva.

Tabela 14. Média e desvio padrão dos valores de pH, acidez total titulável (% ácido tartárico), Ratio, L*, a*, b*, h* e C*.

Tempo	pH	Acidez	L*	a*	b*	h*	C*
0	3,09	0,43	28,84	4,69	0,67	7,84	4,73
	± 0,02	± 0,07	± 0,33	± 1,65	± 0,38	± 1,65	± 1,78
20	3,04	0,42	27,01	4,17	0,79	10,81	4,24
	± 0,05	± 0,06	± 0,39	± 0,59	± 0,08	± 1,64	± 0,59
40	2,76	0,42	28,94	3,56	0,12	1,83	3,56
	± 0,03	± 0,04	± 0,25	± 0,62	± 0,12	± 1,48	± 0,63
60	3,11	0,42	27,83	3,56	0,67	10,51	3,63
	± 0,02	± 0,04	± 0,81	± 0,49	± 0,28	± 3,87	± 0,50
80	3,09	0,43	27,51	3,74	1,39	20,57	3,99
	± 0,02	± 0,06	± 0,33	± 0,76	± 0,27	± 3,11	± 0,75
100	3,04	0,43	27,52	3,62	1,67	25,07	3,99
	± 0,02	± 0,02	± 0,24	± 0,75	± 0,23	± 2,27	± 0,77

Na tabela 15, que representa a análise de variância das determinações químicas e de cor, podemos observar que não houve diferença significativa do tempo para os valores de pH, acidez, L*, a* e C* ao longo do tempo de 100 dias. Sendo assim, as equações de regressão ajustadas para estes parâmetros é igual à média aritmética dos valores dos tempos zero, 20, 40, 60, 80 e 100 dias. Pelas variáveis b* e h* foram obtidas equações quadráticas representadas na Tabela 16.

Tabela 15. Resumo da análise de variância das análises químicas e de cor

FV	GL	Quadrados Médios						
		pH	Acidez	L*	a*	b*	h*	C*
Tempo	5	0,049 ^{ns}	0,0006 ^{ns}	1,830 ^{ns}	0,614 ^{ns}	0,938 ^{**}	219,002 ^{**}	0,550 ^{ns}
Resíduo	12	0,0008	0,002	0,193	0,851	0,061	6,231	0,884
CV (%)		0,933	2,37	1,57	23,73	27,96	19,55	23,36

** diferença significativa a 1% de probabilidade pelo teste F

ns - F não significativo a 1% de probabilidade

Tabela 16. Equações de regressão para as variáveis pH, acidez e de cor em função do tempo

Variável	Equações Ajustadas	R ²
pH	pH = 3,02	-
Acidez	Acidez = 0,43	-
L*	L = 27,94	-
a*	a* = 3,89	-
b*	$b^* = 0,73797 - 0,01792t + 0,0002846t^2$	0,807
h* (hue)	$h = 8,89381 - 0,1968t + 0,003741t^2$	0,832
C* (chroma)	C = 1,03	-

A Figura 13 representa o comportamento do parâmetro b* ao longo do tempo. Os valores de b* variam do azul (valores negativos) ao amarelo (valores positivos). Durante os 100 dias de armazenamento houve aumento da coloração amarela no suco que pode ter ocorrido devido à degradação da clorofila, presente na polpa de azedinha, tornando mais evidente a presença da luteína.

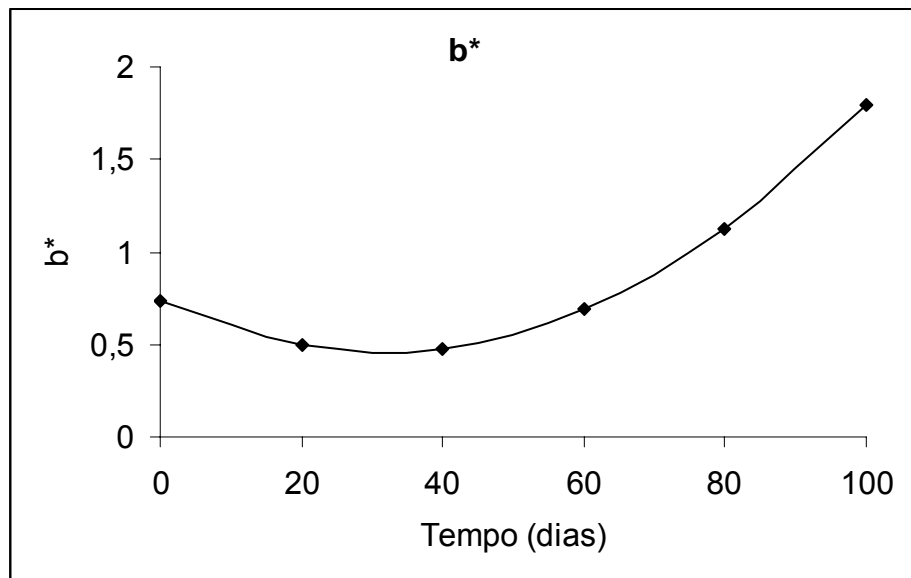


Figura 13. Gráfico do comportamento de b^* ao longo do tempo

A Figura 14 nos mostra de que forma o parâmetro de tonalidade (h^*) variou ao longo dos 100 dias de armazenamento. Houve um aumento do valor de h^* ao longo do tempo mostrando que houve alteração da cor neste período. Essa mudança não é desejada, uma vez que a cor é um atributo importante para a aceitação do produto. Foi verificado que a aceitação dos atributos sensoriais do suco diminuiu com o tempo de armazenamento, nos fazendo pensar que mudança de cor pode ter sido a responsável por essa queda.

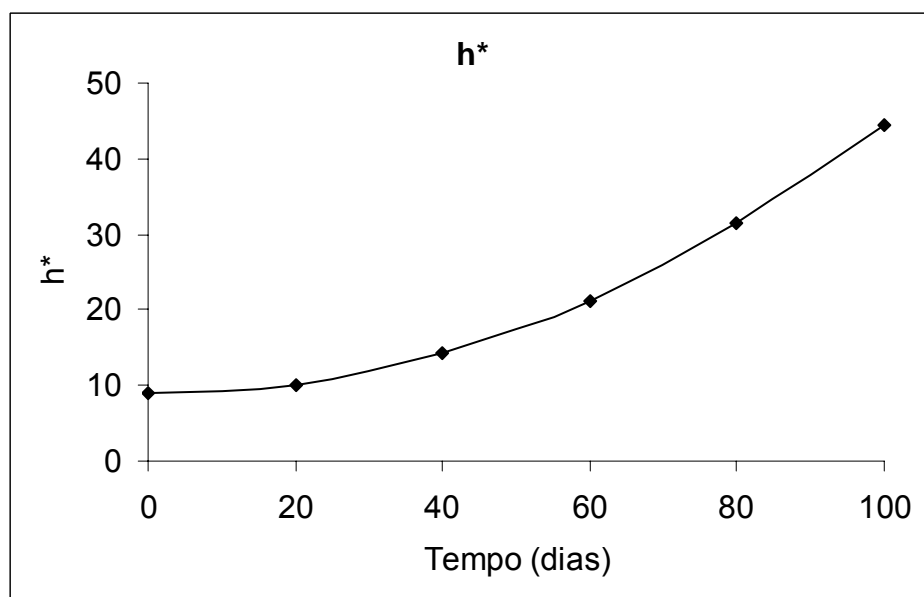


Figura 14. Gráfico do comportamento de tonalidade ao longo do tempo

No tempo 40, os valores de b^* e, conseqüentemente de h^* , tiveram uma queda acentuada. Acredita-se que neste tempo, houve um erro na determinação do valor de b^* no colorímetro, pois esta análise é realizada por leitura direta no aparelho.

2.3.4 – Análise dos Teores de Luteína, Vitamina C e Compostos Fenólicos e de Atividade Antioxidante

Na Tabela 17 encontram-se as médias aritméticas e desvio padrão de 3 repetições das respostas obtidas nas análises de determinação de luteína, vitamina C, compostos fenólicos e atividade antioxidante.

Tabela 17. Valores médios dos compostos bioativos: luteína, vitamina C e fenólicos e da atividade antioxidante (% atividade sequestrante).

Tempo	Luteína mg/100mL	Vitamina C mg/100g	Fenólicos mgAGE/100mL	% Atividade antioxidante
0	0,033 ± 0,07	20,29 ± 0,31	39,83 ± 4,11	61,93 ± 3,48
20	0,039 ± 0,16	22,48 ± 0,39	35,20 ± 0,74	63,93 ± 4,49
40	0,033 ± 0,16	19,16 ± 2,86	35,03 ± 2,34	53,49 ± 10,16
60	0,043 ± 0,12	8,80 ± 1,73	33,99 ± 3,34	75,07 ± 19,72
80	0,036 ± 0,18	14,76 ± 2,75	29,14 ± 1,10	67,38 ± 4,60
100	0,036 ± 0,12	11,45 ± 5,77	28,05 ± 0,76	69,77 ± 11,39

A Tabela 18 mostra que, para a luteína e a atividade antioxidante, o tempo de 100 dias não produziu efeito, pois não houve diferença significativa, à 1% de probabilidade, entre os valores nos diferentes tempos de armazenamento. Os efeitos do tempo de armazenamento foram negativos para os teores de compostos fenólicos e de vitamina C, reduzindo-os com o passar dos dias. A Tabela 18 mostra que houve diferença significativa, à 1% de probabilidade, entre os valores de compostos fenólicos e vitamina C, nos tempos zero, 20, 40, 60, 80 e 100 dias.

Tabela 18. Resumo da análise de variância das análises dos compostos bioativos e da atividade antioxidante

FV	GL	Quadrados Médios			
		Luteína	Vitamina C	Fenólicos	Atividade antioxidante
Tempo	5	0,0003 ^{ns}	86,2681**	87,3630**	163,4262 ^{ns}
Resíduo	12	0,0017	14,4442	1,7288	112,5505
CV (%)		11,37	23,52	3,92	16,26

** diferença significativa a 1% de probabilidade pelo teste F
 ns - F não significativo a 1% de probabilidade

Mesmo que não tenha sido detectada diferença significativa ao longo do tempo do conteúdo de luteína e dos valores de atividade antioxidante, podemos observar na Tabela 17 que, quando os valores de luteína aumentam, os valores da atividade antioxidante aumentam, sendo o inverso verdadeiro. Podemos concluir que neste suco misto, o principal composto bioativo responsável pela atividade antioxidante é a luteína, justificando o uso da hortaliça na formulação de sucos prontos para beber.

Na avaliação do suco misto no tempo 60, foi observada uma queda no teor de vitamina C e, posteriormente, no tempo 80, houve um aumento. Como não é possível que o suco tenha recuperado vitamina C que por ventura tenha sido degradada, acredita-se que houve um erro na determinação do conteúdo de vitamina C no tempo 60.

A tabela 19 mostra as equações de regressão ajustadas para os parâmetros de luteína, vitamina C, compostos fenólicos e atividade antioxidante. Como para luteína e atividade antioxidante não foi encontrado diferença significativa, à 1% de probabilidade, sua equação é representada pela média aritmética dos valores encontrados em todos os tempos avaliados. Para o teor de compostos fenólicos e de vitamina C modelos lineares foram ajustados e estão representados graficamente pela Figura 15 e 16, respectivamente.

Tabela 19. Equações de regressão para os teores de luteína, vitamina C, compostos fenólicos e atividade antioxidante em função do tempo e os respectivos coeficientes de determinação

Variável	Equações Ajustadas	r ²
Luteína	Luteína = 0,036	-
Vitamina C	Vitamina C = 21,7115 – 0,1111t	0,599
Compostos Fenólicos	Fenólicos = 39,1201 - 0,1116t	0,930
% Atividade Antioxidante	Antioxidante = 65,26	-

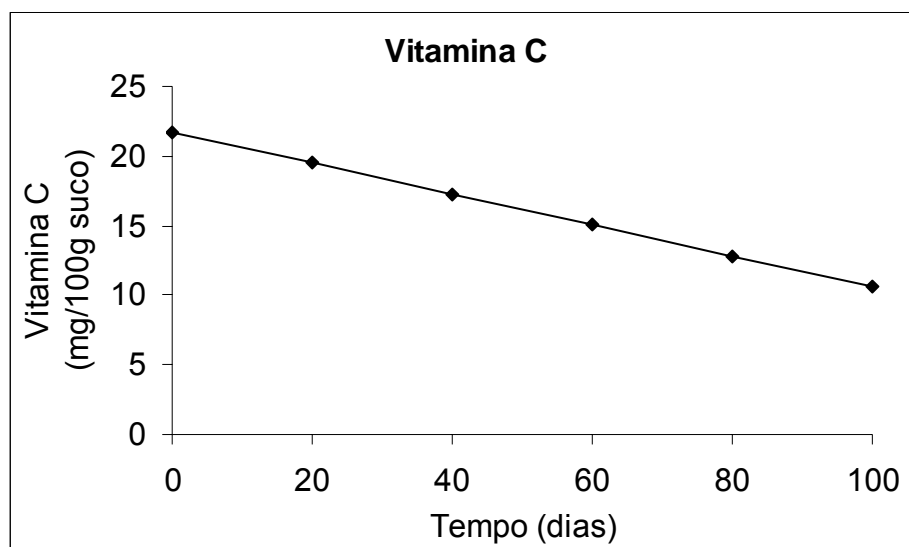


Figura 15. Comportamento do teor de vitamina C ao longo do tempo de armazenamento.

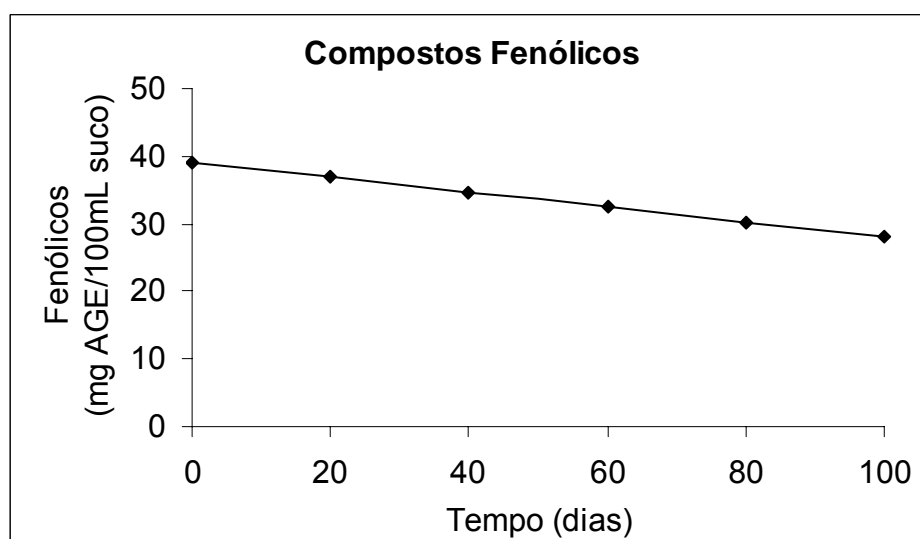


Figura 16. Comportamento do teor de compostos fenólicos ao longo do tempo de armazenamento.

Bernstein et al. (2002) demonstraram que em indivíduos com degeneração macular, a suplementação diária de 4 mg de luteína, resultou em um maior nível de concentração de tal pigmento na mácula, quando comparado ao grupo controle, no qual não foi administrada a suplementação. O valor médio de luteína encontrado foi 0,036 mg/100mL de suco. Dois copos de 300mL deste suco suprem 3,6% das necessidades diárias de consumo de luteína que é de 6 a 20 mg/dia (KRINSKY et al., 2003; ALTERNATIVE MEDICINE REVIEW, 2005; KRINSKY e JOHNSON, 2005).

Logo após a fabricação do suco misto, 300 mL dele possuía cerca de 65% das necessidades diárias de vitamina C para um adulto (90mg/dia). Ao final dos 100 dias de armazenamento, esse teor representava 38% das necessidades diárias, sendo considerado alimento fonte de vitamina C. A ingestão de dois copos (300 mL) do suco misto por dia supriria quase 80% das necessidades diárias de vitamina C de um adulto, podendo ser classificado como um alimento fonte deste nutriente. De acordo com a Portaria n° 27, de 13 de janeiro de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para que alimentos líquidos e prontos para consumo sejam considerados fonte de determinado nutriente, deve atingir 15% da IDR (Ingestão Dietética de Referência) (BRASIL, 1998).

O teor de vitamina C decresceu durante o tempo de armazenamento, porém a atividade antioxidante do suco foi mantida, indicando efeito sinérgico entre os antioxidantes presentes no suco, em que um reage com o radical livre protegendo o outro. Estudo feito sobre a absorção de luteína observou que o aumento de luteína no sangue foi significativo quando esse carotenóide foi co-suplementado com vitamina C. Além disso, a concentração sérica do grupo que recebeu luteína e vitamina C aumentou bem mais rápido do que a do grupo que fez uso apenas da luteína (TANUMIHARDJO et al., 2005).

A importância relativa ao desempenho dos antioxidantes *in vivo* depende dos fatores: tipos de radicais livres formados; onde e como são gerados esses radicais; análise e métodos para a identificação dos danos e doses ideais para obter proteção. Assim, é perfeitamente possível que um antioxidante atue como protetor em determinado sistema, mas que falhe na proteção, ou mesmo que

aumente as lesões induzidas, em outros sistemas ou tecidos (HALLIWELL et al., 1995).

A vitamina C, por exemplo, atua na fase aquosa como um excelente antioxidante sobre os radicais livres, mas não é capaz de agir nos compartimentos lipofílicos para inibir a peroxidação dos lipídeos. Por outro lado, estudos *in vitro* mostraram que essa vitamina na presença de metais de transição, tais como o ferro, pode atuar como uma molécula pró-oxidante e gerar os radicais H_2O_2 e $OH\cdot$. Geralmente, esses metais estão disponíveis em quantidades muito limitadas e as propriedades antioxidantes dessa vitamina predominam *in vivo* (ODIN, 1997).

Melo et al. (2008) estudaram o conteúdo fenólico de polpas congeladas de frutas, incluindo uva e acerola, e encontraram maior teor de compostos fenólicos na polpa de acerola, quando comparada com as outras frutas. Foi observado que a maioria dos compostos fenólicos presentes nas polpas de uva e acerola são solúveis em água. O conteúdo de compostos fenólicos em suco de uva avaliados em diversos trabalhos variou entre 31,2 – 191,5 mg AGE/100mL de suco (SAUTTER et al., 2005; VARGAS et al., 2008) e para suco de acerola foi encontrado uma média de 580,1 mg AGE/100g de suco (KUSKOSKI et al., 2006). Não foram encontrados trabalhos quantificando o conteúdo fenólico da azedinha, porém, alguns compostos fenólicos foram identificados como presentes nas suas folhas, como catequina, ácido ferúlico, ácido clorogênico e rutina (TOLR'A et al., 2005).

No suco misto produzido, foram encontrados teores de 39,83 mg AGE/100mL de suco no tempo inicial e que foi reduzido para 28,05 mg AGE/100mL ao final dos 100 dias de armazenamento. Considerando que o suco foi formulado com 21,8% de polpa de uva, 14% de polpa de azedinha e somente 4,2% de polpa de acerola, estes valores estão coerentes, pois utilizamos maior quantidade das polpas com menor teor de compostos fenólicos.

A porcentagem de atividade antioxidante corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante durante determinado tempo, sendo que a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de

DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (EC_{50}), também chamada de concentração inibitória (CI_{50}). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua EC_{50} e maior a sua atividade antioxidante (SOUSA, et al., 2007). O EC_{50} do suco foi determinado em 7 minutos.

As polpas de acerola e uva se destacaram na avaliação da atividade antioxidante com mais de 90% de seqüestro de radical DPPH (SAUTTER et al., 2005; VARGAS et al., 2008), enquanto Mantle et al. (2000) encontraram elevada atividade antioxidante nas folhas de *Rumex acetosa* quando comparada com extrato de *Ginkgo biloba*, geralmente considerado um potente antioxidante.

O valor médio encontrado para a atividade antioxidante do suco misto foi de 65% indicando bom poder antioxidante, que foi mantido ao longo do tempo de armazenamento. A vantagem desse resultado está em poder estocar por pelo menos 100 dias o suco, sem o auxílio de refrigeração, diminuindo o custo de armazenamento e, mesmo assim, mantendo os benefícios à saúde do consumidor tão desejados nos sucos de frutas.

2.4 – CONCLUSÕES

O suco misto apresentou boa aceitação durante os 100 dias de armazenamento. As notas dadas pelos provadores localizam o suco entre os termos hedônicos “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. Quanto à avaliação sobre a intenção de compra dos consumidores, as notas ficaram entre os termos “talvez comprasse/talvez não comprasse” e “possivelmente compraria”.

Os parâmetros químicos avaliados não tiveram alteração em função do tempo. Dentre os parâmetros de cor, somente os valores de b^* e h^* (tonalidade) mudaram durante o tempo de armazenamento. O valor de b^* aumentou, indicando tendência ao aumento do amarelo, enquanto que a mudança no valor de h^* indica mudança de tonalidade, ou seja, o suco mudou de cor.

Na avaliação dos compostos bioativos, houve diminuição dos teores de vitamina C e de compostos fenólicos, porém, um copo de 300 mL do suco

misto possuía 38% do valor diário recomendado à um adulto para vitamina C ao final dos 100 dias de armazenamento, indicando que o suco misto é um alimento fonte de vitamina C.

Apesar da diminuição nos teores de vitamina C e compostos fenólicos, não houve queda da atividade antioxidante após 100 dias de armazenamento. Os teores de luteína também permaneceram iguais, sugerindo que a luteína é o composto principal na atividade antioxidante e que ela pode ter sido protegida, pela vitamina C e pelos compostos fenólicos, da reação com os radicais livres.

2.5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTERNATIVE MEDICINE REVIEW. Lutein and Zeaxanthin – Monograph. Nenhum autor listado. **Alternative Medicine Review**, v.10, n.2, p.128-135, 2005.

ALVES, R. M. V.; GARCIA, E. E. C. Embalagem para Sucos de Frutas. **Colet. ITAL**, Campinas, SP, v. 23, n. 2, p. 105-122, 1993.

AMARA-MOKRANE, Y.A.; LEBUCHER-MICHEL, M.P.; BALANSARD, G.; DUMÉNIL, G.; BOTTA, A. Protective effects of α -hederin, chlorophyllin and ascorbic acid towards the induction of micronuclei by doxorubicin in cultured human lymphocytes, **Mutagenesis** 11, pp. 161–167, 1996.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International**. 16. ed. Washington: AOAC, v.2, 1997.

ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chem**, 89, 27, 2005.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova**, 29, 113, 2006.

BERNSTEIN, P. S., ZAO, D., WINTCH, S. W.; ERMAKOV, I.V.; McCLANE, R.W.; GELLERMANN, W. Resonance raman measurement of macular carotenoides in normal subjects and in age-related macular degeneration patients. **Ophthalmology**, v.109, p.1780-1787, 2002.

BESERRA, F. J.; GUIMARÃES, A. C. L.. Embalagens para Sucos e Polpas. In: BESERRA, F.; GUIMARÃES, A. C. L. **Curso de Tecnologia em Processamento de Sucos e Polpas Tropicais** - Curso de especialização por tutoria à distância. Brasília, DF: ABEAS/UFC. Módulo 6. 1998.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Lebensm.- Wiss. Technol**, 28, 25, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Secretaria de Relações Internacionais do Agronegócio**. Balança Comercial do Agronegócio, 2007. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 14/03/2008, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 12, de 10 de setembro de 1999**. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade Gerais para Suco e Néctar Tropicais. 13/09/1999.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998**. Aprova o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes), constantes do anexo desta Portaria. D.O.U. - Diário Oficial da União, de 16 de janeiro de 1998.

CAMPOS. F.M. **Avaliação de práticas de manipulação de hortaliças visando a preservação de vitamina C e carotenóides**. Dissertação de mestrado. Programa de pós-graduação em Ciência da Nutrição, UFV, 2006.

DAVIES, N. P.; MORLAND, A. B. Macular pigments: their characteristics and putative role. **Progress in Retinal and Eye Research**, v.23, p.533-559, 2004.

DUTHIE, S.J., MA, A., ROSS, M.A., COLLINS, A.R. Antioxidant supplementation decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes. **Cancer Research**, Baltimore, v.56, n.6, p.1291-1295, 1996.

EDGE R, MC GARVEY DJ, TRUSCOTT TG. The carotenoids as anti-oxidants – A review. **J Photoch Photobiol B Biology**; 41:189-200. 1997.

ESPÍN, J.C.; SOLER-RIVAS, C.; WICHERS, H.J.; GARCÍA-VIGERA, C. Anthocyanin-Based Natural Colorants: A New Source of Antiradical Activity for Foodstuff. **J. Agric. Fodd Chem.**, n.48, p. 1588-1592. 2000.

FREITAS, C.A.S; MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M.; BRASIL, I.M.; PINHEIRO, A.M. Storage stability of acerola tropical fruit juice obtained by hot fill method. **International Journal of Food Science and Technology**, 1216 41, 1216–1221, 2006a.

FREITAS, G.A.S.; MAIA, G.A.; COSTA, J.M.C; FIGUEIREDO, R.W.; RODRIGUES, M.C.P.; SOUSA, P.H.M. Estabilidade do suco tropical de acerola (*malpighia emarginata* d.c.) adoçado envasado pelos processos hot-fill e asséptico. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26(3): 544-549, jul.-set. 2006b.

HALLIWELL, B.; AESCHBACH, R.; LÖLINGER, J.; ARUOMA, O.I. The characterization on antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.33, n.7, p.601-617, 1995.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. **J. Nat. Prod.** 59, 205, 1996.

HERCBERG, S.; GALAN, P.; PREZIOSI, P.; ROUSSEL, A.M.; ARNAU, J.; RICHARD, M.J.; MALVY, D.; PAULDAUPHIN, A.; BRIANCON, S.; FAVIER, A. Background and rationale behind the SU.VI. MAX study, a prevention trial using nutritional doses of a combination of antioxidant vitamins and minerals to reduce cardiovascular diseases and cancers. **International Journal for Vitamins and Nutrition Research**, Bern, v.68, n.1, p.3- 20, 1998.

IOM-USA - Institute of Medicine Food and Nutrition Board. **Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes.** Dietary Reference Intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. Washington, D.C., National Academy Press. 2000.

JACOB, R.A. The integrated antioxidant system. **Nutrition Research**, New York, v.15, n.5, p.755-766, 1995.

KRINSKY, N. I., JOHNSON E. J. Carotenoid Actions and their Relation to Health and Disease. **Mol Aspects Med**, v.26, n.6, p.459-516, 2005

KRINSKY, NORMAN I.; LANDRUM, JOHN T.; BONE, RICHARD A. Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 23, p. 171-201, 2003.

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, jul-ago, 2006.

LUPULESCU, A. The role of vitamins A, b-carotene, E and C in cancer cell biology. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, Bern, v.63, n.3, p.3-14, 1993.

MANELA-AZULAY, M.; MANDARIM-DE-LACERDA, C.A.; PEREZ, M.A.; FILGUEIRA, A.L.; CUZZI, T. Vitamina C. **An bras Dermatol**, Rio de Janeiro, 78(3):265-274, maio/jun. 2003.

MANTLE, D.; EDDEB, F.; PICKERING, A.T. Comparison of relative antioxidant activities of British medicinal plant species in vitro. **Journal of Ethnopharmacology** 72, 47–51. 2000.

MAZZA, G.; FUKUMOTO, L.; DELAQUIS, P.; GIRARD, B.; EWERT, B. Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia. **J. Agric. Food Chem.** n.47, p.4009-4017, 1999.

MELO, E.A; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G; ARAÚJO, C.R. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante de polpas congeladas de frutas. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.19, n.1, p. 67-72, jan./mar. 2008.

NACHTIGALL, A.M.; STRINGHETA, P.C; FIDELIS, P.C.; NACHTIGALL, F.M. Determinação do teor de luteína em hortaliças. **B.CEPPA**, Curitiba v.25, n.2, jul./dez. 2007.

NIKI, E., NOGUSHI, N., TSUCHIHASHI, H., GOTOH, N. Interaction among vitamin C, vitamin E, and b--carotene. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.62, n.6, p.1322-1326, 1995.

NISHIKIMI, M.R.; FUKUYAMA, S.; MINOSHIMA, N.; SHIMIZU, K.; YAGI. Cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L-gulonogamma-lactone oxidase, the enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in man. **J Biol Chem**; 269(18):13685-13688. 1994.

NUNES, I.L.; MERCADANTE, A.Z. Utilização de colunas de fase reversa C₁₈ e C₃₀ para separação de carotenóides por CLAE. **Anais do Congresso Brasileiro De Ciência E Tecnologia De Alimentos**, 19, Recife-PE. CD-Rom. 2004.

ODIN, A.P. Vitamins as antimutagens: advantages and some possible mechanisms of antimutagenic action. ***Mutation Research***, Amsterdam, v.386, n.1, p.39-67, 1997.

PEDRÃO, M.R.; CORÓ, F.A.G. Análise sensorial e sua importância na pesquisa de alimentos. **UNOPAR Cient., Ciênc. Biol. Saúde**, Londrina, v.1, n.1, p. 85-89, out. 1999.

PUKALSKAS, A.; BEEK, T.A.V.; VENSKUTONIS, R.P.; LINSSEN, J.P.H.; VELDHUIZEN, A.V.; De GROOT, A. Identification of radical scavengers in sweet grass (*Hierochioe odorata*). **J. Agric. Fodd Chem.**, n.50, p. 2914-2919. 2002.

RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. Avaliação Objetiva da Cor. In: Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologias. Cap.7, ed. UFV, Viçosa-MG, p. 287-370, 2007.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Compuestos polifenólicos: efectos fisiológicos. Atividade antioxidante. *Alimentaria*, p.29-40. 2002.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **J. Sci. Food. Agric**, 76, 270, 1998.

SAUTTER, C.K.; DENARDIN, S.; ALVES, A.O.; MALLMANN, C.A.; PENNA, N.G.; HECKTHEUER, L.H. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 25(3): 437-442, jul.-set. 2005

SILVA, C.R.M.; NAVES, M.M.V. Suplementação de vitaminas na prevenção de câncer. **Rev. Nutr.**, Campinas, 14(2): 135-143, maio/ago., 2001

SILVA, P.C.F. **Propriedades antioxidantes in vitro de uva branca e de uva tinta e de seus respectivos vinhos elaborados.** Dissertação de mestrado. Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFV, 2003.

SOARES, S. E. Acidos fenólicos como antioxidantes **Rev. Nutr**, 15, 71, 2002.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA-JR, G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quim. Nova**, Vol. 30, No. 2, 351-355, 2007

TANUMIHARDJO, S. A.; LI, J.; DOSTI, M.P. Lutein absorption is facilitated with cosupplementation of ascorbic acid in young adults. **Journal of the American Dietetic Association** n. 105, p. 114-1148, 2005.

TOLR'A, R.P.; POSCHENRIEDER, C.; LUPPI, B.; BARCEL'O, J. Aluminium-induced changes in the profiles of both organic acids and phenolic substances underlie Al tolerance in *Rumex acetosa* L. **Environmental and Experimental Botany** 54, 231–238. 2005.

VARGAS, P.N.; HOELZEL, S.C.; ROSA, C.S. Determinação do teor de polifenóis totais e atividade antioxidante em sucos de uva comerciais **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.19, n.1, p. 11-15, jan./mar. 2008.

CONCLUSÕES GERAIS

O delineamento de misturas utilizado na escolha da formulação permitiu a avaliação da influência de cada polpa nos parâmetros químicos, de cor e sensorial; indicando que a polpa de acerola contribuiu para o aumento do pH, dos parâmetros de cor L* e a*, além do aumento do teor de vitamina C; e a polpa de azedinha contribuiu para diminuir pH e a*, aumentar C* e o teor de carotenóides totais. As diferentes proporções de polpa na formulação do suco misto não influenciaram significativamente na aceitação.

O suco misto avaliado, com 21,8% de polpa de uva, 14% de azedinha e 4,2% de acerola, teve queda na aceitação em relação ao sabor, à impressão global e à intenção de compra, ao longo do armazenamento, porém, para sabor e impressão global, as notas ficaram na faixa de aceitação, entre os termos “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”, indicando que após 100 dias o suco era aceito sensorialmente. Para intenção de compra, houve queda do termo “possivelmente compraria” para “talvez comprasse / talvez não comprasse”.

Para a maioria dos parâmetros químicos e de cor, não houve alteração através do tempo, com exceção dos valores de b* e h* que aumentaram significativamente ao longo dos 100 dias de armazenamento, onde aumento de b* significa tendência para o amarelo e aumento de h* mudança na cor (tonalidade).

Quanto aos teores de vitamina C e compostos fenólicos, houve gradativa diminuição ao longo do tempo, onde um copo de 300 mL do suco misto obteve cerca de 38% do valor diário recomendado, podendo ser classificado como contendo alto teor de vitamina C.

Mesmo com a diminuição de dois compostos que possuem atividade antioxidante, não houve decréscimo na atividade antioxidante com o tempo de armazenamento, assim como o teor de luteína, sugerindo que uns compostos bioativos atuam na proteção de outros, mantendo a atividade antioxidante desejada no produto. Os estudos sobre os antioxidantes têm ressaltado, principalmente, o uso de nutrientes isolados no tratamento e prevenção de

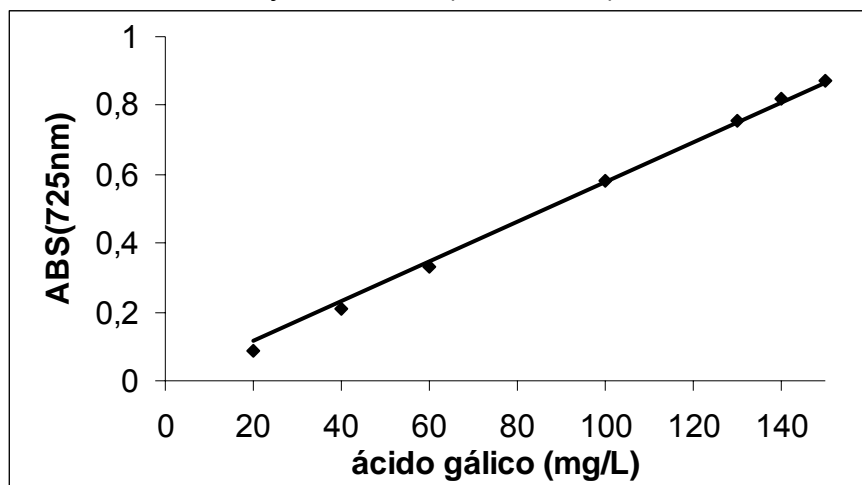
doenças. Entretanto, nos alimentos, encontra-se grande variedade de substâncias que podem atuar em sinergismo na proteção das células e tecidos.

Nos últimos anos, uma quantidade substancial de evidências tem indicado o papel chave dos radicais livres e outros oxidantes como grandes responsáveis pelo envelhecimento e pelas doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio do sistema imune e disfunções cerebrais. A atividade antioxidante é responsável pelo combate aos radicais livres, portanto, o suco misto obtido é um alimento que pode contribuir para a diminuição do risco de desenvolvimento das doenças degenerativas e do envelhecimento precoce. É importante salientar que estes resultados foram obtidos *in vitro* e que testes *in vivo* seriam necessários para confirmar essas propriedades.

ANEXOS

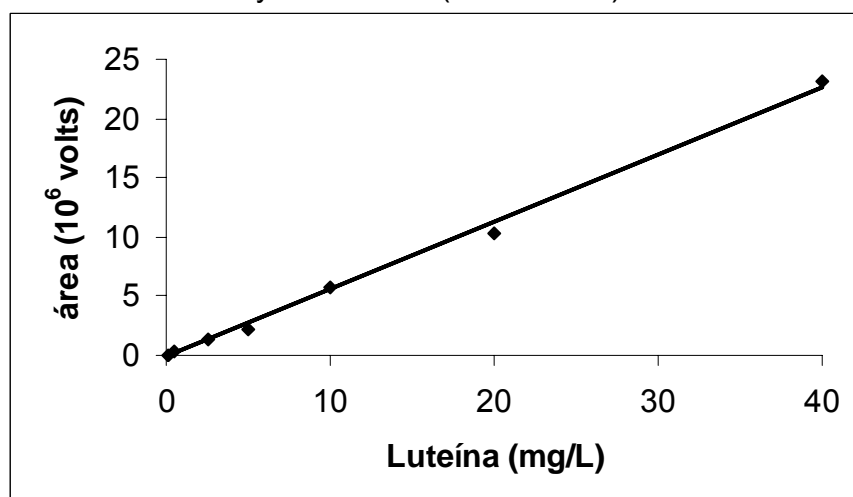
Curva padrão do ácido gálico

$$y = 0,0058x \quad (R^2 = 0,997)$$



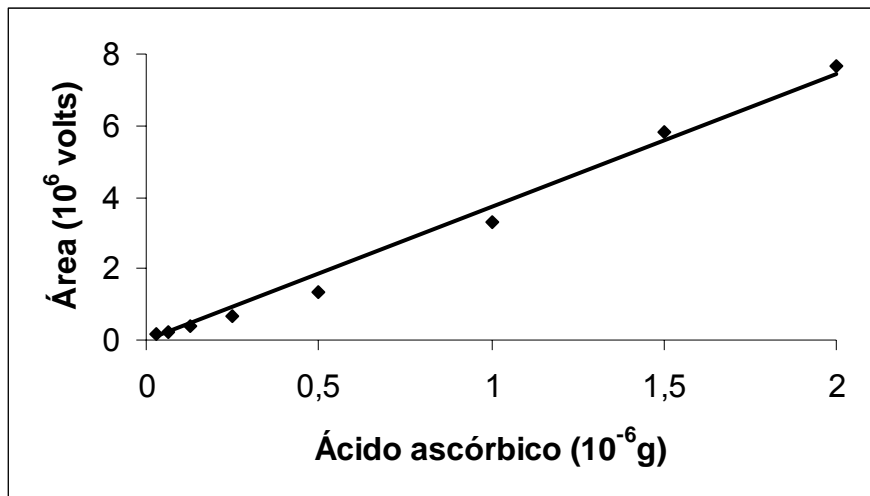
Curva padrão da luteína

$$y = 565599x \quad (R^2 = 0,9962)$$



Curva padrão do ácido ascórbico para suco misto

$$y = 3721400x \quad (R^2 = 0,9896)$$



Curva padrão do ácido ascórbico para polpa de acerola

$$y = 352033x + 1.10^7 \quad (R^2 = 0,9941)$$

