

**PAULA DE AGUIAR CIPRIANO**

**ANTOCIANINAS DE AÇAÍ (*Euterpe oleracea Mart.*) E CASCA DE JABUTICABA  
(*Myrciaria jaboticaba*) NA FORMULAÇÃO DE BEBIDAS ISOTÔNICAS**

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  
2011

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

C495a  
2011

Cipriano, Paula de Aguiar, 1981-  
Antocianinas de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) e casca de  
jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) na formulação de bebidas  
isotônicas/ Paula de Aguiar Cipriano. – Viçosa, MG, 2011.  
xvii, 131f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Paulo Cesar Stringheta.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. Antocianinas - Estabilidade. 2. Avaliação sensorial.  
3. Corantes. 4. Bebidas - Armazenamento. 5. Físico-química.  
6. Extração (Química). I. Universidade Federal de Viçosa.  
II. Título.

CDD 22. ed. 664.02

**PAULA DE AGUIAR CIPRIANO**

**ANTOCIANINAS DE AÇAÍ (*Euterpe oleracea* Mart.) E CASCA DE JABUTICABA  
(*Myrciaria jaboticaba*) NA FORMULAÇÃO DE BEBIDAS ISOTÔNICAS**

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: 21 de dezembro de 2011

  
Prof.<sup>a</sup> Valéria Paula Rodrigues Minim  
(Coorientador)

  
Prof. Afonso Mota Ramos  
(Coorientador)

  
Prof.<sup>a</sup> Michele Corrêa Bertoldi

  
Prof. Edimar Aparecida Filomena  
Fontes

  
Prof. Paulo Cesar Stringheta  
(Orientador)

A Deus, por estar sempre presente,

## **AGRADEÇO**

À minha mãe, Rosane Maria de Aguiar Eulcydes, minha inspiração e exemplo da vida,

## **DEDICO**

À meu pai, Paulo de Tarso Euclides, e a meus irmãos, Leonardo de Aguiar Cipriano e Rodrigo de Aguiar Cipriano,

## **OFEREÇO**

*Quando a gente sonha, o universo conspira ao nosso favor;*

Paulo Coelho

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por estar sempre ao meu lado, guiando e dando força para que pudesse conquistar todos os meus objetivos.

À minha mãe, Rosane Maria de Aguiar Euclides, minha melhor amiga, por ter me ensinado a sonhar, e a correr atrás dos meus objetivos, por mais difíceis que fossem! A saudade é imensa, mas sei que você continuará me amando e iluminando sempre, com o seu sorriso mais lindo, aonde quer que esteja.

Aos meus pais, Paulo de Tarso Euclides, por ter me acolhido como sua filha, e por toda a amizade, amor e dedicação, durante todos esses anos; e João Cipriano, pela paciência e carinho.

Aos meus irmãos, Leo e Rodrigo, verdadeiros amigos, sempre trazendo alegrias e proporcionando momentos inesquecíveis!

Aos meus avós, Dionê Linhares e José Ferreira, pelo amor e apoio incondicional.

À minha tia Roseli e ao meu tio Rúbio, pelo carinho e dedicação, por acreditarem em mim e me darem força.

Ao Elizeu, por sua paciência, amor, fidelidade e por ter estado sempre ao meu lado, em todos os momentos.

À minha família (tios, tias, primos, primas e respectivos), que estão sempre me incentivando, e torcendo pelo meu sucesso!

Ao meu orientador, Professor Paulo Cêsar Stringheta, pela orientação e amizade desde a graduação, e por compartilhar de seus conhecimentos, ensinamentos e histórias.

À minha co-orientadora, Professora Valéria Minim, pelos ensinamentos e por ter me acolhido e me dado força, todas as vezes que precisei.

À Michele Côrrea, pela amizade, pelos contatos e por ter acreditado em mim.

Aos demais membros da minha banca, Professor Afonso Ramos e Edimar Fontes, pelas correções e sugestões.

Aos Professores José Carlos Gomes e João Carlos Bouzas Marins, que me ensinaram tanto sobre bebidas isotônicas.

À Priscilla Ramos e Eliana Ozela, por me auxiliarem no transporte das polpas de açaí do Estado do Pará.

Aos amigos Kléber Picanço, Gabriel Raposo e Felipe Fortes, por terem disponibilizado a academia Bioforma para a análise sensorial de Bebidas Isotônicas. E por todos os atletas desta academia contribuíram de maneira educada e atenciosa ao meu trabalho.

À empresa Duas Rodas, por terem fornecido os aromatizantes de maracujá e morango utilizados neste trabalho.

Ao funcionário do laboratório de Corantes Naturais e Compostos Bioativos, Valério Poletto, por sua presteza, dedicação, e pelas conversas divertidas e todos os cafezinhos.

As amigas do laboratório: Isadora, pelas horas empenhadas em me ajudar, com minha estatística e formatação, além de todo o carinho e amizade; Adriana, por me ensinar tantas coisas e estar sempre ao meu lado; Mayra, companheira monitora, pelo apoio e amizade; Paula Araújo, pela amizade e convivência tão agradável; Pollyanna Ibrahím, por sempre estar presente quando precisei, pelos ensinamentos e amizade e Juliana Rocha, pelo apoio na sensorial e em tudo!

Aos estagiários, Lívia, Flávia, Ígor, Mariza, Bráulio e Mariana, pelo apoio e colaboração no trabalho, e amizade.

Ao Leonardo Pontes, por ter me ajudado no desenvolvimento da bebida.

À Milene Ribeiro, pela ajuda nas análises estatísticas e amizade, desde a graduação.

Ao Professor Vicente de Paula Lelis, que muito ensinou e acreditou em mim, e pela ótima convivência durante a Monitoria de FIS 233.

As amigas sempre presentes e à EAL 2003, pois sem vocês não estaria aqui.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, pelos ensinamentos e momentos compartilhados durante o mestrado.

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

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para minha formação e me auxiliaram na realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

## **BIOGRAFIA**

PAULA DE AGUIAR CIPRIANO, filha de Rosane Maria de Aguiar Euclides e João Cipriano, nasceu em 05 de agosto de 1981, em Ponte Nova – MG.

Iniciou seus estudos no Colégio Equipe em 1987 na cidade de Viçosa – MG. Em 1996, passou no Colégio Universitário (COLUNI) e logo mudou-se para a cidade de Fort Collins, no estado do Colorado – EUA, onde concluiu o ensino médio em 1999.

Em março de 2003, ingressou na Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa – MG, onde participou de iniciação científica e intercâmbio internacional. Em dezembro de 2008 graduou-se em Engenharia de Alimentos pela UFV.

Em Julho de 2009, iniciou seus estudos no curso de pós-graduação como aluno não vinculado no Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa – MG, onde em Janeiro de 2010 tornou-se estudante regular, submetendo a defesa da dissertação em Dezembro de 2011.



## SUMÁRIO

LISTA DE TABELA .....	x
LISTA DE FIGURAS .....	xii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xvi

### INTRODUÇÃO GERAL

I. INTRODUÇÃO.....	1
II. REFERÊNCIAS .....	2

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

I. AÇAÍ .....	4
II. JABUTICABA.....	6
III. COMPOSTOS FENÓLICOS.....	8
1 Flavonóides.....	9
2 Antocianinas .....	10
2.1 Fontes, funções e aplicações.....	13
2.2 Extração.....	15
2.3 Estabilidade de antocianinas .....	18
3 Alimentos com propriedades funcionais.....	20
3.1 Atividade antioxidante .....	21
3.1.1 Metodologia de determinação <i>in vitro</i> .....	23
IV. COLORIMETRIA .....	25
V. BEBIDAS ISOTÔNICAS.....	29
VI. ANÁLISE SENSORIAL .....	32
1 Metodos afetivos .....	32
1.1 Teste de aceitação.....	33
1.2 Mapa de preferência .....	34
1.3 Mapa de preferência interno .....	35
VII. REFERÊNCIAS .....	36

### CAPÍTULO I

RESUMO.....	49
I. INTRODUÇÃO.....	51
II. MATERIAL E MÉTODOS .....	52
1 Delineamento experimental e análise dos resultados .....	52
2 Matéria prima .....	53
3 Caracterização das matérias-primas.....	54
3.1 Água.....	54
3.2 pH .....	54
3.3 Acidez total titulável (ATT) .....	54
3.4 Sólidos solúveis totais (SST) .....	55

3.5	Relação SST/ATT (Ratio) .....	55
4	Caracterização colorimétrica da casca de jabuticaba e polpa de açaí.....	55
5	Quantificação dos compostos fenólicos .....	55
5.1	Obtenção dos extratos de antocianinas de casca de jabuticaba .....	55
5.2	Obtenção dos extratos de antocianinas de polpa de açaí.....	56
5.3	Compostos Fenólicos totais .....	56
5.4	Antocianinas totais .....	56
6	Atividade antioxidante pelo ensaio do cátion radical ABTS .....	57
7	Caracterização colorimétrica dos extratos de antocianinas de casca de jabuticaba e polpa de açaí .....	57
8	Obtenção dos extratos concentrados de antocianinas de cascas de jabuticaba e polpa de açaí .....	58
8.1	Caracterização físico e química dos extratos concentrados de antocianinas.....	58
9	Elaboração das bebidas isotônicas.....	58
9.1	Caracterização físico e química das bebidas isotônicas .....	59
9.1.1	Medida da osmolalidade .....	59
9.2	Aceitabilidade das bebidas isotônicas.....	60
9.2.1	Cor .....	60
9.2.2	Impressão Global .....	61
<b>III.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>62</b>
1	Caracterização da casca de jabuticaba e polpa de açaí .....	62
1.1	Físico e química .....	62
1.2	Análise Colorimétrica .....	65
1.3	Compostos fenólicos e atividade antioxidante .....	67
2	Caracterização dos extratos Concentrados de casca de jabuticaba e polpa de açaí.....	70
2.1	Físicas e químicas .....	70
2.2	Análise colorimétrica .....	72
2.3	Compostos Fenólicos e atividade antioxidante .....	73
3	Caracterização das bebidas isotônicas.....	76
3.1	Físico-química.....	76
3.2	Análise colorimétrica .....	78
3.2.1	Compostos fenólicos e atividade antioxidante .....	80
4	Aceitabilidade.....	82
4.1	Atributo cor.....	82
4.2	Impressão global.....	86
<b>IV.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>89</b>
<b>V.</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>90</b>

## CAPÍTULO II

<b>RESUMO.....</b>	<b>98</b>
<b>I. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>100</b>
<b>II. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>101</b>
1 Delineamento experimental e análise dos resultados .....	101
2 Matéria prima .....	102
3 Obtenção dos extratos .....	102

3.1	Obtenção dos extratos concentrados de antocianinas de casca de jabuticaba e polpa de açaí .....	102
4	Preparo das bebidas isotônicas .....	102
5	Estudo de estabilidade das bebidas isotônicas.....	102
5.1	Caracterização colorimétrica.....	103
5.2	Compostos Fenólicos totais .....	103
5.3	Antocianinas totais .....	103
5.3.1	Cinética de degradação de antocianinas .....	103
5.4	Atividade antioxidante pelo ensaio do cátion radical ABTS .....	104
<b>III.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>104</b>
1	Estudo da estabilidade.....	104
1.1	Compostos Fenólicos totais .....	104
1.2	Antocianinas totais.....	108
1.3	Atividade Antioxidante.....	112
1.4	Caracterização colorimétrica.....	116
<b>IV.</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>126</b>
<b>V.</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>126</b>
	<b>CONCLUSÕES FINAIS .....</b>	<b>130</b>

## LISTA DE TABELA

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

<b>Tabela 1</b> – Composição química e valor nutricional do açaí.....	7
<b>Tabela 2</b> – Composição por 100 g de parte comestível de jabuticaba..	9
<b>Tabela 3</b> – Compostos fenólicos presentes em alguns alimentos .....	14
<b>Tabela 4</b> – Antocianinas encontradas com frequência em alimentos e suas fontes. .....	17
<b>Tabela 5</b> – Lista de solventes utilizados na extração de antocianinas.....	17

### CAPÍTULO I

<b>Tabela 1.1</b> – Caracterização da jabuticaba e polpa de açaí.....	62
<b>Tabela 1.2</b> – Valores médios dos parâmetros colorimétricos da casca de jabuticaba e polpa de açaí. ....	66
<b>Tabela 1.3</b> – Teores médios de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de jabuticaba e polpa de açaí.....	67
<b>Tabela 1.4</b> – Valores médios de pH, acidez titulável (expresso em % de ácido cítrico) e Sólidos Solúveis Totais (em °Brix) para os extratos concentrados de casca de Jabuticaba e polpa de açaí.....	71
<b>Tabela 1.5</b> – Valores médios dos parâmetros colorimétricos dos extratos de casca de Jabuticaba e polpa de açaí.....	72
<b>Tabela 1.6</b> – Caracterização bioativa (antocianinas totais, Fenólicos totais e atividade antioxidante) dos extratos concentrado de casca de Jabuticaba e polpa de açaí. ....	73
<b>Tabela 1.7</b> – Caracterização físico-química das bebidas isotônicas formuladas com extrato de casca de jabuticaba (JAB), extrato de açaí (ACA), mistura dos extratos (MIS) e a amostra comercial (COM).....	76
<b>Tabela 1.8</b> – Valores médios dos parâmetros colorimétricos das bebidas isotônicas .....	79
<b>Tabela 1.9</b> – Caracterização bioativa (antocianinas totais, Fenólicos totais e atividade antioxidante) das bebidas isotônicas. ....	80
<b>Tabela 1.10</b> – Média e variância dos julgamentos para as formulações de bebida isotônica em relação ao atributo cor.....	83
<b>Tabela 1.11</b> – Média e variância dos julgamentos para as formulações de bebida isotônica em relação ao atributo impressão global.....	87

### CAPÍTULO II

<b>Tabela 2.1</b> – Resumo da análise de variância (ANOVA) para teor de antocianinas .....	109
<b>Tabela 2.2</b> - Valores para constante de degradação ( $k_{obs}$ ), tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e % perda de antocianinas nos isotônicos de açaí e Jabuticaba, nas condições de armazenamento Geladeira, Escuro e Luz. ....	111
<b>Tabela 2.3</b> – Resumo da análise de variância (ANOVA) para teores de fenólicos. .....	105

<b>Tabela 2.4</b> – Resumo da análise de variância (ANOVA) para determinação da atividade antioxidante.....	113
<b>Tabela 2.5</b> – Correlação entre a atividade antioxidante e o teor de fitoquímicos presentes nas bebidas formuladas com extrato de casca de jabuticaba e açaí, determinada pelos coeficientes de correlação de Pearson.....	116
<b>Tabela 2.6</b> – Variação nos parâmetros colorimétricos de bebidas isotônicas formuladas com extrato de antocianina de casca de jabuticaba e açaí, durante 63 dias de estocagem*.....	117
<b>Tabela 2.7</b> – Resumo da análise de variância (ANOVA) para determinação da coordenada L* (Luminosidade). .....	118
<b>Tabela 2.8</b> – Resumo da análise de variância (ANOVA) para determinação da coordenada C* (saturação). .....	120
<b>Tabela 2.9</b> – Resumo da análise de variância (ANOVA) para determinação da coordenada h* (tonalidade). .....	122
<b>Tabela 2.10</b> – Resumo da análise de variância (ANOVA) para determinação da diferença global de cor ( $\Delta E^*$ ).....	124

## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

<b>Figura 1</b> – Estrutura básica dos flavonóides.....	9
<b>Figura 2</b> – Estrutura do cátion Flavilium .....	11
<b>Figura 3</b> – Estrutura química das antocianinas .....	11
<b>Figura 4</b> – Biossíntese das antocianinas.....	12
<b>Figura 5</b> – Transformações estruturais de antocianinas com mudança no pH do meio. ....	20
<b>Figura 6</b> – Formação do radical ABTS por meio do persulfato de potássio .....	24
<b>Figura 7</b> – Antioxidante trolox <sup>®</sup> – Análogo hidrossolúvel da vitamina E. ....	25
<b>Figura 8</b> – Modelo de cor CIE XYZ.....	26
<b>Figura 9</b> – Modelo de cor CIELAB.....	27
<b>Figura 10</b> – Modelo de cor CIE LCH .....	28

### CAPÍTULO I

<b>Figura 1.1</b> – Matérias-primas utilizadas para extração de antocianinas.....	54
<b>Figura 1.2</b> – Ficha de avaliação usada para o teste de cor.....	61
<b>Figura 1.3</b> – Ficha de avaliação usada para o teste de impressão global.....	62
<b>Figura 1.4</b> – Mapa de preferência interno em relação ao atributo cor .....	85
<b>Figura 1.5</b> – Mapa de preferência interno em relação ao atributo impressão global .....	88

### CAPÍTULO II

<b>Figura 2.1</b> – Disposição das amostras na câmara de luz fluorescente de 40 W (A) e no escuro (B).....	103
<b>Figura 2.2</b> – Mudança nos teores de fenólicos ao longo do período de armazenamento.....	106
<b>Figura 2.3</b> – Variação percentual no teor de fenólicos entre o tempo inicial e final (63 dias de armazenamento), para as bebidas isotônicas formuladas com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, sob diferentes condições de estocagem. ....	107
<b>Figura 2.4</b> – Variação nos teores de antocianinas ao longo do período de armazenamento.....	110
<b>Figura 2.5</b> – Mudança na atividade antioxidante ao longo do período de armazenamento.....	113
<b>Figura 2.6</b> – Variação percentual na atividade antioxidante entre o tempo inicial e final (63 dias de armazenamento), para as bebidas isotônicas formuladas com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, sob diferentes condições de estocagem.....	114
<b>Figura 2.7</b> – Comportamento de L* (Luminosidade) das bebidas isotônicas formulada com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, em diferentes condições de armazenamento. ....	119
<b>Figura 2.8</b> – Comportamento de C* (saturação) das bebidas isotônicas formulada com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, em diferentes condições de armazenamento.....	121

<b>Figura 2.9</b> – Comportamento de $h^*$ (tonalidade) das bebidas isotônicas formulada com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, em diferentes condições de armazenamento. ....	123
<b>Figura 2.10</b> – Comportamento de $\Delta E^*$ (Diferença global de cor) das bebidas isotônicas formulada com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, em diferentes condições de armazenamento (Sob refrigeração, em presença e ausência de luz). ....	125

## RESUMO

CIPRIANO, Paula de Aguiar, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2011. **Antocianinas de açaí (*Euterpe oleracea mart.*) e casca de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) na formulação de bebidas isotônicas.** Orientador: Paulo Cesar Stringheta. Coorientadores: Afonso Mota Ramos e Valéria Paula Rodrigues Minim.

Os pigmentos naturais, como as antocianinas, proporcionam cor aos alimentos, contribuindo para o seu aspecto visual, atributo este de fundamental importância na aceitação e escolha de um alimento. Algumas frutas como a jaboticaba e o açaí apresentam conteúdo significativo de antocianinas e considerável atividade antioxidante, sugerindo que um alto consumo de alimentos ricos nestes compostos contribui para diminuição no risco de desenvolvimento de diversas doenças crônicas não-transmissíveis. Nesse contexto, o emprego de corantes naturais em bebidas isotônicas se faz justificável já que os consumidores destes produtos estão associados a hábitos alimentares saudáveis, e optam por produtos cada vez mais naturais, em detrimento aos sintéticos. A limitação do uso destes corantes em produtos alimentícios é devido à instabilidade dos mesmos, que deve ser avaliada para que se conheça a vida de prateleira destes produtos. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo formular e caracterizar bebidas isotônicas adicionadas de extratos de antocianinas de casca de jaboticaba, polpa de açaí, e uma mistura dos extratos; determinar o conteúdo de fenólicos, antocianinas e atividade anti-radical livre das bebidas isotônicas; determinar a aceitação sensorial das bebidas formuladas, quando comparadas a uma bebida comercial; bem como avaliar a estabilidade das bebidas mais aceitas neste estudo. Para a formulação das bebidas foram utilizados extratos de antocianinas de casca de jaboticaba, polpa de açaí, mistura de ambos extratos. As bebidas foram caracterizadas quanto aos parâmetros físico-químicos (pH, ATT, SST, Ratio SST/ATT e Osmolalidade), colorimétricos ( $L^*$ ,  $C^*$  e  $h^*$ ), ao teor de bioativos (antocianinas e fenólicos totais) e à atividade antioxidante. Para obter informações acerca da aceitabilidade das bebidas quando comparadas a uma bebida isotônica de marca comercial, foi realizado um teste de aceitação em academia. Em seguida, foi realizado o estudo de vida-de-prateleira das bebidas mais aceitas na análise sensorial (adicionadas de extrato de antocianina de casca de jaboticaba e açaí), sendo estas estocadas em presença e ausência de luz



(25°C) e sob refrigeração (4°C), durante 63 dias. As análises físico-químicas das bebidas indicaram que estas se encontravam dentro dos padrões de qualidade e identidade para esta categoria. O conteúdo de antocianinas para as bebidas formuladas neste estudo foi de 9,44mg·L<sup>-1</sup>; 9,06mg·L<sup>-1</sup> e 9,28mg·L<sup>-1</sup>, para as bebidas com extrato de jabuticaba, de açaí e a mistura dos dois, respectivamente; o teor de fenólicos variou de 93,04mgAGE·L<sup>-1</sup>, para a bebida de jabuticaba, a 60,64mgAGE·L<sup>-1</sup>, para a bebida de açaí; e a atividade antioxidante foi maior na bebida formulada com extrato de jabuticaba, quando comparada à bebida de açaí. Pelas coordenadas colorimétricas do sistema CIElab, as bebidas formuladas com extratos de antocianinas apresentaram tonalidades de cores claras, vivas (alto valor de C\*), que tendiam ao vermelho (pequeno ângulo h\*), característico da presença de antocianinas. A aceitação das bebidas isotônicas adicionadas de extratos de casca de jabuticaba e açaí não foi significativamente (p < 0,05) afetada pela adição de corantes naturais, sendo todas as formulações adicionadas de extrato natural igualmente aceitas à bebida comercial, tanto para o atributo cor, variando entre aos termos hedônicos gostei ligeiramente a gostei muito, quanto para impressão global, que variou entre aos termos hedônicos gostei ligeiramente a gostei moderadamente. O estudo da estabilidade das bebidas revelou que o conteúdo de compostos bioativos são parâmetros determinantes no tempo de vida útil das mesmas. Tanto a luz quanto a temperatura exerceram efeito negativo na estabilidade das antocianinas, da atividade antioxidante e dos parâmetros colorimétricos, sendo que a condição de refrigeração (4°C), mostrou ser a mais eficiente no armazenamento destas bebida. Conclui-se que é possível a utilização de corantes naturais na formulação de bebidas isotônicas, pois além de se adequarem às exigências da legislação quanto aos parâmetros físico-químicos e apresentarem padrão de cor e sabor, podem trazer benefícios à saúde pela presença de compostos bioativos.

## ABSTRACT

CIPRIANO, Paula de Aguiar, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2011. **Anthocyanins of açai (*Euterpe oleracea mart.*) and jabuticaba peels (*Myrciaria jaboticaba*) in the formulation of isotonic beverages.** Advisor: Paulo Cesar Stringheta. Co-advisors: Afonso Mota Ramos and Valéria Paula Rodrigues Minim.

Natural pigments, such as anthocyanins, provide color to a variety of food systems thus contributing to their visual aspects, which is an important attribute in the acceptance and preference of the consumers. Some fruits, like acai and jabuticaba, present high contents of anthocyanins and considerable antioxidant activity, suggesting that a high intake of foods rich in these compounds contributes with a decrease in the risk of developing various chronic degenerative disorders. It is within this context that the use of such pigments in isotonic beverages is justified since the consumers of these products are associated with healthy eating habits, and opt for more natural products, rather than the synthetic ones. The limitation in the use of such pigments lies on their instability issues, thus studies evaluating the shelf life of products added of anthocyanins are required for better a understanding of their possible applications. Therefore, the objective of this study was to develop and characterize isotonic beverages added of anthocyanin extracts of jabuticaba peels and acai pulp, as well as of a blend of both extracts; determine the content of phenolics, anthocyanins, and the antioxidant activity of the isotonic drinks; determine the sensory acceptance of the formulated beverages, in comparison to a commercial brand; as well as to evaluate the stability of the most accepted beverages, in this study. To produce the drinks, anthocyanin extracts of jabuticaba peels and acai pulp, as well as a blend of both extracts. The beverages were characterized for their physico-chemical (pH, ATT, SST, ratio SST/ATT and osmolality) and colorimetric ( $L^*$ ,  $C^*$  and  $h^*$ ) parameters, content of bioactive compounds (total phenolics and anthocyanins) and antioxidant activity. A sensory analysis was conducted at a local gym in order to obtain information concerning the acceptance of the drinks, when compared to a commercial brand of isotonic beverage. Then, a shelf life study was carried out with the most accepted drinks in the sensory analysis test (added of jabuticaba peels and acai pulp extracts). The beverages were stored under the

presence and absence of light (25°C), and under refrigeration conditions (4°C), for a period of 63 days. The physico-chemical analysis of the drinks indicated that they were within the standards of quality and identity for this category of drinks. The anthocyanin content for the formulated drinks were of 9,44mg·L<sup>-1</sup>; 9,06mg·L<sup>-1</sup> and 9,28mg·L<sup>-1</sup>, for the isotonic beverages formulated with extracts of jabuticaba peels, acai pulp and the blend of extracts, respectively; the phenolic content varied from 93,04mgAGE·L<sup>-1</sup>, to the jabuticaba drink, to 60,64mgAGE·L<sup>-1</sup>, for the acai beverage; the antioxidant activity was greater in the isotonic drink formulated with jabuticaba peel extracts, when compared to the acai one, which presented activity. According to the colorimetric coordenadas of the CIE system, the isotonic beverages formulated with anthocyanin extratcts showed shades of colors with high brightness, intensity (great C\* values), which tended to red colors (small h\* values), characteristic of anthocyanin presence. The acceptance of the isotonic drinks added of anthocyanin extracts of jabuticaba peels and acai pulp was not significantly affected (p<0,05) by the addiction of natural pigments, for both beverages were similarly accepted to the commercial one, on either the color test, with hedonic terms varying from slightly liked to liked a lot, as well as the global impression, with hedonic terms varying between slightly liked to moderately liked. The stability study of the beverages revealed that the content of bioactive parameters were determiners of the shelf life of the drinks. It can be concluded that it is possible to use natural pigments in the formulation of isotonic drinks, since not only they meet the requirements of the current physical-chemical legislation and standards of color and flavor, but can also be beneficial to our health, by the presence of bioactive compounds.

## INTRODUÇÃO GERAL

### I. INTRODUÇÃO

O uso de corantes sintéticos vem sendo questionado devido a problemas gerais de toxidez e ao impacto ambiental envolvendo os processos de síntese, que em geral são muito poluentes. Somando-se a estes aspectos a publicidade contínua e adversa, o resultado é o crescente interesse pelo uso de corantes naturais, que surge como uma opção em substituição aos corantes sintéticos (ARAÚJO, 2009; BARROS e STRINGHETA, 2006).

A busca por melhor qualidade de vida também contribui para um aumento da utilização de corantes naturais, uma vez que os consumidores atuais optam por produtos naturais que, além de satisfazer as necessidades nutricionais, auxiliam no bom funcionamento do organismo.

Frente a esta tendência, ênfase tem sido dada à busca de fontes de pigmentos economicamente viáveis. Neste contexto, destacam-se as antocianinas, compostos fenólicos derivados do cátion flavilium, pertencentes ao grupo dos flavonóides, largamente distribuídas na natureza, que conferem a muitos vegetais as várias nuances de cores entre laranja, vermelho e azul.

A aplicação de pigmentos naturais e a sua associação com a atividade antioxidante em alimentos é objeto de interesse tanto para a indústria como para os consumidores. Estudos relacionam a ingestão de frutas e hortaliças com propriedades antioxidantes e a diminuição do risco e desenvolvimento de algumas doenças crônicas não-transmissíveis (WICKLUND et al., 2005; SILVA et al., 2004; LAMPE, 1999).

O aumento do interesse na funcionalidade dos antioxidantes na saúde humana e na substituição de antioxidantes sintéticos por antioxidantes naturais tem estimulado pesquisas na área de ciência dos alimentos. A maioria destes estudos pretende extrair e identificar antioxidantes naturais de fontes vegetais, avaliar suas propriedades biológicas, determinar sua atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, estudar sua aplicabilidade em produtos processados e determinar como o seu teor é influenciado por procedimentos pós-colheita, tecnologias e condições de processamento (BERTOLDI, 2006; ALASALVAR et al., 2005; ARABBI et al., 2004).

O segmento de bebidas isotônicas vem ampliando seu mercado, introduzindo novos sabores e atendendo à demanda crescente por novos produtos (BEVERAGE WORLD INTERNATIONAL, 1998), e isso pode ser em parte explicado pela busca de produtos mais naturais, que refletirão em uma melhor qualidade de vida. Desse modo o emprego de extrato de frutas na produção dessas bebidas surge como um diferencial, pois agrega à bebida as vantagens nutricionais inerentes ao produto e responde ao forte apelo por produtos naturais.

O uso de extratos de antocianinas de frutas como açaí e jabuticaba em alimentos e bebidas torna-se muito interessante devido à expansão deste mercado de produtos benéficos à saúde. Entretanto existem muitas limitações para a aplicação comercial de antocianinas como corantes devido à baixa estabilidade desses pigmentos, a qual depende da própria estrutura química, concentração, pH, temperatura, presença de oxigênio, luz, ácido ascórbico, co-fatores e de açúcares dentre outros fatores (ROSSO, 2006). Diante disso, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar as propriedades antioxidantes, sensoriais e estabilidade de bebidas isotônicas formuladas a partir de extratos de antocianinas de casca de jabuticaba (*Myrciaria Jabuticaba*) polpa de açaí (*Euterpe Oleracea Mart.*). Os objetivos específicos foram: caracterizar, quanto às propriedades físico e químicas, as matérias-primas utilizadas (casca de jabuticaba e polpa de açaí) na obtenção de extratos de antocianinas; formular e avaliar a estabilidade e aceitabilidade de bebidas isotônicas formuladas a partir dos extratos concentrados; determinar a atividade anti-radical livre das bebidas isotônicas frente ao radical ABST.

## II. REFERÊNCIAS

ALASALVAR, C.; AL-FARSI, M.; QUANTICK, P.C.; SHAHIDI, F.; WIKTOROWICZ, R. Effect of chill storage and modified atmosphere packaging (MAP) on antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, phenolics and sensory quality of ready-to-eat shredded orange and purple carrots. **Food Chemistry**, v. 89, p. 69-76, 2005.

ARABBI, P.R.; GENOVESE, M.I.S.; LAJOLO, F.M. Flavonoids in Vegetable Foods Commonly Consumed in Brazil and Estimated Ingestion by the Brazilian Population. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 1124-1131, 2004.

ARAÚJO, J.M.A. **Química de Alimentos: teoria e prática**. 5ª Edição. Viçosa: UFV, 2009.

BARROS, F.A.R.; STRINGHETA, P.C. Microencapsulamento de antocianinas: Uma alternativa para o aumento de sua aplicabilidade como ingrediente alimentício. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 36, p. 18-24, 2006.

BERTOLDI, M.C. **Atividade antioxidante *in vitro* da fração fenólica das oleoresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*)**. 2006. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.

BEVERAGE WORLD INTERNATIONAL. **A new age of growth**. v. 16, p. 38-41, 1998.

LAMPE, J. W. Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, p. 475S–490S, 1999.

ROSSO, V.V. **Composição de carotenóides e antocianinas em acerola. Estabilidade e atividade antioxidante de extratos antociânicos em sistemas-modelo de extratos antociânicos de acerola e açaí**. 2006. 134p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2006.

SILVA, B. M.; ANDRADE, P.B.; VALENTÃO, P.; FERRERES, F.; SEABRA, R.M.; FERREIRA, M.A. Quince (*Cydonia oblonga Miller*) Fruit (Pulp, Peel and Seed) and Jam: antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4705-4712, 2004.

WICKLUND, T.; ROSENFELD, H.J.; MARTINSEN, B.K.; SUNDFØR, M.W.; LEA, P.; BRUUN, T.; BLOMHOFF, R.; HAFFNER, K. Antioxidant capacity and colour of strawberry jam as influenced by cultivar and storage conditions. **LWT - Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v. 38, p. 387-391, 2005.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### I. AÇAÍ

O açaí (*Euterpe oleracea Mart.*) é uma fruta cuja planta é uma palmeira tropical que se desenvolve no norte do Brasil, mais precisamente na região amazônica devido às condições elevadas de temperatura, chuva e umidade relativa do ar. Os frutos são globulosos e apresentam-se em cachos (ROGEZ, 2000), porém seu consumo não ocorre na forma “in natura”, necessitando ser processado em razão de sua perecibilidade.

A partir da década de 1990 o aumento da mídia internacional para a necessidade de preservação da Floresta Amazônica fez despertar o interesse pelos produtos regionais não-madeireiros. Como consequência, observou-se, talvez, a maior transformação da fruticultura da Amazônia que, impulsionada pela criação da fábrica de beneficiamento de polpa de fruta em Tomé-Açu, em 1991, teve frutas como cupuaçu, bacuri, pupunha e açaí, conhecidas até então apenas pela população local, conquistando novos mercados, nacionais e internacionais (NOGUEIRA et al., 2005; ROGEZ, 2000).

O reconhecimento do açaizeiro como fruteira de expressão econômica é fato recente, porém já foram ultrapassadas as fronteiras da Amazônia. Atualmente no Brasil, o açaí é comercializado nas grandes capitais brasileiras nas mais diferentes formas, onde, devido à expansão comercial dessa bebida, muitos produtores brasileiros tem mostrado interesse no seu cultivo em escala comercial, especialmente os das Regiões Norte e Nordeste (SANTOS et al., 2008). De acordo com dados do IBGE (2010), houve um aumento de 11,9% na produção nacional de frutos de açaí entre os anos de 2007 e 2008 (de 108.033 a 120.890 toneladas). A região Norte pela participação regional desta produção, com 92,2% da produção nacional, sendo o estado do Pará responsável por 87,4% desta produção. A exportação do fruto iniciou em 2000 para os Estados Unidos, ampliando depois para França, Japão, Itália e Alemanha, na forma de polpa congelada, pó, creme, sorvete e açaí pronto para consumo com granola e guaraná. No mercado externo, o açaí é apreciado como uma bebida exótica, enquanto que no Brasil, em geral, como bebida

energética, e no Pará, como parte da refeição, sendo a base da alimentação, principalmente da população mais pobre e rural (MONTEIRO, 2006).

Os produtos obtidos do fruto do açaí são classificados, de acordo com a adição ou não de água e seus quantitativos (% de sólidos totais), em: polpa de açaí (polpa extraída sem adição de água e sem filtração); açaí grosso ou especial (polpa extraída com adição de água e filtração, apresentando sólidos totais acima de 14%); açaí médio ou regular (polpa extraída com adição de água e filtração, apresentando sólidos totais entre 11% e 14%) e açaí fino ou popular (polpa extraída com adição de água e filtração, apresentando sólidos totais entre 8% e 11%) (BRASIL, 2000).

O aumento do consumo e comercialização desta fruta pode ser atribuído às propriedades nutricionais e valor calórico do açaí, pois este é um alimento rico em proteínas, fibras, lipídios, vitamina E e minerais como manganês, cobre, boro e cromo, como mostrado na tabela 1. O alto teor de lipídio do açaí confere ao produto um elevado valor energético (SANTOS et al., 2008).

**Tabela 1** – Composição química e valor nutricional em 100g de açaí.

<b>Constituinte</b>	<b>Teor</b>
Umidade (%)	85,0
Energia (Kcal)	66,30
Proteína (g)	13,0
Lipídeos (g)	48,0
Carboidratos (g)	15,3
Fibra Alimentar (g)	34,0
Cinzas (g)	3,5
Sódio (g)	56,4
Potássio (mg)	932,0
Cálcio (mg)	286,0
Magnésio (mg)	174,0
Ferro (mg)	1,5
Cobre (mg)	1,7
Zinco (mg)	7,0
Fósforo (mg)	124,0
Vitamina B1 (mg)	0,25
$\alpha$ -Tocoferol (vitamina E) (mg)	45,0

\* Adaptado de Rogez (2000).

Além disso, esta fruta possui elevado teor de compostos fenólicos, dentre eles as antocianinas, que são benéficos à saúde pois atuam como antioxidantes,



protegendo o organismo contra a ação de radicais livres. Em um estudo para avaliar a atividade antioxidante de açaí, Rodrigues et al. (2006) identificaram 5 diferentes procianidinas, procatequina e epicatequina, observando correlação positiva entre as procianidinas e atividade antioxidante.

## II. JABUTICABA

A jabuticaba (*myrciaria jaboticaba*) é conhecida pelos povos civilizados há mais de quatro séculos. Fruta nativa foi chamada pelos Tupis de Iapoti'kaba, que quer dizer “fruta em botão”, numa referência à sua forma arredondada.

A jabuticaba é nativa do Brasil, originária da região centro-sul, podendo ser encontrada desde o estado do Pará até o Rio Grande do Sul, porém maiores produções ocorrem nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo. Dentre as espécies atualmente conhecidas, destaca-se a *Myrciaria cauliflora* (DC) Berg (jabuticaba paulista ou jabuticaba assú) e a *Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg (jabuticaba ‘Sabará’) que produzem frutos apropriados tanto para a indústria como para consumo “in natura” (DONADIO, 2000; MATTOS, 1983).

Em 2008 foram comercializados 1.849.735kg de jabuticaba, na Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP), sendo 95,6% oriundo do próprio Estado, principalmente dos municípios de Casa Branca e Avaí sendo os meses de setembro e outubro em que se concentram aproximadamente 60% da produção e comercialização anual. A comercialização de jabuticaba nas Centrais de Abastecimento S.A. (CEASA) de outros estados totalizou 488.972kg, sendo mais expressivo em Vitória-ES, com 170.166kg, em Belo Horizonte-MG, 126.126kg e em Curitiba-PR, 108.609 kg (FANALE, 2008).

Em algumas regiões do País, a comercialização é efetuada principalmente na forma “in natura” às margens de rodovias, por famílias carentes que coletam os frutos de plantas nativas (sistema extrativista). Dessa forma, essa atividade informal reveste-se de importância econômico-social, pois proporciona renda adicional a essas famílias durante o período de colheita. Conforme define o Código Florestal Brasileiro, essa fruteira poderá reconstituir a reserva legal da propriedade e ser explorada economicamente como alternativa de renda na agricultura familiar (CITADIN et al., 2010).

A jabuticaba ‘Sabará’ ocupa a maior área cultivada no Brasil e apresenta frutos classificados como bacilo globoso, com 20mm a 30mm de diâmetro e polpa macia, esbranquiçada, succulenta e de sabor ácido (SILVA et al., 2008). Apresenta em sua composição vitamina C com valores médios de 23mg·100g<sup>-1</sup> de polpa e minerais, em que se destacam o ferro, cálcio, fósforo e potássio (OLIVEIRA et al., 2003). Segundo a TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (LIMA, 2006), a composição centesimal desta fruta está apresentada na Tabela 2.

No fruto completamente desenvolvido, os carboidratos mais abundantes na polpa são os açúcares solúveis, o que mostra a potencialidade de seu aproveitamento industrial (MAGALHÃES, 1991).

**Tabela 2** – Composição por 100 g de parte comestível de jabuticaba.

<b>Constituinte</b>	<b>Teor</b>
Umidade (%)	83,6
Energia (Kcal)	58
Proteína (g)	0,6
Lipídeos (g)	0,1
Carboidratos (g)	15,3
Fibra Alimentar (g)	2,3
Cinzas (g)	0,4
Cálcio (mg)	8,0
Magnésio (mg)	18,0

\* Adaptado da tabela Brasileira de composição de alimentos (TACO), 4ª edição, 2011.

O potencial econômico de comercialização dessa fruta é grande em função de suas características sensoriais para consumo “in natura” (MOTA et al., 2002). Isto tem despertado grande interesse entre os produtores rurais devido a sua alta produtividade, rusticidade e aproveitamento de seus frutos nas mais diversas formas (BRUNINI et al., 2004). Segundo Manica (2000), tudo o que se pode fazer com a uva, pode-se da mesma forma fazer com a jabuticaba, que fornece ao consumidor produtos de qualidade, como: aguardente, compota, geléia, licor, sucos, xaropes (para preparo de sorvetes ou refrescos), vinagres e vinhos. A jabuticaba também é utilizada na fabricação de um extrato que serve como corante de vinhos e vinagres, substituindo outras flores que são importadas.

De acordo com Terci (2004), a jabuticaba é uma fruta que contém alto teor de antocianinas, com quantidade média de  $314\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  de fruta, quando comparadas ao jambolão ( $386\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ), a amora ( $290\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ) e a uva ( $227\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ). O autor relata que é preciso considerar que os pigmentos naturais estão presentes apenas na casca da jabuticaba. Em outras espécies, as substâncias são encontradas na polpa. Foi encontrada a cianidina 3-O- $\beta$ -glucopiranosídeo em amostras de jabuticaba (*Plinia cauliflora*) por Einbond et al. (2004).

### III. COMPOSTOS FENÓLICOS

Compostos fenólicos são metabólitos secundários que ocorrem naturalmente em plantas. Eles estão presentes em frutas, legumes, folhas, castanhas, sementes, flores e cascas de vegetais (SELLAPPAN et al., 2002). São classificados em pelo menos 10 grupos diferentes, dependendo da sua estrutura química e reatividade. Quimicamente, podem ser definidos como substâncias que possuem um anel aromático ligado a um ou mais substituintes hidroxilas, incluindo seus derivados funcionais (SHAHIDI e NACZK, 1995).

Alimentos comuns como a uva e outras frutas vermelhas contém uma grande variedade de compostos fenólicos em quantidades variando de traços a algumas gramas por quilograma de alimento fresco. Relatos de pesquisa tem demonstrado que estes compostos possuem múltiplos efeitos biológicos como atividade antioxidante, ação anti-inflamatória, inibição da agregação de plaquetas nos vasos sanguíneos, inibição da oxidação do colesterol LDL bem como atividade antimicrobiana (SILVA, 2003).

Os compostos fenólicos geralmente encontrados em alimentos são os flavonóides, ácidos fenólicos e taninos, como mostrados na Tabela 3. Eles são essenciais para o crescimento e reprodução de plantas e, também, são efetivos contra patógenos. A sua contribuição nos pigmentos de plantas é de suma importância. A presença de fenólicos nos alimentos tem um importante efeito na estabilidade oxidativa e na segurança microbiana desse produtos, além de ter atividade biológica relacionada com a inibição do câncer (SIMÕES et al., 2000).

**Tabela 3** – Compostos fenólicos presentes em alguns alimentos.

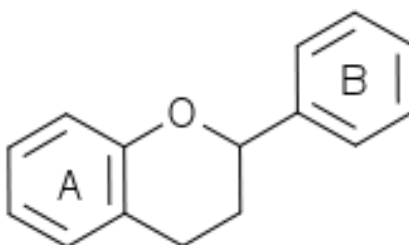
Fenólico		Alimentos
<b>Flavonóides</b>		
Antocianinas	Cianidina, delphinidina	Uva, maçã, jabuticaba
Flavanas	Catequina, luteoferol	Chá preto e verde
Flavanonas	Narigenina, hesperidina	Frutas cítricas
Flavonas	Apergenina, luteonina	Pêra, vinho e chá verde
Flavonóis	Quercitina, mirecetina	Azeitona, alface e maçã
Isoflavonas	Genisteína, daidzeína	Soja e derivados
<b>Ácidos fenólicos</b>		
Ac. Hidroxicinâmicos	Cafeíco, ferúlico, clorogênico	Cereja, pêra e laranja
Ac. hidrobenzóicos	Elágico, gálico	Framboesa, morango e uva
<b>Taninos</b>		
Condensados	Polímero de catequina e epicatecna	Lentilhas, uva, suco de maçã

\*Adaptado de Amy King e Young, 1999.

Dentre os compostos fenólicos, os flavonóides e, em particular, as antocianinas, são de grande interesse devido à sua alta ocorrência em alimentos, especialmente as frutas, legumes e vegetais folhosos (SELLAPPAN et al., 2002).

## 1 FLAVONÓIDES

Os flavonóides representam a maior classe de compostos fenólicos presentes em frutas, hortaliças e grãos (ARAÚJO, 2011) e englobam uma classe muito importante de pigmentos naturais encontrados com grande frequência na natureza. Todos os flavonóides têm a estrutura (-C6-C3-C6-), sendo que as duas partes da molécula com seis carbonos são aromáticas (Figura 1).



Fonte: MARTÍNEZ-FLÓREZ et al., 2002.

**Figura 1** – Estrutura básica dos flavonóides.

Os flavonóides são derivados da biossíntese do aminoácido aromático (fenilalanina) e do ciclo de Krebs (Acetil CoA), sendo utilizados em plantas em várias situações. Um exemplo é a sua participação na fixação assimbiótica do nitrogênio (ARAÚJO, 2011). Eles são divididos em antocianinas e flavonóides não antociânicos (FNA), como as flavonas e os flavonóis (BOBBIO e BOBBIO, 2003), compostos responsáveis pela coloração que varia de vermelho vivo à violeta e de branco à amarelo claro, respectivamente (BOBBIO & BOBBIO, 2003; LIMA et al., 2000).

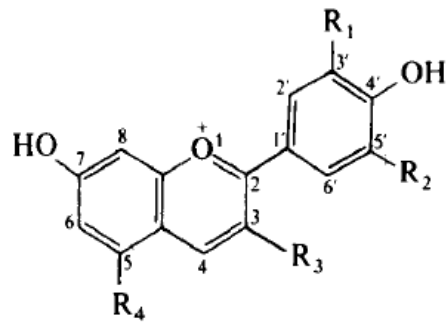
Os flavonóides mais abundantes na dieta são os flavonóis (catequinas + proantocianidinas), antocianinas e seus produtos de oxidação. São encontrados principalmente nas frutas e nas bebidas (sucos de frutas, vinho, chá, café, chocolate e cerveja) e, em menor extensão, de vegetais, legumes e cereais (SCALBERT e WILLIAMSON, 2000).

## **2 ANTOCIANINAS**

A coloração das espécies vegetais pode ser atribuída a várias classes de substâncias, denominadas de agentes cromóforos, destacando-se as porfirinas, os carotenóides e os flavonóides (ALKEMA e SEAGER, 1982). Antocianinas são classificadas quimicamente como flavonóides e são os principais pigmentos naturais responsáveis pelas cores rosa, laranja, vermelha, violeta e azul de certos vegetais, em frutas, pétalas de flores e em folhas (JING e GIUSTI, 2007; McGHIE et al., 2006; HARBONE et al., 1975).

O termo antocianinas (do grego anthos = flores; kianos = azul) foi proposto em 1835 por Marquat, referindo-se a pigmentos azuis, violetas e vermelhos encontrados em flores (MARKAKIS, 1982), que são solúveis em água e em misturas de água e álcool, insolúveis em óleos e gorduras (ARAÚJO, 2011) e altamente instáveis em temperaturas elevadas (SHAHIDI e NACZK, 1995).

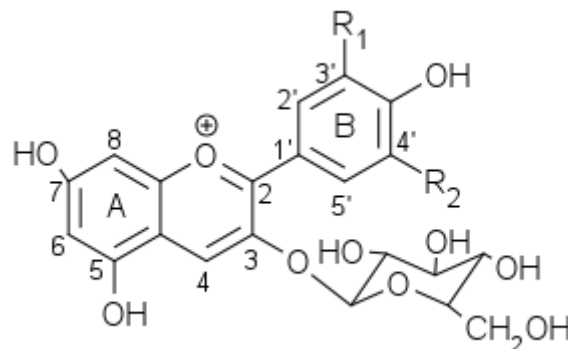
A estrutura geral das antocianinas é derivada do cátion flavilium (Figura 2) (cátion 2-fenilbenzopirílio), que consiste de dois anéis aromáticos unidos por uma unidade de três carbonos, condensada por um oxigênio (MALACRIDA e MOTTA, 2006).



Fonte: Mazza and Brouillard, 1987

**Figura 2** – Estrutura do cátion Flavilium

Na natureza, as antocianinas sempre ocorrem na forma heteroglicosídica, contendo duas ou três porções: uma aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares e, frequentemente, um grupo de ácidos orgânicos (Figura 3) (MALACRIDA e MOTTA, 2006; FRANCIS, 1989).



Aglicona		Substituição glicosídica	Acilação
Estrutura do anel B		Substituição nas posições 3 e 5	Esterificação das hidroxilas do açúcar
R <sub>1</sub> = R <sub>2</sub> = H	Pelargonidina	D-glicose	Ácidos sinâmicos
R <sub>1</sub> = OH e R <sub>2</sub> = H	Cianidina	D-galactose	p-cumárico
R <sub>1</sub> = R <sub>2</sub> = OH	Delfinidina	D-xilose	Ferúlico
R <sub>1</sub> = OCH <sub>3</sub> e R <sub>2</sub> = H	Peonidina	L-ramnose	Caféico
R <sub>1</sub> = OCH <sub>3</sub> e R <sub>2</sub> = OH	Petunidina	L-arabinose	
R <sub>1</sub> = R <sub>2</sub> = OCH <sub>3</sub>	Malvidina	Rutinose Soforose Sambubiose Gentiobiose	Ácidos alifáticos Acético Malônico Succínico

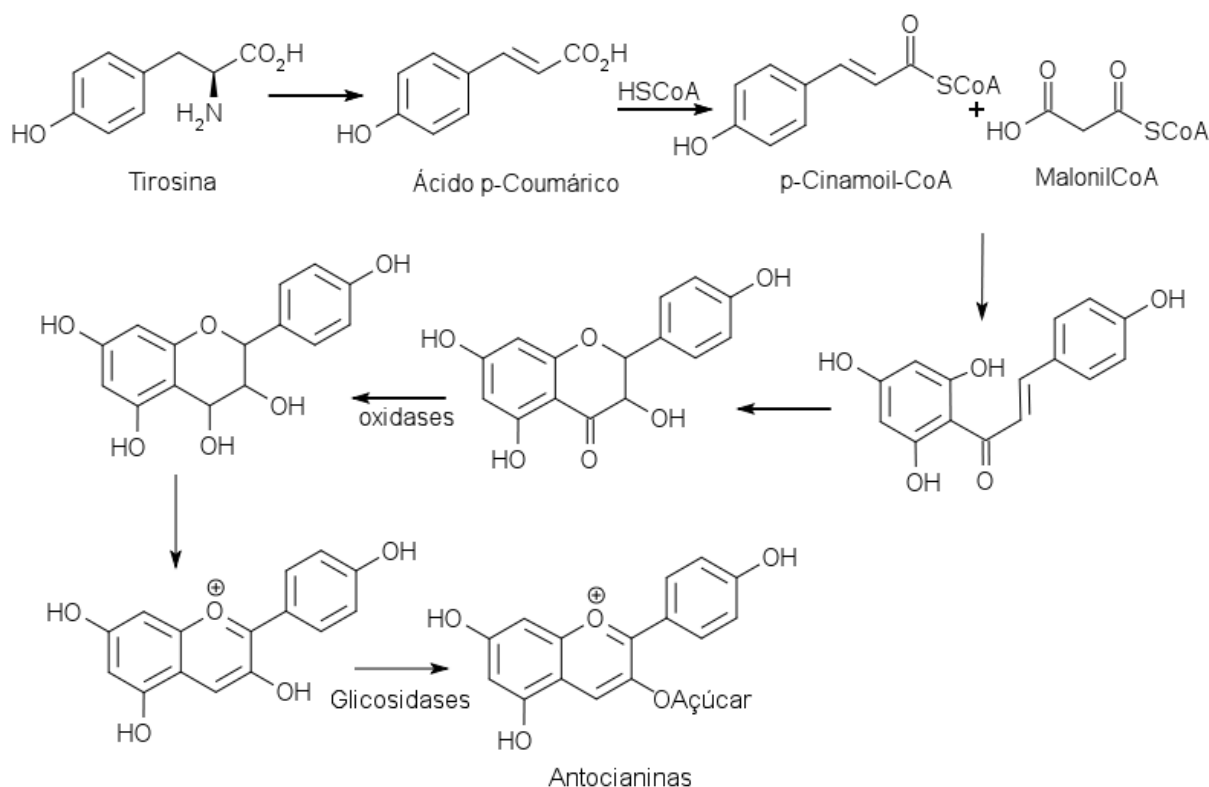
Fonte: MALACRIDA & MOTA, 2006.

**Figura 3** – Estrutura química das antocianinas

Aproximadamente 22 agliconas são conhecidas, das quais 18 ocorrem naturalmente e apenas seis (pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina) são importantes em alimentos (FRANCIS, 2000).

As antocianinas podem ser obtidas a partir da biossíntese indicada na Figura 4, a qual também explica a presença da carga positiva na estrutura.

Antocianidinas livres são raramente encontradas em plantas, ocorrendo comumente glicosiladas com açúcares que estabilizam a molécula (FRANCIS, 2000; HARBONE, 1994) de antocianina. A glicosilação pode ocorrer em várias posições, sendo observada com maior freqüência na posição 3. O segundo açúcar, quando presente na molécula, encontra-se na posição 5, porém podem ocorrer glicosilações nas posições 7, 3', 4' e 5' (BROUILLARD, 1982). Glicose, ramnose, xilose, galactose, arabinose e frutose são os açúcares mais comumente ligados às antocianidinas, ocorrendo como monoglicosídeos, diglicosídeos e triglicosídeos glicosilados diretamente na aglicona (FRANCIS, 1989).



Fonte: HARBONE, 1994; ALKEMA & SEAGER, 1982.

**Figura 4** – Biossíntese das antocianinas.

As antocianinas também podem ser aciladas com ácidos orgânicos unidos às unidades glicosídicas por ligação éster. Os ácidos geralmente são ácidos fenólicos aromáticos, como p-cumárico, ferúlico, cafeico e hidroxibenzóico, ou ácidos orgânicos alifáticos, como acético, málico, succínico e oxálico, ou ainda uma combinação de alguns desses ácidos, porém são raros os relatos de antocianinas aciladas em frutas (GRIS et al., 2007; TÜRKER e ERDOGDU, 2006; REVILLA et al., 1998).

Os substituintes acila encontram-se usualmente ligados à hidroxila do açúcar na posição 3 e com menor frequência nas posições 4 e 6. A metoxilação é mais frequente nas posições 3' e 5' e menos comum em na 5 e na 7. É importante salientar que antocianina natural nunca apresenta as hidroxilas das posições 5, 7 e 4' substituídas ao mesmo tempo. Um dos grupos hidroxila deve permanecer livre numa dessas posições para a formação da estrutura quinoidal, responsável pela cor (MALACRIDA e MOTTA, 2006; BROUILLARD, 1982).

A coloração dos extratos de antocianinas sofre influência do número de hidroxilas, grupos metoxilas e glicólicos presentes na estrutura. Quanto maior o número de metoxilas, mais intensa é a cor vermelha; enquanto que mais hidroxilas e grupos glicólicos intensificam a cor azul (ALKEMA e SEAGER, 1982; FAVARO, 2008).

## **2.1 FONTES, FUNÇÕES E APLICAÇÕES**

Existem aproximadamente 400 antocianinas diferentes (KONG et al., 2003). Segundo Jackman e Smith (1996), as antocianinas encontram-se distribuídas em numerosas famílias de plantas: Vitaceae (uva), Rosaceae (cereja, ameixa, framboesa, morango, amora, maçã, pêssego, etc.), Solanaceae (tamarindo, batata), Saxifragaceae (groselha preta e vermelha), Ericaceae (mirtilo, oxicoco), Cruciferae (repolho roxo, rabanete), Leguminoseae (vagem) e Gramineae (sementes de cereais). Entretanto, segundo Constant (2003), apenas a uva e o repolho roxo têm sido empregados comercialmente. Na Tabela 4 constam diferentes antocianinas e suas fontes.



**Tabela 4 – Antocianinas encontradas com frequencia em alimentos e suas fontes.**

<b>Antocianinas</b>	<b>Fonte</b>
Cianidina-3-glicosídeo	Uva, vinho, cereja, jabolão, morango, amora, maçã, azeitona
Cianidina-3,5-glicosídeo	Uva, vinho, cereja, figo, marmelo
Peonidina-3-glicosídeo	Uva, vinho, cereja, jabuticaba
Malvidina-3-glicosídeo	Uva, vinho
Malvidina-3,5-glicosídeo	Uva, vinho, feijão, inhame
Cianidina-3-galactosídeo	Maçã, cacau
Cianidina-3p-cumanilsoforosídeo-5-glicosídeo	Repolho roxo
Pelagonidina-3-soforosídeo-5-glicosídeo	Rabanete
Pelagonidina-3-glicosídeo	Morango, tamarindo
Delfinidina-3,5-diglicosídeo	Berinjela, feijão, uva, romã
Delfinidina-3-cafeoglicosídeo-5-glicosídeo	Berinjela
Petunidina-3-glicosídeo	Uva, vinho, feijão, milho, laranja

Fonte: MALACRIDA & MOTTA, 2006

Uma das principais funções das antocianinas em flores e frutas é o poder de atrair agentes polinizadores e dispersores de sementes, pela cor, além de proteger diversos tecidos da planta de processos oxidativos, atuando como filtro das radiações ultravioletas nas folhas (MALACRIDA e MOTTA, 2006), durante diversas etapas de seu ciclo de vida, principalmente em fases iniciais do crescimento (EIBOND et al., 2004; HARBORNE, 1967). Em certas espécies de plantas, elas estão associadas à resistência a patógenos e atuam melhorando e regulando a fotossíntese (MAZZA e MINIATI, 1993).

Na indústria, há um crescente interesse no uso de antocianinas pela sua capacidade corante (WROLSTAD e LEE, 2004) e bioatividade (ISLAM, 2006; KRAFT et al., 2005). A principal função dos corantes em produtos industrializados é proporcionar uma melhoria na aparência dos mesmos, deixando-os mais parecidos aos naturais e portanto, mais agradáveis aos olhos do consumidor que, desta forma, é estimulado a consumir o produto, já que aparência (cor, sabor e odor) têm um papel importantíssimo na aceitação de produtos industrializados (FAVARO, 2008).

Corantes sintéticos são largamente utilizados para os mais diversos fins e dominam as aplicações em alimentos, tecidos e fármacos, principalmente por apresentarem alta estabilidade às variações de condições de uso (TURKER e ERDOGDU, 2006). Com a utilização cada vez maior desses aditivos, os países começaram a estabelecer legislações para controlar seu uso. Comitês

internacionais, tais como a Comissão do *Codex Alimentarius*, organismo subsidiário da FAO e da OMS, foram criados com o intuito de, entre outros objetivos, estabelecer especificações e critérios para a utilização de aditivos alimentares, incluindo os corantes sintéticos (PRADO e GODOY, 2003; QUEIJA et al., 2001; VALIM, 1989). Em 1977, a resolução CNNPA nº 44 estabeleceu as condições gerais de elaboração, classificação, apresentação, designação, composição e fatores essenciais de qualidade dos corantes empregados na produção de alimentos e bebidas e em 1987, a Portaria nº 02 DINAL/MS da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) relatou a proibição de alguns corantes sintéticos como: os corantes Amarelo Ácido ou Amarelo Sólido (13015), Azul de Indantreno ou Azul de Alizarina (69800), Laranja GGN (15980), Vermelho Sólido E (16045), e Escarlata GN (14815) para uso em alimentos (ANVISA, 2010; BRASIL, 1988; BRASIL, 1965).

Portanto, devido à toxidez de alguns corantes sintéticos e à proibição do uso de alguns deles, nota-se um crescente interesse por corantes obtidos a partir de fontes naturais (TURKER e ERDOGDU, 2006; MACZ-POP et al., 2006; GIUSTI e WROLSTAD, 2003). Nesse contexto, a indústria alimentícia encontra nas antocianinas um importante substituinte aos corantes artificiais, atendendo um público cada vez mais disposto a consumir alimentos isentos de produtos químicos sintéticos, dando preferência ao natural e ao saudável (TEIXEIRA et al., 2008). Os extratos de antocianinas têm sido aplicado em geléias, bombons, recheios, pastas de frutas, produtos de padaria, sorvetes, iogurtes, sopas em pó, queijos cremosos (FREUND et al., 1988), gelatinas, doces, coberturas de bolos, refrigerantes e produtos de confeitaria (GUIMARÃES, 1994).

Entretanto, a obtenção de uma cor realçada e estável com o uso de corantes naturais ainda é um desafio, por estes apresentarem algumas limitações, como a baixa estabilidade e fácil susceptibilidade de degradação, como no caso de extratos de antocianinas, considerados de grande interesse para esse tipo de aplicação (SAMPAIO, 2008).

## **2.2 EXTRAÇÃO**

Antocianinas concentram-se nos vacúolos das células vegetais (AGATI et al., 2007; OKI et al., 2006; QUINA et al., 2006; MADHAVI et al., 1995) e, geralmente, quando as frutas apresentam casca removível, como as uvas e jaboticabas, elas

concentram-se nos vacúolos celulares das cascas. Já em frutas com características semelhantes às das amoras, estes compostos encontram-se em toda a polpa (AGATI et al., 2007; HUGHES et al., 2007; CHAOVANALIKIT e WROLSTAD, 2004).

A escolha de um método para extrair antocianinas, depende em grande parte, do propósito de extração e também da natureza dos constituintes das moléculas de antocianinas. Entretanto, quando os pigmentos forem usados como aditivos, ou seja, como corantes de alimentos, o rendimento máximo obtido, a força tintorial e a estabilidade são itens de maior relevância (JACKMAM e SMITH, 1996).

As antocianinas são solúveis em água e podem ser facilmente extraídas com solventes polares. Solventes alcoólicos, como metanol e etanol, são os mais utilizados (CHEN et al., 2006; TERCI, 2004; GIUSTI e WROLSTAD, 2003; STINTZING et al., 2002; REVILLA et al., 1998; LEE e HONG, 1992). Muitos trabalhos têm empregado solventes extratores alcoólicos acidificados (MACZ-POP et al., 2006; REVILLA et al., 1998) para favorecer a extração, pois auxilia a penetração do solvente nos tecidos das frutas e hortaliças, além de aumentar a estabilidade dos extratos por dificultar o aparecimento de fungos que degradam os pigmentos.

O meio ácido também faz com que as antocianinas encontrem-se predominantemente na forma de cátion flavilium, o qual apresenta coloração vermelha em solução aquosa (REVILLA et al., 1998). O fato do cátion flavilium ser estável em meio ácido torna indicável a utilização de solventes contendo ácidos orgânicos ou minerais na extração de antocianinas de frutas, como ácidos clorídrico, fórmico e acético.

No entanto, o uso de solventes ácidos para a extração de antocianinas deve ser cauteloso, pois excesso de ácido pode levar à formação de antocianidinas e outros flavonóides por hidrólise. Em estudos quantitativos, a hidrólise das antocianinas poderia gerar resultados superestimados da quantidade total de antocianinas presentes na espécie estudada, principalmente se o método de análise empregado for espectrofotométrico, por quantificar somente antocianinas totais (REVILLA et al., 1998).

Apesar da toxidez, solventes como metanol e acetona são muito utilizados para a extração de antocianinas (NICOUÉ et al., 2007; KIM et al., 2004). Porém, para algumas aplicações do extrato, como, por exemplo, para as indústrias cosmética, farmacêutica e alimentícia, o uso desses solventes tem restrições, não só

pela toxicidade, como também pelo alto custo e impacto ambiental dos resíduos (GARCIAVIGUERA et al., 1998). Diante das limitações de uso desses solventes, a extração com etanol ou água é recomendada especialmente quando a extração se faz com fim alimentício. Entretanto, o emprego destes solventes também possui limitações de uso, como uma menor eficiência de extração em comparação aos outros solventes, além de uma menor durabilidade de seus extratos (NICOUÉ et al., 2007; TERCI, 2004).

Comparando diversos procedimentos usados na extração de antocianinas de uvas vermelhas, Revilla et al. (1998) constataram que solventes que continham cerca de 1% de 12N de ácido clorídrico, eram mais eficientes na extração, porém, causaram hidrólise parcial da mavidina-3-O-acetilglicosídeo. Gao e Mazza (1996), ao extraírem pigmentos antociânicos de girassóis púrpuros, concluíram que o solvente etanol: ácido acético: água (50:1:40) e a solução com SO<sub>2</sub>, na concentração de 200mg.L<sup>-1</sup>, foram mais efetivos que ácido acético 0,01Mol.L<sup>-1</sup>. Na Tabela 5 encontra-se uma variedade de solventes extratores e concentrações usadas na extração de antocianinas.

**Tabela 5** – Lista de solventes utilizados na extração de antocinainas

<b>Solvente extrator utilizado</b>	<b>Referências</b>
Ácido clorídrico 0,1N em etanol 95 %	FULEKI & FRANCIS (1968 a,b)
Ácido acético 4 % em metanol:água (1:1)	BRIDLE et al. (1984)
Ácido clorídrico 1 % em etanol	ANDERSEN (1985)
Ácido clorídrico 0,1 N em etanol 96 %	BLOM & THOMASSEN (1985)
Ácido clorídrico 0,1 % em etanol 80 %	OSZMIANSKI & SAPI (1988)
Metanol:ácido acético:água (10:1:9)	TAKEDA et al. (1989)
Ácido clorídrico 0,05 % em metanol	STRINGHETA (1991)
Ácido cítrico 0,5 % em metanol	GUEDES (1993)
Ácido clorídrico 1 % em metanol	FORNI et al. (1993)
Metanol: ácido fórmico:água (10:2:28)	GAO & MAZZA (1996)
Ácido cítrico 3 % em metanol	BAILONI et al. (1998)
Ácido cítrico 1 % em etanol	KUSKOSKI (2000a)
Ácido clorídrico 0,15 % em metanol	PAZMIÑO-DURÁN <i>et al</i> (2001a)
Metanol:gotas de ácido clorídrico	MATAIX et al. (2001)
Ácido clorídrico 0,1 N em metanol	MULLEN et al. (2002)
Ácido clorídrico pH 2,0 em etanol 70 %	CONSTANT (2003)
HCl 0,03 % e ácido cítrico 3 % em etanol 70 %	OZELA & STRINGHETA (2004)

Fonte: OZELA, 2004.

Outro fator que influencia na quantidade de antocianinas extraída é a temperatura de extração. Elevar a temperatura de extração facilita a liberação das antocianinas dos vacúolos celulares das frutas, além de aumentar a permeabilidade do solvente nas estruturas celulares, aumentando assim a quantidade de antocianinas extraída e reduzindo o tempo de extração (JU e HOWAR et al., 2005). No entanto, o aumento da temperatura não deve exceder 60 °C, pois acentua a degradação posterior dos extratos de antocianinas, recomendando-se, assim, que a extração ocorra entre 25 e 55 °C (AURELIO et al., 2008; JU e HOWAR et al., 2005; TERCI, 2004).

Os extratos de antocianinas obtidos a partir de frutas e flores são quase sempre encontrados como uma mistura de antocianinas, e também podem conter clorofilas e pigmentos pertencentes ao grupo de carotenóides. Desta forma, muitas vezes é necessário purificar, isolar e identificar os pigmentos que compõe os extratos brutos (HARBONE et al., 1975).

Usualmente, após a extração das antocianinas, os extratos brutos são concentrados utilizando evaporadores rotativos a vácuo e em temperaturas inferiores a 40°C, até massa constante (TERCI, 2004; PAZMINO-DURÁN et al., 2001), resultando em um resíduo viscoso.

### **2.3 ESTABILIDADE DE ANTOCIANINAS**

As antocianinas são compostos pouco estáveis. Segundo Francis (1989), os principais fatores que influenciam a estabilidade das antocianinas são a estrutura química, o pH, a temperatura, a luz, a presença de oxigênio, a degradação enzimática e as interações entre os componentes dos alimentos, tais como ácido ascórbico, íons metálicos, açúcares e copigmentos. O grau de hidroxilação exerce importante efeito na estabilidade das antocianinas, sendo que aquelas que contêm mais grupos hidroxilas em sua estrutura são menos estáveis. Inversamente, alto grau de metoxilação aumenta a estabilidade das antocianinas (FRANCIS, 1989). Além disso, antocianinas são geralmente instáveis quando expostas à luz ultravioleta e visível (IACOBUCCI e SWEENEY, 1983).

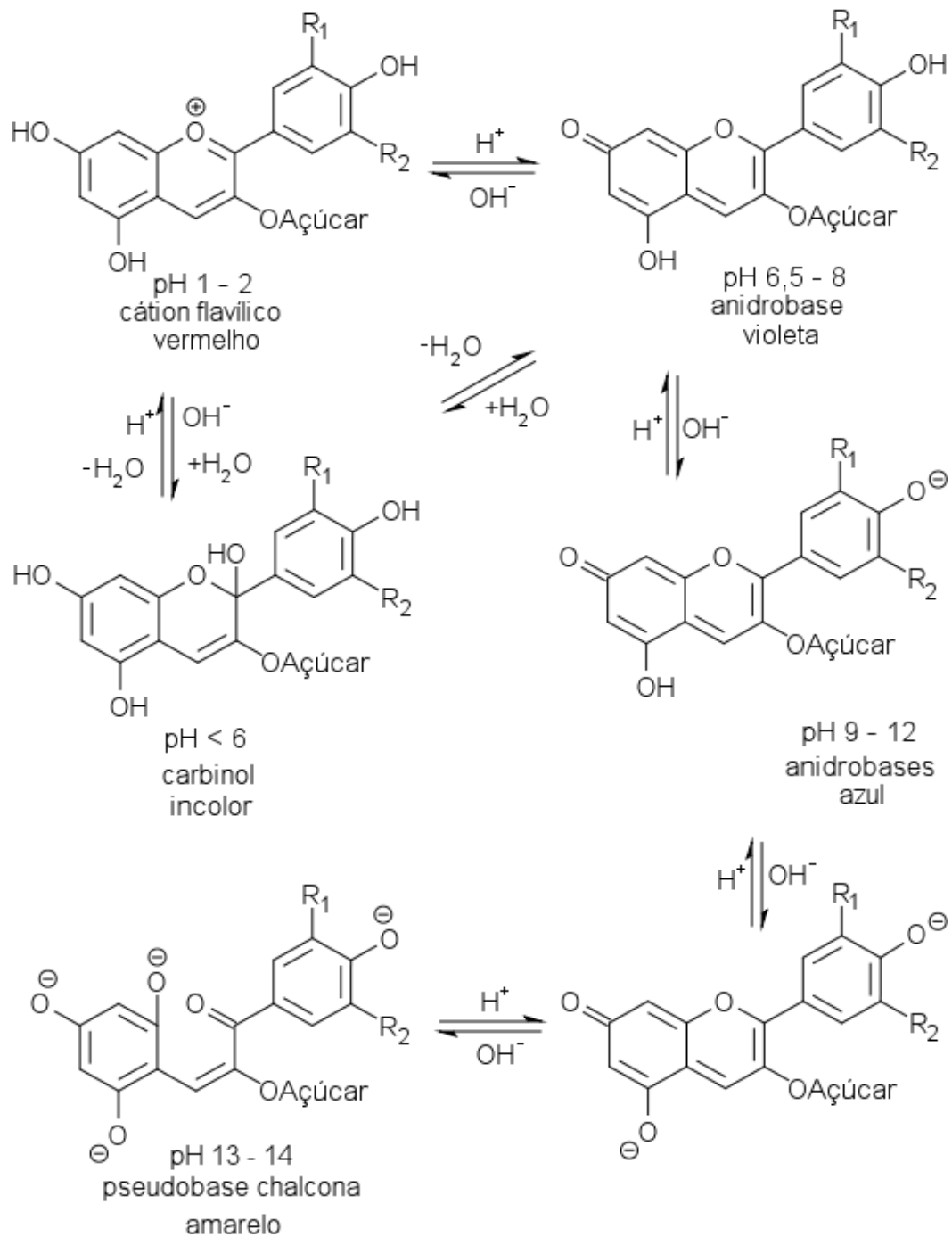
A degradação das antocianinas ocorre por vários mecanismos, podendo ocorrer durante o processamento e estocagem de alimentos levando à formação de

produtos de escurecimento insolúveis ou de produtos solúveis incolores (GEOCZE, 2007).

As antocianidinas são menos estáveis do que as antocianinas. A cianidina-3-glicosídeo, por exemplo, apresenta tempo de meia-vida em solução de ácido cítrico  $0,01\text{Mol.L}^{-1}$  (pH 2,8) de 65 dias, enquanto que sua aglicona livre alcança apenas 12 horas nas mesmas condições (IACOBUCCI e SWEENY, 1983).

O pH exerce profunda influência na cor das antocianinas, assim como na sua estabilidade, devido ao equilíbrio ácido-base das diversas espécies (SAMPAIO, 2008), como representadas na Figura 5. Cada uma dessas estruturas apresenta absorção característica na região do espectro visível (BROUILLARD e DUBOIS, 1977). As modificações estruturais das antocianinas em água são devidas à alta reatividade da aglicona (CONSTANT et al., 2002). Em pH entre 1-2, as soluções de antocianinas apresentam coloração avermelhada intensa, característica do cátion flavilium.

Elevando-se o pH (em torno de 6), tornam-se incolor, devido à hidratação do cátion flavilium, com formação da estrutura carbinol. Com o aumento do pH, anidrobases são formadas e a coloração tende à violeta (pH entre 6,5 e 8) e ao azul (pH entre 9 e 12). Em meio fortemente alcalino, pH 13 e 14, há ruptura do anel heterocíclico e formam-se chalconas, que conferem coloração amarela à solução e podem precipitar, tornando o processo irreversível (TERCI e ROSSI, 2002; HARBONE, 1994; BROUILLARD e DUBOIS, 1977). Esta propriedade das antocianinas apresentarem diferentes cores, dependendo do pH do meio, faz com que esses pigmentos possam ser utilizados como indicadores naturais de pH (TERCI e ROSSI, 2002; MEBANE e RYBOLT, 1985).



Fonte: TERCI e ROSSI, 2002; FRANCIS, 1989; HARBONE et al., 1975.

**Figura 5** – Transformações estruturais de antocianinas com mudança no pH do meio.

### 3 ALIMENTOS COM PROPRIEDADES FUNCIONAIS

Alimentos, que, além de fornecer benefícios á saúde, auxiliam na redução de riscos de doenças, são conhecidas como alimentos funcionais. Esses alimentos podem prevenir, retardar ou auxiliar no tratamento de doenças como câncer,

doenças cardiovasculares, osteoporose e doenças imunológicas. Os componentes benéficos dos alimentos funcionais têm sido chamados de fitoquímicos, compostos funcionais ou componentes bioativos, e ocorrem naturalmente em aproximadamente 120 alimentos (PENNINGTON, 2002).

Os compostos bioativos incluem uma diversidade de compostos químicos com estruturas variadas como carotenóides, flavonóides, esteróis, ácidos graxos ômega 3, alil e dialil sulfídios, indóis, ácidos fenólicos (PENNINGTON, 2002), vitamina C e E, selênio e outros micronutrientes minerais, fitoestrogens, glucosinolatos, inibidores de proteases, fibras e ácido fólico (RICE-EVANS et al., 1997). Esses componentes podem estar presentes naturalmente ou adicionados em produtos alimentícios industrializados (GEOCZE, 2007) ou suplementos dietéticos (PENNINGTON, 2002).

A preocupação dos pesquisadores da área de saúde em relacionar doenças crônicas não-transmissíveis com a alimentação é muito antiga (DIPLOCK, 1991). Vários estudos epidemiológicos evidenciaram uma correlação inversa entre dieta e incidência de doenças, associando este efeito a substâncias presentes nos alimentos com atividade antioxidante (FRANKEL e KANNER, 1993).

### **3.1 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

Os organismos vivos estão constantemente sujeitos a reações de desequilíbrio que levam à formação de radicais livres, que, por sua vez, podem prejudicar a saúde humana, aumentando o risco de doenças crônicas não-transmissíveis, além de contribuir para o envelhecimento (BERTOLDI, 2006; BRENNAN e PAGLIARINI, 2001). Para impedir ou equilibrar esse tipo de dano celular, o organismo tem a proteção de enzimas endógenas (como superóxido dismutase, glutatona peroxidase, catalase, entre outras), capazes de catalisar reações para a inativação de radicais livres. Muitas vezes, ocorre grande desequilíbrio entre a produção e inativação de radicais livres, seja pela queda na capacidade do sistema enzimático ou pelo excesso de produção de espécies radicalares (HALLIWELL, 2000).

Tal processo oxidativo está fortemente relacionado à ação de espécies reativas como o oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), o ânion radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), o ânion peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxil ( $OH^{\bullet}$ ), e podem ser gerados



durante a respiração celular, pela ativação dos leucócitos, como parte da resposta imune, ou pela oxidação exógena causada pela poluição, ou fumo, por exemplo (BECKER et al., 2004; TEMPLE, 2000)

O incremento dos níveis dessas espécies reativas de oxigênio ou radicais livres cria o estresse oxidativo, que podem levar a lesões bioquímicas e fisiológicas gerando danos oxidativos em componentes celulares vitais como lipídeos, proteínas, ácidos nucleicos e resultando eventualmente na morte das células (RICE-EVANS et al., 1996). Os danos oxidativos podem ser uma das causas que desencadeiam doenças crônicas não-transmissíveis tais como câncer, doenças cardíacas, doenças inflamatórias, doença do sistema imunológico, disfunções neurológicas e cataratas.

Diversos estudos têm demonstrado que o consumo de substâncias antioxidantes na dieta diária pode produzir uma ação protetora efetiva contra os processos oxidativos que naturalmente ocorrem no organismo (BRENNAN e PAGLIARINI, 2001), e, conseqüentemente, reduzir o risco de muitas doenças por sua capacidade de capturar, reativar ou consertar danos causados pelos radicais livres relacionados com estas doenças (ALONSO et al., 2004; MOURE et al., 2001). É nesse contexto que os fenólicos, antioxidantes naturais, vêm se destacando por suas propriedades biológicas como atividade antiinflamatória, anti-histamínica, anti-mutagênica, como seqüestradores de radicais livres e protetores contra doenças cardiovasculares (GOMIS, 2001).

Os mecanismos de atuação de antioxidantes podem ser diferenciados. Consistem na inativação de radicais livres, na complexação de íons metálicos ou na redução de hidroperóxidos para produtos incapazes de formar radicais livres ou produtos de decomposição (ARAÚJO, 2011).

Os compostos fenólicos estão disponíveis nos alimentos como ácidos fenólicos, flavonóides, lignanas, estilbenos, cumarinas e taninos. Cerca de 5000 compostos fenólicos já foram identificados, o que inclui cerca de 2000 flavonóides de ocorrência natural (SHAHIDI e NACZK, 1995). Eles atuam com antioxidantes em concentrações baixas, enquanto que em altas concentrações, comportam-se como proantioxidantes, visto que são susceptíveis à oxidação (ROBARDS, 2003), e contribuem para a redução do risco de doenças como catarata, câncer, aterosclerose, isquemia, alterações no sistema nervoso, dentre outras (TEMPLE, 2000).

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 (SÁNCHEZ-MORENO, 2002). 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 radcais livres, culminando com a terminação das reações de propagação (SÁNCHEZ-MORENO, 2002).

A eficiência dos compostos fenólicos como antioxidantes depende, em grande parte, de sua estrutura química. O fenol por si só é inativo como antioxidante, entretanto, os compostos *orto* e *para* difenólicos possuem atividade antioxidante, a qual é aumentada com a substituição de seus átomos de hidrogênio por grupos *etila-* ou *nbutila* e a atividade antioxidante dos ácidos fenólicos e seus ésteres depende do número de grupos hidroxila na molécula (SÁNCHEZ-MORENO, 2002; FUKUMOTO e MAZZA, 2000).

### **3.1.1 Metodologia de determinação *in vitro***

Vários são os métodos para testar a atividade antioxidante (MIURA et al., 2002), podendo ser usados para compostos isolados e extratos, que servem para ser testados *in vitro* e *in vivo*. Não existe um método satisfatório que consiga avaliar a atividade antioxidante total de uma amostra visto que ela depende da técnica utilizada, do tipo e concentração do substrato, dos constituintes presentes no extrato avaliado, parâmetros metodológicos como tempo e temperatura do ensaio, fenômeno de partição, fatores interferentes, dentre outros (BERTOLDI, 2006).

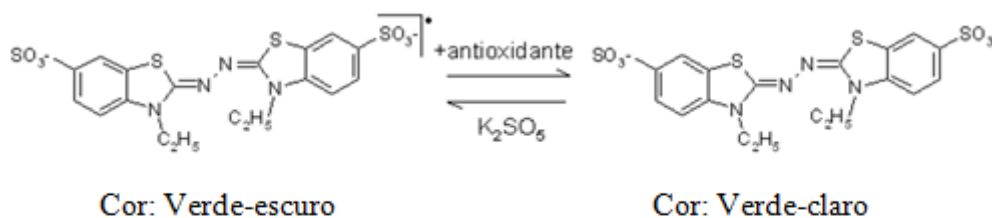
Também há uma dificuldade de comparar estes métodos, devido à complexidade e princípios diferentes de reações. Alguns métodos antioxidantes produzem resultados diferentes ou mesmo contraditórios, tornando-se algumas vezes impossível qualquer comparação entre eles (ALONSO et al., 2002). Os métodos utilizados para a avaliação ação antioxidante deveriam ser baseados na identificação dos diferentes mecanismos antioxidativos sob condições variadas, refletindo as propriedades multifuncionais dos antioxidantes nos processos

oxidativos encontrados nos alimentos e nos processos fisiológicos (BECKER et al., 2004).

Os métodos *in vitro* são avaliações potenciais da atividade antioxidante de um determinado composto puro ou extrato, já que a interação fisiológica entre o organismo e o antioxidante não é estudada, como ocorre nos métodos *in vivo*. Para a utilização de antioxidantes em alimentos, para fins tecnológicos, a avaliação *in vitro*, se bem conduzida, fornece estimativa importante do potencial antioxidante do composto em análise (BERTOLDI, 2006).

Dentre os métodos espectrofotométricos *in vitro* mais usados atualmente estão o ensaio do DPPH radical (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), o teste do branqueamento – caroteno e o método ABTS (2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolína-6-sulfônico) (ROBARDS, 2003). Para fins deste estudo, somente o método ABTS será abordado. Atualmente, o método *in vitro* ABTS tem sido amplamente usado para materiais biológicos compostos puros e extratos de plantas de natureza hidrofílica e lipofílica. O composto cromógeno ABTS apresenta cor azul/verde com o máximo de absorção a 342 nm, é muito solúvel em água e quimicamente estável (ANTOLOVICH et al., 2002).

O radical ABTS<sup>+</sup>, uma vez gerado por meio de enzimas (peroxidase, mioglobina), ou quimicamente, (óxido de magnésio, persulfato de potássio) a partir do ácido 2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolína-6-sulfônico, em meio saturado de oxigênio (Figura 6), passa a apresentar novas características com o máximo de absorção a 417nm, 645nm, 734nm e 815nm (MILLER e RICE-EVANS, 1997). Na presença de oxidantes doadores de oxigênio pode-se medir a redução da absorbância deste radical por espectrofotometria (BERTOLDI, 2006; RE et al., 1999; SILVA et al., 1999; CAMPOS e LISSI, 1997; CAMPOS et al., 1996).

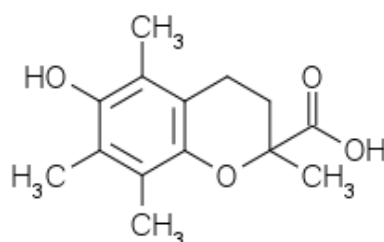


FONTE: RUFINO et al., 2007.

**Figura 6** – Formação do radical ABTS por meio do persulfato de potássio

Este método é indicado para ensaios de compostos coloridos, como no caso de substâncias ricas em antiocianinas, por apresentar absorção máxima na região de 734nm, reduzindo possíveis interferências de compostos coloridos que absorvem na região do visível e de compostos resultantes de reação secundária (RE et al., 1999).

O método ABTS utiliza, para testar a atividade antioxidante, o ensaio de equivalência da capacidade antioxidante do Trolox®. O Trolox® é um análogo hidrossolúvel da vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), no qual o grupo fitil (lipofítia) é substituído por uma simples carboxila (Figura 7).



Fonte: CABELLI e BIELSK (1986)

**Figura 7** – Antioxidante trolox® – Análogo hidrossolúvel da vitamina E.

O valor de TEAC (Capacidade Antioxidantes Equivalente ao Trolox®) é determinado pela comparação da capacidade de degradação de um antioxidante em relação ao Trolox® (ARTS et al., 2003). Este valor é definido como a concentração do antioxidante que fornece a mesma percentagem de inibição do Trolox®  $1\text{mmol.L}^{-1}$  (RE et al., 1999). Os valores de TEAC fornecem um método de comparação de atividade antioxidante entre grupo de drogas e produtos químicos (MILLER et al., 1993).

#### IV. COLORIMETRIA

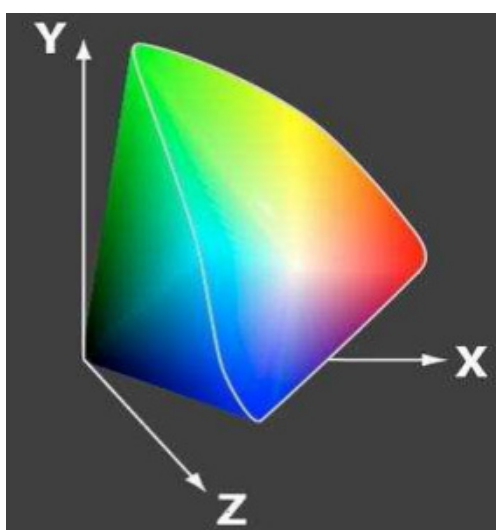
A cor é um atributo de importância fundamental no julgamento da qualidade de um alimento, uma vez que a apreciação visual é o primeiro dos sentidos a ser usado, sendo, portanto, uma característica decisiva na escolha e aceitação do produto (Lima et al., 2007). Estudos têm demonstrado que a cor, assim como o valor nutricional determinam na qualidade dos alimentos (DUZZIONI, 2009).

Todas as cores podem ser especificadas em termos da contribuição proporcional dos componentes vermelho, verde e azul do espectro visível que equivale à cor da amostra. A combinação das três cores primárias, representadas

pelos símbolos R (red, vermelho), G (green, verde) e B (blue, azul) resulta, portanto, na cor da amostra que pode ser caracterizada objetivamente e expressa por meio de valores numéricos e por diferentes sistemas de medida (FRANCIS e CLYDESDALE, 1975).

Em 1931, a Comissão Internacional de L'Eclairage (CIE) desenvolveu um sistema para especificação de sinais de cor e recomendou-o para ser utilizado em larga escala. Os três atributos da cor poderiam ser expressos como uma esfera tridimensional, expressos numericamente por um sistema de ordens de cores podendo a cor ser quantificada e expressa de maneira objetiva e precisa. Pelo princípio da síntese de cores aditivas, todas as tonalidades partem da combinação das cores primárias (o vermelho, o verde e o azul). Por suas características de capacidade analítica e objetividade é muito usado para o método de análise espectral da luz refletida, reemitida ou absorvida de um objeto, que é feita com a utilização de um espectrofotômetro (BERTOLINI, 2010).

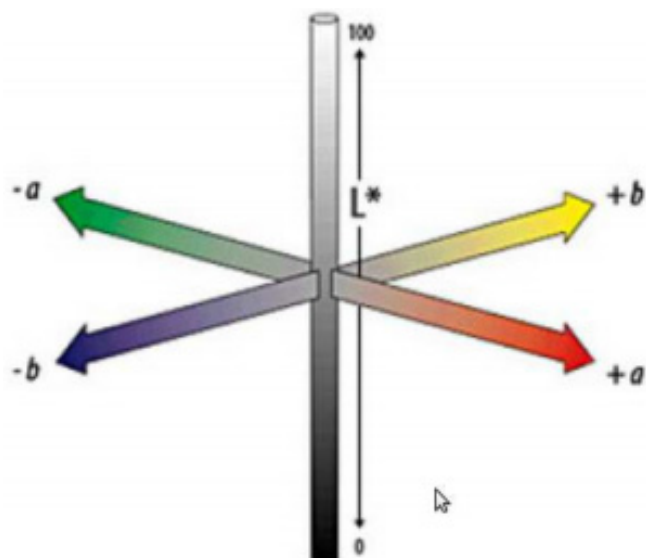
O sistema CIE (Figura 8), como é atualmente conhecido, baseia-se na transformação de funções das cores originárias das cores primárias conhecidas como X (vermelho), Y (verde) e Z (azul). Onde os três valores especificam as quantidades de cores para se descrever uma cor do espectro de luz visível. Para o sistema CIE XYZ, existem três condições que definem a existência da cor, o objeto, o iluminante e o observador.



Fonte: LEÃO, 2005.

**Figura 8** – Modelo de cor CIE XYZ

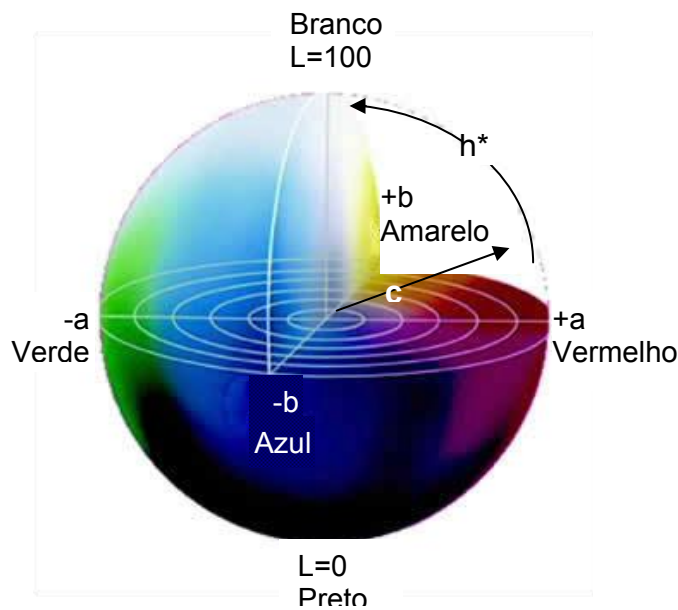
Conforme Leão (2005) o modelo de cor CIELAB (Figura 9) foi criado pela CIE para aumentar a uniformidade das cores percebidas pelo sistema visual humano. Neste modelo, é determinado um espaço de cor tridimensional onde o eixo do  $a^*$  e o de  $b^*$  formam um plano ortogonal ao eixo do  $L^*$ , sendo que o  $L^*$  representa o valor de luminosidade da cor, enquanto que  $a^*$  pode variar do verde para o vermelho e  $b^*$  do amarelo para o azul.



FONTE: LEITE, 2006

**Figura 9** – Modelo de cor CIELAB

Conforme Minolta (2007) o modelo de cor CIE LCH (Figura 10) é muito semelhante ao modelo de cor CIE LAB, porém ao invés de utilizar coordenadas retangulares, ele utiliza coordenadas cilíndricas, onde  $L^*$  indica a luminosidade exatamente como no modelo CIE LAB, o valor  $C^*$  indica o croma e  $h$  o ângulo de tonalidade.



FONTE: MINOLTA, 2007

**Figura 10** – Modelo de cor CIE LCH

Schanda (2007), define que as coordenadas do sistema CIE LCH são obtidas através do modelo CIE LAB com equações 1 e 2, sendo os valores  $a^*$  e  $b^*$  obtidos do modelo CIE LAB, e o valor de  $L^*$  é o mesmo nos dois modelos.

$$h^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (\text{eq. 1})$$

$$c^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{eq. 2})$$

Com o desenvolvimento de técnicas de medição óptica e os vários padrões definidos pelas CIE, os olhos foram substituídos por aparelhos e funções matemáticas para calcularem as cores e suas diferenças (SCHANDA, 2007). Um dos métodos mais utilizados para cálculo de diferenças de cor é Delta E ( $\Delta E$ ) – (CIE 1976), que usa os valores numéricos do modelo CIE LAB, conforme a equação 3.

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (\text{eq. 3})$$

Em termos mais compreensíveis, a coordenada  $L^*$  representa quanto mais clara ou mais escura é a amostra, com valores variando de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branca). A coordenada  $a^*$  pode assumir valores de -80 (verde) a +100 (vermelho) e a coordenada de cromaticidade  $b^*$  pode variar de -50 (azul) a +70 (amarelo) (ALVES et al., 2008).

Os dados referentes ao parâmetro  $h^*$  (tonalidade) demonstraram que o aumento do teor de antocianinas indica uma cor vermelha mais intensa, pois quanto menor o ângulo  $h^*$ , mais próximo estará do eixo  $a^*$  e com isso, mais vermelha será a coloração (LIMA, et al. 2007).

A saturação ( $c^*$ ) representa a intensidade de uma cor particular, indicando a pureza da cor em relação ao branco, sendo definida pela quantidade de cinza que contém uma cor: quanto mais cinza ou mais neutra for, menos brilhante ou menos "saturada" é a cor. Um maior valor de  $c^*$  indica uma maior pureza ou intensidade da cor.

## **V. BEBIDAS ISOTÔNICAS**

Água e eletrólitos são importantes para a manutenção da atividade física. Um desequilíbrio entre estes elementos pode alterar a capacidade física do atleta (BRITO e MARINS, 2005).

Durante um treinamento que induza o suor, atletas e indivíduos treinados chegam a perder até 3L de água por hora. É necessário então que haja reposição de fluidos uma vez que a desidratação, além de ocasionar queda de rendimento, muitas vezes propicia agravos à saúde do esportista (HORSWILL, 1998). Para maximizar a ingestão de fluidos e efetivamente repor a perda de fluidos, é necessário estabelecer estratégias de reposição hídrica. Já existe no mercado bebidas com características palatáveis, de rápida absorção e que auxiliam na retenção de fluidos durante a atividade física (HORSWILL, 1998), sendo assim possível se hidratar durante o treinamento.

Com relação ao tipo de líquido a ser usado para a hidratação, as bebidas carboidratadas são classificadas pela BRASIL (1998) em repositores hidroeletrólíticos e em repositores energéticos. Os primeiros são produtos formulados a partir de diferentes concentrações de eletrólitos, associados a concentrações variadas de carboidratos, que objetivam a reposição hídrica e eletrólítica proveniente da prática de atividade física. Estes produtos devem conter concentrações variadas de sódio, cloreto e carboidratos e opcionalmente, potássio, vitaminas e ou minerais. Já os repositores energéticos são produtos formulados com nutrientes que permitam o alcance e ou manutenção do nível apropriado de energia para atletas.



Segundo a RDC 18 da ANVISA (BRASIL, 2010), os suplementos hidroeletrólíticos para atletas devem atender aos seguintes requisitos:

- a concentração de sódio no produto pronto para consumo deve estar entre 460 e 1150 mg/l, devendo ser utilizados sais inorgânicos para fins alimentícios como fonte de sódio;
- a osmolalidade do produto pronto para consumo deve ser inferior a 330 mOsm/kg água (próxima à osmolalidade plasmática – para facilitada restauração hídrica);
- os carboidratos podem constituir até 8% (m/v) do produto pronto para consumo;
- o produto pode ser adicionado de vitaminas e minerais, conforme Regulamento Técnico específico sobre adição de nutrientes essenciais;
- o produto pode ser adicionado de potássio em até 700 mg/l;
- o produto não pode ser adicionado de outros nutrientes e não nutrientes;
- o produto não pode ser adicionado de fibras alimentares;
- o produto pode ser comercializado em diferentes formas de apresentação, como tablete, comprimido, pó, gel, líquido, cápsula, barra, dentre outras, desde que atendam aos requisitos específicos estabelecidos acima.

A fortificação de bebidas isotônicas e energéticas com vitaminas tem sido uma prática adotada pela maioria das indústrias do ramo, sendo as vitaminas do complexo B, vitaminas C e ácido fólico as principais encontradas nos produtos. Vitaminas lipossolúveis, como A e E, também podem ser encontradas pelo uso de microencapsulação. Além da função repositória após exercícios físicos, as bebidas fortificadas podem ser utilizadas para outros objetivos, como por exemplo, para controlar deficiências vitamínicas em comunidades carentes, além de prevenir doenças (CASTRO et al., 2006).

Na literatura, inúmeras outras aplicações de bebidas repositoras hidrolíticas (isotônicas) já são reportadas. É comum usar bebidas isotônicas no tratamento de desidratações infantis por não provocarem diarreia e nem possuírem substâncias que inibem ou diminuem o poder de absorção intestinal.

Abrams et al. (2003) avaliaram a eficácia de bebidas fortificadas com vitaminas em crianças de 6 a 11 anos em relação os níveis séricos de vitaminas, durante 8 semanas. Os autores citam que os níveis séricos de riboflavina e ácido

fólico aumentaram significativamente e, ainda, concluem que a fortificação de bebidas para populações de risco pode ser uma alternativa viável para controle de deficiência vitamínica, devido à fácil aceitação do produto.

Sichert-Hellert e Kersting (2001) relatam que o consumo de vitaminas B1, B2, B3, B6, A, E, C e ácido fólico aumentou entre jovens e adolescentes na Alemanha devido ao consumo de bebidas fortificadas, como isotônicos e energéticos. Campbell e Geik (2004) discutem sobre as necessidades nutricionais de atletas idosos, uma vez que mudanças na manutenção da temperatura corporal associadas à idade destes atletas levam a um aumento da susceptibilidade à desidratação. Eles enfatizam a dieta como sendo a ferramenta para a manutenção de saúde e desempenho durante a atividade física, levando em consideração a necessidade de suplementação de certas vitaminas e minerais, como as vitaminas B2, B6, B12, D, E e ácido fólico e os minerais cálcio e ferro, o que pode ser obtido por meio de bebidas isotônicas.

Para garantir a segurança do consumidor que procura essas bebidas, é necessário que o nível dos micronutrientes obedeça a Recommended Dietary Allowance (RDA), também conhecido como o nível de ingestão diária (MARCHIONI et al., 2004). Para adultos jovens, masculinos e femininos, na faixa etária de 19 a 24 anos, os RDA recomenda valores entre 500 a 2.400 mg de sódio por dia (RDA, 1989). Uma embalagem de 500 mL de uma bebida isotônica contém 225 mg de sódio, o que significa menos de um décimo da quantia máxima recomendada pela RDA (PONTES, 2004).

Acompanhando a tendência mundial, o segmento de bebidas isotônicas vem ampliando seu mercado, introduzindo novos sabores e atendendo à demanda crescente por novos produtos (DE MARCHI e MONTEIRO, 2003). Do ponto de vista dos consumidores, sua rápida expansão está relacionada a um estilo de vida saudável e ao consumo de produtos que vão além de apenas saciar a sede (BEVERAGE WORLD INTERNATIONAL, 1998). Tradicionalmente, os isotônicos têm sido preparados utilizando-se corantes e aromatizantes artificiais, além de conservadores. O emprego de polpas, sucos ou extratos na produção de isotônicos aponta para uma nova perspectiva, agregando à bebida vantagens nutricionais, além de responder ao forte apelo por produtos naturais (DE MARCHI e MONTEIRO, 2003; BEVERAGE WORLD INTERNATIONAL, 1998; GIESE, 1995).

## **VI. ANÁLISE SENSORIAL**

As indústrias de alimentos têm buscado identificar e atender os anseios dos consumidores em relação a seus produtos, pois só assim sobreviverão num mercado cada vez mais competitivo. A análise sensorial tem-se mostrado importante ferramenta neste processo, envolvendo um conjunto de técnicas diversas elaboradas com o intuito de avaliar um produto quanto à sua qualidade sensorial, em várias etapas do seu processo de fabricação (MINIM, 2006).

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (1993) a análise sensorial é definida como uma disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, audição, olfato, tato e paladar. Os métodos sensoriais podem ser divididos em: a) discriminativos, que avaliam diferenças entre duas ou mais amostras, b) descritivos, que descrevem e quantificam diferenças sensoriais entre amostras, c) afetivos, que avaliam a aceitação e preferência dos consumidores com relação às amostras.

### **1 METODOS AFETIVOS**

A análise sensorial de produtos por consumidores é tradicionalmente realizada utilizando testes afetivos. Estes são geralmente fáceis de conduzir, analisar e fornecem uma boa medida sobre a aceitação ou preferência do produto (PONTES, 2004), sendo, por isso, também denominados teste de consumidor. Estes testes possuem várias aplicações, tais como: Manutenção da qualidade de determinado produto, avaliando-se a aceitação deste em função de alterações na formulação, na substituição de alguma matéria-prima e nas modificações no processamento ou no acondicionamento; Desenvolvimento de novos produtos ou processos, aplicando-se vários testes afetivos durante o processo de desenvolvimento de uma nova formulação; acesso ao Mercado potencial, trabalhando-se em conjunto com setor de marketing e o responsável pela análise sensorial, dentre outras (MINIM, 2010).

Para a realização destes testes, é necessário recrutar uma equipe com grande número de participantes que representem a população de consumidores atuais ou potenciais do produto. Para uma tiragem inicial ou uma avaliação preliminar da aceitação, a análise é normalmente realizada em condições

laboratoriais, com 30 a 50 julgadores não treinados. Caso esta avaliação seja realizada em um locais centrais de grande circulação de pessoas (como shopping centers, mercados, clubes, academias, etc), recomenda-se recrutar pelo menos 100 consumidores por produto, para compensar a variabilidade atribuída à novidade da situação, ao potencial de distração e à inexperiência do consumidor.

Os testes afetivos podem ser quantitativos e qualitativos. Os qualitativos visam obter respostas subjetivas de um pequeno subgrupo de consumidores acerca de características sensoriais do produto, por meio de verbalização de suas opiniões sobre o produto. Já os testes quantitativos são utilizados para avaliar a resposta dos consumidores em relação à suas preferências, gostos e opiniões e aos atributos sensoriais dos produtos (MINIM, 2010). Eles podem ser classificados em duas categorias: Testes de Preferência e Testes de Aceitação.

### **1.1 TESTE DE ACEITAÇÃO**

Os testes de aceitação são usados quando o objetivo é avaliar o grau em que os consumidores gostam ou desgostam do produto, buscando uma medida de disposição do consumidor de comprar o produto.

Entre os métodos sensoriais disponíveis para se medir a aceitação dos consumidores com relação a um ou mais produtos, a escala hedônica estruturada de nove pontos é provavelmente o método mais utilizado devido à confiabilidade e validade de seus resultados, bem como sua simplicidade em ser utilizada pelos provadores (STONE e SIDEL, 1993).

Os dados obtidos em um teste de aceitação utilizando a escala hedônica são submetidos a uma análise de variância (ANOVA) seguida de outros procedimentos estatísticos, dentre os quais o teste de Tukey, que permite verificar se há diferença significativa entre duas médias, a um dado nível de confiança, normalmente 95% (STONE e SIDEL, 1993; MEILGAARD et al., 1987).

Outra forma de se avaliar os resultados da escala hedônica é a análise da distribuição de frequências dos valores hedônicos obtidos por cada amostra, utilizando histogramas. Os histogramas tornam possível a visualização da segmentação dos valores hedônicos de cada amostra, revelando o nível de aceitação e rejeição da mesma e permitindo a comparação dos desempenhos de duas ou mais amostras que participaram do estudo (BEHRENS et al., 1999).

As metodologias tradicionais usadas para analisar dados de testes afetivos têm mostrado limitações e deficiências. Geralmente, após a realização de testes afetivos, os dados são analisados estatisticamente por meio de análise de variância e de testes de comparação de médias. Dessa forma, para cada produto avaliado obtém-se a média do grupo de consumidores, assumindo, portanto, que todos os respondentes possuem o mesmo comportamento, desconsiderando suas individualidades podendo assim estar ocorrendo perda de informações importantes (REIS et al., 2010).

## **1.2 MAPA DE PREFERÊNCIA**

Com a finalidade de analisar os dados afetivos levando-se em consideração a resposta individual de cada consumidor e não somente a média do grupo de consumidores que avaliaram as amostras, foi desenvolvida a técnica estatística Multivariada intitulada Mapa de Preferência.

A técnica mapa de preferência foi desenvolvida com o objetivo de comparar preferências e relacioná-las com as características de qualidade do produto, auxiliando na segmentação do mercado em grupos definidos de consumidores. Assim, o produto pode ser introduzido no segmento correto do mercado ou ser otimizado a partir das principais características de qualidade e da indicação da direção da preferência do consumidor (REIS et al., 2010).

O Mapa de Preferência é essencialmente uma representação gráfica (Multidimensional Scaling - MDS) das diferenças de aceitação entre as amostras, que permite a identificação de cada indivíduo e suas preferências em relação às amostras analisadas. O Mapa de Preferência pode ser dividido em duas categorias: o Mapa de Preferência Interno (MDPREF), quando se realiza a análise apenas sobre o conjunto de dados de aceitação/preferência gerados a partir de testes afetivos, e o Mapa de Preferência Externo (PREFMAP), onde se incluem também na análise as medidas descritivas geradas por uma equipe de provadores treinados, relacionando-as com dados de aceitação/preferência dos produtos avaliados (MacFIE et al., 1988, citado por BEHRENS et al., 1999).

### 1.3 MAPA DE PREFERÊNCIA INTERNO

Mapa de preferência interno ou Análise de preferência Multidimensional tem como base a análise de componentes principais (ACP), em que os dados de aceitação/preferência são arranjados numa matriz de produtos (em  $p$  linhas) X consumidores (em  $n$  colunas), que é reduzida em um pequeno número de componentes independentes, minimizando a perda de informação (variação) original. O mapa de preferência interno identifica a principal variação dentro dos dados e extrai a primeira dimensão de preferência (primeiro componente principal), que representa o maior conjunto de variação na aceitação das amostras. As demais dimensões (ortogonais entre si) são extraídas até que toda a variação dos dados de aceitação seja explicada (REIS et al., 2010).

Para construção do mapa de preferência interno, é necessário que todos os provadores avaliem todas as amostras. Com os dados de aceitação, o mapa é gerado, sendo assim possível avaliar o quanto um produto é aceito (ou preferido) no mercado, em função de suas características de qualidade. Isto pode ser realizado por meio da análise de correlação entre as dimensões de preferência e os dados da análise descritiva, análises físico-químicas, ou instrumentais (MINIM, 2010).

Há diferentes representações gráficas do mapa de preferência interno. Uma das formas empregadas para apresentação do mapa de preferência interno consiste em dois gráficos:

Um gráfico de dispersão das amostras avaliadas, representando as diferenças entre elas em termos da aceitação entre os consumidores. Neste gráfico, as amostras são representadas por pontos, cujas coordenadas são dadas pelos escores dos componentes principais;

Um gráfico das correlações entre os escores de aceitação de cada consumidor com as dimensões de preferência. Neste gráfico, cada ponto tem como coordenada as *cargos* ("loadings"), que são as correlações entre os dados de aceitação de cada consumidor e os componentes principais (REIS et al., 2010). O mapa de preferência interno têm sido usado para avaliação de diferentes classes de produtos.

## VII. REFERÊNCIAS

ABRAMS, S.A.; MUSH, A.; HILMERS, D.C.; GRIFFIN, I.J.; DAVILA, P.; ALLEN, L. A Multinutrient-fortified beverage enhances the nutritional status of children in Botswana. **Journal Nutrition**, v. 133, p. 1834-1840, 2003.

AGATI, G.; MEYER, S.; MATTEINI, P.; CEROVIC, Z.G. Assessment of anthocyanins in grape (*Vitis vinifera* L.) berries using a noninvasive chlorophyll fluorescence method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 1053-1061, 2007.

ALKEMA, S.; SEAGER, S.L. The chemical pigments of plants. **Journal of Chemical Education**, v. 59, p. 183-185, 1982.

ALONSO, A.M.; CASTRO, R.; RODRIGUEZ, M.C.; GUILLÉN, D.A.; BARROSO, C.G. Study of the antioxidant power of brandies and vinegars derived from Sherry wines and correlation with their content in polyphenols. **Food Research International**, v. 37, p. 715–721, 2004.

ALONSO, A.M.; DOMINGUEZ, C.; GUILLEN, D.A.; BARROSO, C.G. Determination of antioxidant power of red and white wines by a new electrochemical method as its correlation with phenolic content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3112-3115, 2002.

ALVES, C. C. O.; RESENDE, J. V.; CRUVINEL, R. S. R.; PRADO, M. E. T. Estabilidade da microestrutura e do teor de carotenóides de pós obtidos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) liofilizada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 830-839, 2008.

AMY KING, R.D.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, p. 213-218, 1999.

ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P.D.; PATSALIDES, E.; MCDONALD, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. **The Analyst**, v. 127, p. 183-198, 2002.

ARAÚJO, J.M.A. **Química de Alimentos: teoria e prática**. 5ª Edição. Viçosa: UFV, 2011. 601p.

ARTS, M.J.T.J.; DALLINGA, J.S.; VOSS, H.-P.; HAENEN, G.R.M.M.; BAST, A. A critical appraisal of the use of the antioxidant capacity (TEAC) assay in defining optimal antioxidant structures. **Food Chemistry**, v. 80, p. 409-414, 2003.

ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12806**: análise sensorial dos alimentos – Terminologia. Rio de Janeiro, 1993.

AURELIO, D.L.; EDGARDO, R. G.; NAVARRO-GALINDO, S. Thermal kinetic degradation of anthocyanins in a roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. cv. .Criollo.) infusion. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 43, p. 322-325, 2008.

BECKER, E.M.; NISSEN, L.R; SKIBSTED, L.H. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. **European Food Research and Technology**, v. 219, p. 561–571, 2004.

BEHRENS, J.H.; SILVA, M.A.A.P.; WAKELING, I.N. Avaliação da aceitação de vinhos brancos varietais brasileiros através de testes sensoriais afetivos e técnica multivariada de mapa de preferência interno. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, p. 214-220, 1999.

BERTOLDI, M.C. **Atividade antioxidante *in vitro* da fração fenólica das oleoresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*)**. 2006. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.

BERTOLINI, C. **Sistema para medição de cores utilizando espectrofotômetro**. 2010. 96p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Ciência da Computação) - Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, 2010.

BEVERAGE WORLD INTERNATIONAL. **A new age of growth**. v. 16, p. 38-41, 1998.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Introdução à química de alimentos**. 3ª Ed. São Paulo: Editora Varela, 2003. p. 218-233.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC N° 18, de 27 de abril de 2010. Dispõe sobre alimentos para atletas. **Diário Oficial da União**; Poder Executivo, de 28 de abril 2010. Disponível em:<<http://portal.anvisa.gov.br>> Acesso em: 17 Ago. 2010.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n ° 222, de 24 de Março de 1998 – MS. Aprova o “**Regulamento Técnico referente a Alimentos para Praticantes de Atividade Física**”. Disponível em:<<http://e-legis.anvisa.gov.br>> Acesso em: 17 Ago. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa n° 1, de 7 de janeiro de 2000. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 jan. 2000.

BRASIL. Leis e Decretos, Resolução 04. Regulamenta normas de aditivos intencionais. **Diário Oficial da União**, Brasília, 19 Dez. 1988.



BRASIL. Leis e Decretos, Decreto Lei 55871. Regulamenta normas de aditivos intencionais. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 29 abril 1965.

BRASIL. Resolução - CNNPA nº 44. Estabelece condições gerais de elaboração, classificação, apresentação, designação, composição e fatores essenciais de qualidade dos corantes empregados na produção de alimentos (e bebidas). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1 Fevereiro 1977.

BRENNAN, O.V.; PAGLIARINI, E. Multivariate Analysis of Antioxidant Power and Polyphenolic Composition in Red Wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4841-4844, 2001.

BRITO, C.J.; MARINS, J.C.B. Caracterização das práticas sobre hidratação em atletas da modalidade de judô no estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 13, p. 59-74, 2005.

BROUILLARD, R.; DUBOIS, J. E. Mechanism of the structural transformations of anthocyanins in acid media. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, p. 1359-1363, 1977.

BROUILLARD, R. The *in vivo* expression of anthocyanin colour in plants. **Phytochemistry**, v. 22, p. 311-323, 1983.

BROUILLARD, R. Chemical structure of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (Ed.) **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982. 39p.

BRUNINI, M. A., OLIVEIRA, A. L.; SALANDINI, C. A. R.; Influência de embalagens e temperatura no armazenamento de jabuticabas (*Myrciaria jabuticaba (Vell) Berg*) cv 'sabará'. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 378-383, 2004.

CABELLI, d.E.; BIELSK, B.H.J. Studies of the reactivity of trolox with  $Mn^{3+}/Fe^{3+}$  complexes by pulse radiolysis. **Journal of Free Radicals in Biology & Medicine**, v. 2, p. 71-75, 1986.

CAMPBELL, W. W.; Geik, R. A. Nutritional Considerations for the Older Athlete. **Nutrition**, v. 20, p. 603-608, 2004.

CAMPOS, A.M.; ESCOBAR, J.; LISSI, E.A. The total reactive antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant activity (TAR) of *Ilex paraguayensis* extracts and red wine. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 7, p. 43-49, 1996.

CAMPOS, A.M.; LISSI, E.A. Kinetics of the reaction between 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) derived from cations and phenols. **International Journal of Chemical Kinetics**, v. 29, p. 219-224, 1997.

CASTRO, F. J.; SCHERER, R.; GODOY, H.T. Avaliação do teor e da estabilidade de vitaminas do complexo B e vitamina C em bebidas isotônicas e energéticas. **Química Nova**, v. 29, p. 719-723, 2006.

CHAOVANALIKIT, A.; WROLSTAD, R. E. Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. **Journal of Food Science**, v. 69, p. FCT67-FCT72, 2004.

CHEN, P. N.; CHU, S. C.; CHIOU, H. L.; KUO, W. H.; CHIANG, C. L.; HSIEH, Y. S. Mulberry anthocyanins, cyanidin 3-rutinoside and cyanidin 3-glucoside, exhibited an inhibitory effect on the migration and invasion of a human lung cancer cell line. **Cancer Letters**, v. 235, p. 248, 2006.

CITADIN, I.; DANNER, M.A.; SASSO, S.A.Z. Jabuticabeiras. **Revista Brasileira De Fruticultura**, v. 32, p. 343-656, 2010.

CIE - Commission International de l'Eclairage, 1931. Disponível em <<http://www.colourware.co.uk/cpfaq/q3-21.htm>>. Acesso em: 12 Set. 2010.

CIE - Commission International de l'Eclairage, 1976. Disponível em <<http://www.colourware.co.uk/cpfaq/q3-21.htm>>. Acesso em: 12 Set. 2010.

CONSTANT, P.B.L.; STRINGHETA, P.C.; SANDI, D. Corantes Alimentícios. **Boletim do CEPPA**, v. 20, p. 203-220, 2002.

DUZZIONI, A.G. **Avaliação da atividade antioxidante e quantificação dos principais constituintes bioativos de algumas variedades de frutas cítricas**. 2009. 115p. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, SP, 2009.

DE MARCHI, R.; MONTEIRO, M. Avaliação da Vida-de-Prateleira de um Isotônico Natural de Maracujá (*Passiflora edulis Sims. f. flavicarpa Deg.*). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, p. 291-300, 2003.

DIPLOCK, A.T. Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, p. 189S-193S, 1991.

DONADIO, L.C. **Jabuticaba** (*Myrciaria Jabuticaba* (Vell.) Berg). Jabuticabal: FUNEP, 2000. 55p.

EINBOND, L.S.; REYNERTSON, K.A.; LUO, X.-D.; BASILE, M.J.; KENNELLY, E.J. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, v. 84, p. 23-28, 2004.

FANALE, C.I. Comercialização de jabuticaba no ETSP- Entrepasto Terminal de São Paulo (CEAGESP). 2008. Disponível em: <www.ceagesp.gov.br>. Acesso em: 21 Nov. 2010.

FAVARO, M.M.A. **Extração, estabilidade e quantificação de antocianinas de frutas típicas Brasileiras para aplicação industrial como corantes**. 2008. 105p. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2008.

FRANCIS, F. J. Anthocyanins and betalains: composition and applications. **Cereal Foods World**, v. 45, p. 208-213, 2000.

FRANCIS, F. J. Food colorants: anthocyanins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 28, p. 273-314, 1989.

FRANCIS, F. J.; CLYDESDALE, F. M. **Food colorimetry: theory and applications**. Connecticut: The Avi Publishing Company, Inc., 1975. 477p.

FRANKEL, E.; KANNER, J. Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. **Lancet**, v. 341, p. 454, 1993.

FREUND, P.R. WASHAN, C.J.; MAGGLON, M. Natural color for use in foods. **Cereal Food World**, v. 33, p. 553-559, 1988.

FUKUMOTO, L.R.; MAZZA, G. Assessing antioxidante and prooxidant activity of phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 8, p. 3597-3604, 2000.

GAO, L.; MAZZA, O. Extraction of anthocyanin pigments from purple sunflower hulls. **Journal of Food Science**, v. 61, p. 600-603, 1996.

GARCIA-VIGUERA, C.; ZAFRILLA, P.; TOMÁS-BARBERÁN, A. The use of acetone as an extraction solvent for anthocyanins from strawberry fruit. **Phytochemistry Analysis**, v. 9, p. 274, 1998.

GEOCZE, A.C. **Influência da preparação do licor de jabuticaba (Myrciaria Jabuticaba Vell Berg) no teor de compostos fenólicos**. 2007. 80p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2007.

GIESE, J. H. Developments in beverage additives. **Food Technology**, v. 49, p. 64-72, 1995.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. **Biochemical engineering journal**, v. 14, p. 217-225, 2003.

GOMIS, D.B.; PALOMINO, N.F.; ALONSO, J.J.M. Capillary liquid chromatographic determination of neutral phenolic compounds in apples juices. **Analytica Chimica Acta**, v. 426, p. 111-117, 2001.

GRIS, E. F.; FERREIRA, E. A.; FALCÃO, L. D.; LUIZ, M. T. B. Influence of ferulic acid on stability of anthocyanins from Cabernet Sauvignon grapes in a model system and a yogurt system. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 42, p. 992-998, 2007.

GUIMARÃES. I.S. Corantes naturais: os sucedâneos dos artificiais. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v. 2, p. 88-89, 1994.

HALLIWELL, B. Lipid peroxidation, antioxidants and cardiovascular disease: how should we move forward? **Cardiovascular Research**, v. 47, p. 410–418, 2000.

HARBORNE, J.B. **The Flavonoids, Advances in Research since 1986**. London: Chapman & Hall, 1994. 676p.

HARBONE, J. B.; MABRY, T. J.; MABRY, H. **The flavonoids**. New York: Academic Press, 1975. 744p.

HARBORNE, J. B. **Comparative biochemistry of the flavonoids**. London: Academic Press, 1967. 383p.

HORSWILL, C.A. Effective fluid replacement. **Journal of the international society of sports nutrition**, v. 8, p. 175-195, 1998.

HUGHES, N. M.; MORLEY, C. B.; SMITH, W. K. Coordination of anthocyanin decline and photosynthetic maturation in juvenile leaves of three deciduous tree species. **The New phytologist**, v. 175, p. 675-685, 2007.

IACOBUCCI, G. A.; SWEENEY, J. G. The chemistry of anthocyanins, anthocyanidins, and related flavilium salts. **Tetrahedron**, v. 39, p. 3005-3038, 1983.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola do Estado do Pará**. 2006. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm>. Acesso em: 10 Abr. 2010.

ISLAM, S. Sweetpotato (*Ipomoea batatas L.*) leaf: its potential effect on Human health and nutrition. **Journal of Food Science**, v. 71, p. R13-R121, 2006.

JACKMAN, R. L.; SMITH, J. L. **Anthocyanins and betalains**. In: HENDRY, G. A. F.; HOUGHTON, J. D. (Eds.) *NaT. Food Color*. 2<sup>nd</sup> ed. Londres: Chapman & Hall, 1996. p. 245- 309.

JING, P.; GIUSTI, M. M. Effects of extraction conditions on improving the yield and quality of an anthocyanin-rich purple corn (*Zea mays* L.) color extract. **Journal of Food Science**, v. 72, p. C363-C368, 2007.

JU, Z. Y.; HOWARD, L. R. Subcritical water and sulfured water extraction of anthocyanins and other phenolics from dried red grape skin. **Journal of Food Science**, v. 70, p. S270-S273, 2005.

KIM, S.; PARK, J.; HWANG, I. K. Composition of main carotenoids in Korean red pepper (*Capsicum annuum*, L.) and changes of pigment stability during the drying and storage process. **Journal of Food Science**, v. 69, p. FCT39-FCT44, 2004.

KONG, J.M.; CHIA, L.S. GOH, N.K.; CHIA, T.F.; BROUILLARD, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 64, p. 923-933, 2003.

KRAFT, T. F. B.; SCHMIDT, B. M.; YOUSEF, G. G.; KNIGHT, C. T. G.; CUENDET, M.; KANG, Y-H.; PEZZUTO, J. M.; SEIGLER, D. S.; LILA, M. A. Chemopreventive potential of wild lowbush blueberry fruits in multiple stages of carcinogenesis. **Journal of Food Science**, v. 70, p. S159-S166, 2005.

LEÃO, A.C. **Gerenciamento de cores para imagens digitais**. 2005. 135p. Dissertação (Mestrado em Artes Visuais) - Escola de Belas Artes, Belo Horizonte, MG, 2005.

LEE, H.S.; HONG, V. Chromatographic analysis of anthocyanins. **Journal of Chromatography A**, v. 624, p. 221-234, 1992.

LEITE, F. N. **Calibração de dispositivos de cores utilizando uma câmera digital**. 2006. 58f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) - Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

LIMA, D. M.; COLUGNATI, F. A. B.; PADOVANI, R. M.; AMAYA, D. B. R.; SALAY, E.; GALEAZZI, M. A. M.; **Tabela brasileira de composição de alimentos – TACO**, São Paulo: NEPA-UNICAMP. 2006.

LIMA, V.L.A.G; MÉLO, E.A.; LIMA, L.S.; NASCIMENTO, P.P. Flavonóides em seleções de acerola (*Malpighia* sp L.). 1-Teor de antocianinas e flavonóis totais. **Ciência Rural**, v. 30, p. 1063-1064, 2000.

LIMA, V.L.A.G.; MÉLO, E.A.; GUERRA, N.B. Correlação entre o Teor de Antocianinas e Caracterização Cromática de Polpas de Diferentes Genótipos de Aceroleira. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, p. 51-55, 2007.

MacFIE, H. J. H.; THOMSON, D. M. H., Preference Mapping and Multidimensional Scaling. In: PIGGOT J.R., ed. **Sensory Analysis of Foods**, 2nd ed. London: Elsevier, 1988. 389p.

MACZ-POP, G. A.; RIVAS-GONZALO, J. C.; PÉREZ-ALONSO, J. J.; GONZALÉZPARAMÁS, A. M. Natural occurrence of free anthocyanin aglycones in beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Chemistry**, v. 94, p. 448-456, 2006.

MADHAVI, D. L.; SMITH, M. A. L.; BERBER-JIMÉNEZ, M. D. Expression of anthocyanins in callus cultures of cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait). **Journal of Food Science**, v. 60, p. 351-355, 1995.

MAGALHÃES, M.M. **Desenvolvimento e carboidratos constituintes do fruto de jaboticaba (Myrciaria jaboticaba Berg, cv. Sabará)**. 1991. 77p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1991.

MALACRIDA, C.R.; MOTTA, S. ANTOCIANINAS em suco de uva: composição e estabilidade. **B.CEPPA**, v. 24, p. 59-82, 2006.

MANICA, I. **Frutas nativas, silvestres e exóticas: Técnicas de produção e mercado: abiu, aroma-preta, araçá, bacuri, biribá, carambola, cereja-do-rio-grande, jaboticaba**. Porto Alegre: Cinco continentes, 2000. 372p.

MARCHIONI, D.M.L.; SLATER, B.; FISBERG, R. Aplicação das Dietary Reference Intakes na avaliação da ingestão de nutrientes para indivíduos. **Revista de Nutrição**, v. 17, p. 207-216, 2004.

MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982. p. 163-180.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J.M.; TUÑÓN, M.J. Revisión-Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición hospitalaria**, v. 17, p. 271-278, 2002.

MATTOS, J.R. **Frutíferas nativas do Brasil: jaboaticabeiras**. Porto Alegre: Nobel, 1983. 92p.

MAZZA, G.; MINIATI, E. **Anthocyanins in fruits, vegetables and grains**. Boca Raton: CRC Press, 1993. 362p.

McGHIE T. K.; ROWAN D. R.; EDWARDS P. J.; .Structural identification of two major anthocyanin components of boysenberry by NMR spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 8756-8761, 2006.

MEBANE, R.C.; RYBOLT, T.R. Edible acid-base indicators. **Journal of chemical education**, v. 62, p. 285-293 , 1895.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**, CRC Press, Inc., 1987. 302p.

MILLER, N.J.; RICE-EVANS, C.; DAVIES, M.J.; GOPINATHAN, V.; MILNER, A. a A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, v. 84, p. 407-412, 1993.

MILLER, N.J.; RICE-EVANS, C.A. Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS radical cation essay. **Free Radical Research**, v. 26, p. 195-199, 1997.

MINIM, V.P.R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. 2ª edição. Viçosa: Ed. UFV, 2010.

MIURA, K.; KIKUZAKI, H.; NAKATANI, N. Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 1845-1851, 2002.

MONTEIRO, S. Açai de fruta exótica a vedete de consumo. **Frutas & Derivados**, v. 1, p. 29-32, 2006.

MOTA, W. F.; SALOMÃO, L. C. C.; PEREIRA, M. C. T. Influência do tratamento pós-colheita com cálcio na conservação de jaboticabas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, p. 49-52, 2002.

MOURE, A.; CRUZ, J.M.; FRANCO, D.; DOMINGUEZ, J.M.; SINEIRO, J.; DOMINGUEZ, H.; NUNEZ, M. J.; PARAJO, J.C. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry – Review**, v. 72, p. 145-171, 2001.

MINOLTA. **Precise color communication: color control from perception to Instrumentation**. Japan: Minolta Co. Ltd., 2007. 59p.

NICOUÉ, E. E.; SAVARD, S.; BELKACEMI, K. Anthocyanins in wild blueberries of Quebec: extraction and identification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 5626-5635, 2007.

NOGUEIRA, O. L.; FIGUEIREDO, F. J. C.; MÜLLER, A. A.(Ed.) **Açaí**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2005. 137 p.

OKI, T.; KOBAYASHI, M.; NAKAMURA, T.; OKUYAMA, A.; MASUDA, M.; SHIRATSUCHI, H.; SUDA, I. Changes in radical-scavenging activity and components of mulberry fruit during maturation. **Journal of Food Science**, v. 71, p. C18-C22, 2006.

OLIVEIRA, A.L; BRUNINI, M.A.; SALANDINI, C.A.R.; BAZZO, F.R. Caracterização tecnológica de jaboticabas 'sabarás' provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 397-400, 2003.

OZELA, E. F. **Caracterização de flavonóides e estabilidade de pigmentos de frutos de bertalha (*Basella rubra L.*)**. 2005. 71p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2005.

PAZMIÑO-DURÁN, E.A.; GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E.; GLÒRIA, M.B.A. Anthocyanins from *Oxalis triangularis* as potential food colorants. **Food Chemistry**, v. 75, p. 211-216, 2001.

PENNINGTON, J.A.T. Food Composition Databases for Bioactive Food Components. **Journal of food composition and analysis**– Study review, v. 15, p. 419–434, 2002.

PONTES, L.V. **Avaliação sensorial e instrumental da cor de misturas em pó para refresco, bebida isotônica e gelatina utilizando corantes naturais**. 2004. 97p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2004.

PRADO, M.A.; GODOY, H.T. Corantes artificiais em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 14, p. 237-250, 2003.

QUEIJA, C.; QUEIRÓS, M. A.; RODRIGUES, L. M. A cor dos Alimentos. **Química - Boletim da Sociedade Portuguesa de Química**, v. 80, p. 6-11, 2001.

QUINA, F. H.; FREITAS, A. A.; MAÇANITA, A. L.; SILVA, P. F.; LIMA, J. C. The (photo)chemistry of anthocyanins. **The Spectrum**, v. 19, p. 18-23, 2006.

RDA – **Recommended Dietary Allowances**, 10<sup>th</sup> Edition. Washington (DC): National Research Council, National Academy Press, 1989. 284p.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying na improved ABTS radical cation



decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

REIS, R.C.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, J.C.S.; MINIM, V.P.R. Mapa de Preferência. In: MINIM, V.P.R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa: Ed. UFV, 2010. p.111-126.

REVILLA, E.; RYAN, J. M.; MARTIN-ORTEGA, G. Comparison of several procedures used for the extraction of anthocyanins from red grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 4592-4597, 1998.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAPAGANDA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, v. 2, p. 152-159, 1997.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAPAGANDA, G. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free radical biology & medicine**, v. 20, p. 933-956, 1996

ROBARDS, K. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. **Journal of Chromatography A**, v. 1000, p. 657-691, 2003.

RODRIGUES, R.B.; LICHTENTHALER, R.; ZIMMERMANN, B.F.; PAPAGIANNPOULOS, M.; FABRICIUS, H.; MARX, F. Total Oxidant Scavenging Capacity of Euterpe oleracea Mart. (Açaí) Seeds and Identification of Their Polyphenolic Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 4162-4167, 2006.

ROGEZ, H. **Açaí: Preparo, Composição e Melhoramento da conservação**. Belém: Ed. EDUFPA, 2000. 288p.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, SELENE M.; SAMPAIO, C. G.; Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS<sup>•+</sup>. **Comunicado Técnico on line**. ISSN 1679-6535, 2007.

SAMPAIO, P.G. **Otimização da extração, esterilização e identificação de antocianinas obtidas a partir de frutas**. 2008. 133p. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2008.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Compuestos polifenólicos: efectos fisiológicos. Atividade antioxidante. **Alimentaria**, n. 394, p. 29-40, 2002.

SANTOS, G.M.; MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M.; COSTA, J.M.C.; FIGUEIREDO, R.W.; PRADO, G.M. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de

polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 58, p. 187-192, 2008.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 2073-2085, 2000.

SCHANDA, J. **Colorimetry: understand the CIE system**. Hoboken: Wiley, 2007. 467p.

SELLAPPAN, S.; AKOH, C.C.; KREWER, G. Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Georgia-Grown Blueberries and Blackberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 2432-2438, 2002.

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

SICHERT-HELLERT, W.; KERSTING, M. Significance of fortified beverages in the long-term diet of German children and adolescents: 15-year results of the Donald study. **International journal for vitamin and nutrition research**, v. 71, p. 356-363, 2001.

SILVA, F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova – Revisão**, v. 22, p. 94-103, 1999.

SILVA, P.C.F. da **Propriedades antioxidantes in vitro de uva branca e de uva tinta e de seus respectivos vinhos elaborados**. 2003. 138p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2003.

SILVA, P.H.A.; FARIA, C.; TONON, B.; MOTA, S.J.D; PINTO, V.T. Avaliação da composição química de fermentados alcoólicos de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*). **Química Nova**, v. 31, p. 595-600, 2008.

SIMÕES, C.M.O.; SHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGs, 2000. 821p.

STINTZING, F. C.; STINTZING, A. S.; CARLE, R.; FREI, B.; WROLSTAD, R. E. Color and antioxidant properties of cyanidin-based anthocyanin pigments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 6172, 2002.

STONE, H. S.; SIDEL J. L. **Sensory Evaluation Practices**, San Diego: Academic Press, 1993. 308p.

TACO – **Tabela brasileira composição de alimentos**. 4 edição. Campinas: NEPA–UNICAMP, 2011. 161p.

TEIXEIRA, L.N.; STRINGHETA, P.C.; OLIVEIRA, F.A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v. 55, p. 297-304, 2008.

TEMPLE, N.J. Antioxidants and diseases: More questions than answers. **Nutrition and Research**, v. 20, p. 449-459, 2000.

TERCI, D. B. L.; ROSSI, A. V. Indicadores naturais de pH: usar papel ou solução?. **Química Nova**, v. 25, p. 684-688, 2002.

TERCI, D.B.L. **Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas**. 2004. 231p. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Instituto de Química da UNICAMP, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2004.

TURKER, N.; ERDOGDU, F. Effects of pH and temperature of extraction medium on effective diffusion coefficient of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* var. L.). **Journal of food engineering**, v. 76, p. 579-583, 2006.

VALIM, M. F. C. F. A. **Avaliação do efeito de corantes orgânicos sintéticos artificiais na função respiratória mitocondrial**. 1989. 83p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 1989.

WROLSTAD, R. E.; LEE, J. Extraction of anthocyanins and polyphenolics from blueberry processing waste. **Journal of Food Science**, v. 69, p. C564, 2004.

## CAPÍTULO I

### **Bebidas isotônicas formuladas com extratos de antocianinas de casca de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*) e polpa de açaí (*Euterpe oleracea Mart.*): características físicas, químicas e sensoriais.**

#### **RESUMO**

A existência de propriedades antioxidantes de algumas frutas tem sido associadas a diminuição do risco e desenvolvimento de algumas doenças crônicas não-transmissíveis. Dentre os compostos bioativos que conferem tais propriedades, estão as antocianinas, que podem ser extraídas e utilizadas como corantes naturais, conferindo cor atrativa aos alimentos. A utilização de extratos de antocianinas de cascas de jabuticaba e açaí na formulação de bebidas isotônicas aponta como um diferencial, uma vez que este é um mercado ascendente cujos consumidores estão relacionados a um estilo de vida mais saudável. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi formular bebidas isotônicas adicionadas de extratos de antocianinas de cascas de jabuticaba, açaí e mistura desses; caracterizar as matérias-primas e seus extratos para serem utilizados na preparação de bebidas isotônicas; e avaliar a aceitação dessas bebidas comparando-as a de uma marca comercial conhecida, que é colorida artificialmente. As matérias-primas, os extratos e as bebidas foram caracterizados quanto as características físicas e químicas (Umidade, pH, acidez titulável total, sólidos solúveis totais e relação brix/acidez), antocianinas totais, fenólicos totais, coordenadas de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $h^*$  e  $C^*$ ) e atividade antioxidante. Os resultados das coordenadas de cor (valores de  $L$  variando entre 27,63 e 25,46; valores de  $a^*$  entre 11,00 e 1,02; valores de  $b^*$  variando de 2,66 a -0,29, para as cascas e açaí, respectivamente), indicaram que tanto a casca de jabuticaba quanto a polpa de açaí tendiam a tonalidades de vermelho que pode ser explicado pelo elevado conteúdo de antocianinas em sua composição. Os extratos de antocianinas apresentaram elevada acidez, ATT de 23,63 e 13,93, baixo pH (1,86 e 2,19), elevado conteúdo de antocianinas, de  $80,17\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  e  $74,38\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , e polifenóis, de  $216,99\text{mg AGE}\cdot 100\text{g}^{-1}$  e  $310,39\text{mg AGE}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , e coloração roxeada ( $L= 25,35$  e  $26,85$ ;  $a^*= 1,43$  e  $2,63$ ;  $b^*= -0,22$  e  $-0,12$ ), sempre para os extratos de

casca de jabuticaba e açaí. Já para as bebidas isotônicas formuladas com extratos de antocianinas, a caracterização físico-química mostrou que todas estavam dentro dos padrões de qualidade e identidade para bebidas desta categoria. Todas as bebidas isotônicas formuladas com extratos de antocianinas apresentaram elevada atividade antioxidante (variando entre  $0,41\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  a  $0,84\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , por mL de bebida, para as bebidas adicionadas de extrato de açaí e casca de jabuticaba, respectivamente), pelo método de ABTS, além de elevado teor de antocianinas ( $9,06\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  a  $9,44\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , por mL de bebida, para as bebidas adicionadas de extrato de açaí e casca de jabuticaba, respectivamente) e fenólicos totais (variando entre  $60,64\text{mg AGE}\cdot 100\text{g}^{-1}$  a  $93,04\text{mg AGE}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , por mL de bebida, para as bebidas adicionadas de extrato de açaí e casca de jabuticaba, respectivamente). A adição de extrato de antocianina na formulação de bebidas isotônicas proporcionou tonalidade de cores claras (valores de L variando entre 40,78 e 46,30, para as bebidas comercial e adicionada de extrato de casca de jabuticaba, respectivamente) e vivas (valores de  $c^*$  entre 33,56 e 45,62, para as bebidas e adicionada de extrato de açaí e comercial, respectivamente), que tendiam ao vermelho (valores de  $h^*$  entre 61,52 e 168,52, para as bebidas adicionada de extrato de açaí e comercial, respectivamente), característico da presença de antocianinas. Pela diferença global de cor (valores de  $\Delta E$  de 6,80, 11,33 e 16,97, para as bebidas formuladas com extrato de casca de jabuticaba, açaí e a mistura entre eles, respectivamente), notou-se que havia grande diferença entre as amostras formuladas com extratos de antocianinas e da bebida comercial. A aceitabilidade das bebidas isotônicas adicionadas de extratos de casca de jabuticaba e açaí não foi significativamente afetada pela adição de corantes naturais, tanto para cor, cujos valores hedônicos foram de 6,61, 6,86 e 7,13, para as bebidas adicionadas de extrato de açaí, casca de jabuticaba e a comercial, respectivamente, correspondendo aos termos hedônicos gostei ligeiramente a gostei muito; quanto para impressão global, com valores hedônicos de 6,65, 6,79 e 6,93, para as bebidas comercial, adicionadas de extrato de açaí e casca de jabuticaba, respectivamente, correspondendo aos termos hedônicos gostei ligeiramente a gostei moderadamente. Conclui-se que é possível a utilização de corantes naturais na formulação de bebidas isotônicas, pois além de adequados às exigências da legislação e para padrão de cor e sabor, podem trazer benefícios à saúde pela presença de compostos bioativos.

**Palavras-chave:** Jabuticaba; açaí; bebidas isotônicas; antocianinas totais; fenólicos totais; atividade antioxidante (ABTS); coordenadas de cor; análise sensorial.

## I. INTRODUÇÃO

A aplicação de pigmentos naturais e a sua relação com a atividade antioxidante em alimentos é objeto de interesse tanto para a indústria como para os consumidores. Estudos recentes relacionam a ingestão de frutas e hortaliças com propriedades antioxidantes e a diminuição do risco e desenvolvimento de algumas doenças crônicas não-transmissíveis (SILVA et al., 2004 e WICKLUND et al., 2005) em grande parte devido à presença de compostos fenólicos.

Compostos fenólicos são oriundos do metabolismo secundário, e compreendem uma gama de outros compostos de interesse como os flavonóides, incluindo as antocianinas, os quais apresentam grande capacidade de reagir com radicais livres, e portanto contribuem para a prevenção de várias doenças por apresentar atividade anti-inflamatória, antioxidante, antialérgica, antitrombótica, antimicrobiana e antineoplásica (KUSKOSKI et al., 2005), dentre outras.

As antocianinas estão presentes em pequenas frutas como amora, cereja, uva, ameixa, framboesa, morango e mirtilo, morango, jabuticaba, uva rosada, jambolão e açaí.

A Jabuticaba 'Sabará' (*Myrciaria jabuticaba* (Vell) Berg) e o açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) são frutas tipicamente Brasileiros e reconhecidos pela sua bioatividade. Vários estudos têm relatado correlações positivas entre teores de compostos fenólicos da casca de jabuticaba, em especial as antocianinas, e atividade antioxidante (KALT et al., 199; SANTOS et al., 2008). Silva (2011) reportou teores de polifenóis em cascas de jabuticaba que variavam entre 285,67mg AGE·100 g<sup>-1</sup> a 435,38mg, enquanto a atividade antioxidante foi de 1360,8µmol·L Trolox·g<sup>-1</sup>. O açaí é uma fruta energética que contém elevado teor de compostos fenólicos, especialmente antocianinas (teores variando de 50mg·100g<sup>-1</sup> a 180mg·100g<sup>-1</sup> de polpa). Em comparação com o suco de uva, reconhecido como boa fonte destes compostos e que apresenta um teor de 14mg·100g<sup>-1</sup> a 27mg·100g<sup>-1</sup> (BOBBIO et al., 2000; POZO-INSFRAN et al., 2004), verifica-se que os teores no açaí são relevantes.

A utilização de extratos de antocianinas de cascas de jabuticaba e açaí na formulação de bebidas isotônicas aponta como um diferencial, uma vez que este é um mercado ascendente cujos consumidores estão relacionados a um estilo de vida mais saudável. Tradicionalmente, os isotônicos têm sido preparados utilizando-se corantes e aromatizantes artificiais, além de conservadores (DE MARCHI e MONTEIRO, 2003), que tem sido questionáveis quanto a toxicidade. O que se espera das indústrias é a ampliação deste mercado, com a introdução de novos sabores e tecnologias para atender à crescente demanda por produtos de melhor qualidade sensorial e nutricional. A utilização de compostos bioativos como corantes naturais em isotônicos surge então como estratégia nutricional, uma vez que meios isotônicos contribuem para uma rápida absorção gastrointestinal de nutrientes, além de responder ao forte apelo por produtos naturais (CESARONE et al., 2008).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi formular bebidas isotônicas adicionadas de extratos de antocianinas produzidos a partir de cascas de jabuticaba e polpa de açaí, caracterizar as matérias-primas e os extratos produzidos, bem como avaliar a aceitabilidade das bebidas.

## **II. MATERIAL E MÉTODOS**

As análises foram realizadas no Laboratório de Pigmentos Naturais e Compostos Bioativos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

### **1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE DOS RESULTADOS**

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado para a caracterização física e química (umidade; pH; acidez titulável total (ATT); sólidos solúveis totais (SST); relação acidez/brix (Ratio); coordenada de cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ); antocianinas totais; fenólicos totais e atividade antioxidante) da casca da jabuticaba e polpa de açaí, dos extratos antociânicos e das bebidas isotônicas formuladas a partir destes extratos. Todos os experimentos foram realizados em três repetições e as análises físicas e químicas em triplicata.

Na análise sensorial das bebidas isotônicas formuladas (cor e impressão global), procedeu-se no delineamento inteiramente casualizado com 113 provadores. Para obtenção do Mapa de Preferência Interno ou Análise de

Preferência Multidimensional (MDPREF), os dados de aceitação (teste de consumidor) foram organizados numa matriz de amostras (em linhas) e consumidores (em colunas), e esta submetida à Análise de Componentes Principais (ACP). Os resultados foram expressos em um gráfico de dispersão das amostras (tratamentos) em relação aos dois primeiros componentes principais e em outro representando os “loadings” (cargas) da ACP (correlações dos dados de cada consumidor com os dois primeiros componentes principais).

Os dados obtidos foram interpretados por análise de variância (ANOVA), teste de comparação de médias (Tukey) e teste F, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa SAS (Statistical Analyses System), versão 9.2 (2006), licenciado para uso pela Universidade Federal de Viçosa.

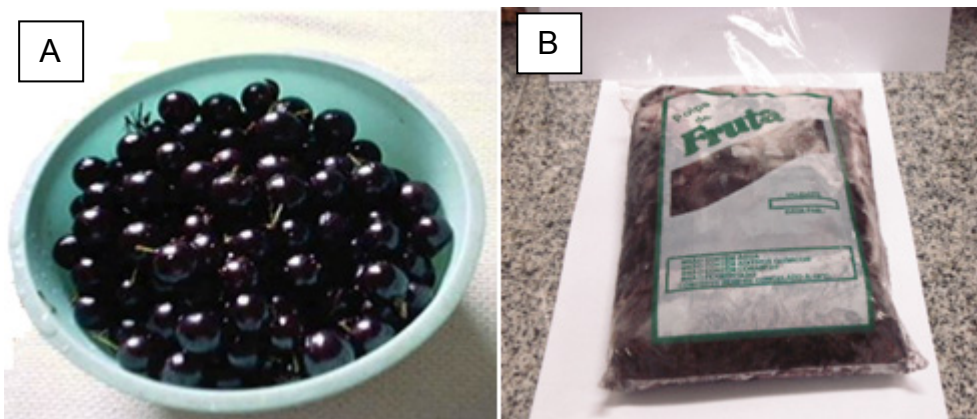
Medidas de correlação foram realizadas entre a atividade antioxidante e os compostos fenólicos ( $p < 0,05$ ) e entre as coordenadas de cor  $a^*$  e os compostos fenólicos e atividade antioxidante ( $p < 0,05$ ). Para as bebidas isotônicas, foi também realizada uma correlação entre a coordenada de cor  $a^*$  e o teor de antocianinas ( $p < 0,05$ ).

## **2 MATÉRIA PRIMA**

Foi utilizada a espécie de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg) cv ‘sabará’, colhida no Distrito de Cachoeiro do Campo/MG, safra 2010/2011 (Figura 1.1A). As jaboticabas foram higienizadas em tanques de imersão de água fria (15°C) contendo 100ppm de hipoclorito de sódio a 5% de cloro ativo, por 5 min. Após a retirada manual da polpa, a casca foi acondicionada em sacos de polietileno de baixa densidade e armazenada em freezer convencional à temperatura de -18 °C até a etapa da extração.

As polpas de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) foram adquiridas do estado do Pará (Figura 1.1B), e ficaram armazenadas em freezer convencional à temperatura de -18 °C até a etapa da extração. Entretanto, vale ressaltar que estas polpas foram minimamente processadas de modo a conservar as características originais do fruto “in natura” (não sendo previamente pasteurizadas nem tratadas com hidróxido de sódio).





A: Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg) cv 'sabará'; B: polpa de açai congelada adquirida de Belém/PA.

**Figura 1.1** – Matérias-primas utilizadas para extração de antocianinas.

### **3 CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS**

As análises físico-químicas realizadas para a polpa descongelada de açai e casca de jaboticaba, bem como o método empregado estão descritos a seguir:

#### **3.1 ÁGUA**

A determinação do teor de água da casca de jaboticaba e polpa de açai foi realizado através do método gravimétrico (TE 395-1, Tecnal, Brasil), baseando-se na perda de massa das amostras submetidas a aquecimento a 105 °C em estufa a vácuo, até peso constante, conforme AOAC (1997).

#### **3.2 pH**

Foi determinado por via direta, sendo as cascas de jaboticaba adicionadas de 10 mL de água destilada e maceradas até que obtivesse o suco da casca, que foi filtrado em filtro de nylon. A leitura foi feita em equipamento digital (pHmetro, Digimed DM-20, Brasil), segundo as normas analíticas propostas pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### **3.3 ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL (ATT)**

Foi determinada de acordo com AOAC (1997), por titulação com NaOH (0,1 mol·L<sup>-1</sup>), usando fenolftaleína como indicador, sendo o resultado expresso em % de ácido cítrico (m·v<sup>-1</sup>).

### 3.4 SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS (SST)

Foi determinado por leitura direta em refratômetro digital (Digital Hand-Held Refractometer AR200, Leica) previamente calibrado com água destilada, e o resultado expresso em °Brix de acordo com as normas analíticas propostas pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), a temperatura ambiente.

### 3.5 RELAÇÃO SST/ATT (RATIO)

Foi obtida pela divisão dos valores de sólidos solúveis totais pela acidez total titulável.

## 4 CARACTERIZAÇÃO COLORIMÉTRICA DA CASCA DE JABUTICABA E POLPA DE AÇAÍ

A coloração foi determinada por colorimetria em Colorímetro Colorquest II spera (Hunter Lab, Reston, VA), com leitura direta dos valores das coordenadas L\* (luminosidade), a\* (intensidade de vermelho vs verde) e b\* (intensidade de amarelo vs azul).

Os parâmetros de tonalidade (h\*) e saturação (C\*) foram calculados a partir dos valores de a\* e b\*, conforme as equações 1.1 e 1.2, respectivamente. Para efetuar a leitura, empregou-se uma cubeta de quartzo com capacidade de 50 mL.

$$h^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (\text{eq. 1.1})$$

$$c^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{eq. 1.2})$$

## 5 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

### 5.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DE ANTOCIANINAS DE CASCA DE JABUTICABA

Os pigmentos foram extraídos segundo metodologia proposta por Silva (1996), brevemente detalhada a seguir.

O extrato foi obtido a partir de 5 g de casca de jabuticaba, trituradas em liquidificador com etanol 70 % (v/v) (1:2 cascas/solvente) e acidificado com solução de ácido cítrico 6 %, até pH 2,0. Essa suspensão foi deixada em repouso em ausência de luz e sob refrigeração (4°C±1°C) por 24 h. O extrato foi então filtrado em

tecido fino de nylon e novamente em papel Whatman nº 1 a vácuo, em funil de Buchner, e o volume completado para 25 mL com a solução extratora.

## **5.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DE ANTOCIANINAS DE POLPA DE AÇAÍ**

Inicialmente, 10g de polpa foi centrifugada (centrífuga Excelsa® II Modelo 206 MP, Brasil), a 2500g por 10 minutos, para separação de sólidos insolúveis e lipídeos da fração aquosa. Ao sobrenadante, foi adicionado etanol 70 % (v/v) (1:2 sobrenadante/solvente) e o extrato foi acidificado com solução de ácido cítrico 6 %, até pH 2,0, e deixado em repouso em ausência de luz por 24 h sob refrigeração ( $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Após este período, o extrato foi filtrado em tecido fino de nylon e novamente em papel Whatman nº 1 a vácuo, em funil de Buchner, e o volume completado para 25 mL com a solução extratora.

## **5.3 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS**

As análises de compostos fenólicos totais dos extratos foram realizadas segundo metodologia citada por Singleton e Rossi (1965), que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu.

Diluiu-se 0,6 mL dos extratos obtidos nos itens 5.1 e 5.2 em 3,0mL de reagente Folin-Ciocalteu diluído em água destilada (1:10;  $v \cdot v^{-1}$ ); após 3 minutos de repouso ao abrigo da luz, adicionou-se 2,4mL de solução saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7,5%;  $m \cdot v^{-1}$ ). A absorbância foi determinada a 760nm por espectrofotometria de absorção na região do UV-Visível (UV-1601 PC Shimadzu, Tokyo, Japão), após 1 hora de repouso em ausência de luz. O IPT foi determinado utilizando curva analítica de ácido gálico ( $0\text{-}200\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) e os resultados expressos em ácido gálico equivalente (mg de ácido gálico equivalente ( $\text{AGE} \cdot \text{L}^{-1}$ )).

## **5.4 ANTOCIANINAS TOTAIS**

O teor de antocianinas totais dos extratos foi determinado por espectrofotometria de acordo com Lees e Francis (1972), brevemente detalhada a seguir. Uma alíquota (3,5mL) das bebidas isotônicas foi diluída em um balão volumétrico de 5mL, tendo seu volume completado com etanol:HCl  $1,5\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (85:15)  $v \cdot v^{-1}$ . Após a diluição, foi realizada leitura espectrofotométrica (em espectrofotômetro UV-1601 PC Shimadzu), no comprimento de onda de 535nm. A diluição foi adotada de tal modo que se obtivesse um valor de absorbância entre 0,200–0,800,

respeitando a Lei de Lambert-Beer. O teor de antocianinas será obtido pela equação 3.

$$A = \epsilon_{1\text{cm}} \cdot b \cdot C' \quad (\text{Eq. 1.3})$$

em que:

A = Absorbância (Abs) em 535 nm

$\epsilon_{1\text{cm}}$  = Coeficiente de absorvidade ( $98,2 \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ )

C' = Concentração ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )

b = espessura da cubeta (1cm)

O conteúdo total de antocianinas foi expresso em mg de antocianinas·100mg<sup>-1</sup> de casca ou polpa. Foi utilizado o Coeficiente de Extinção glicosídeo médio ( $\epsilon_{535,1\text{cm}}^{1\text{cm}} = 98,2 \text{ L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ), que corresponde à cianidina-3-glicosídeo (FULEKI e FRANCIS, 1968).

## 6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO ENSAIO DO CÁTION RADICAL ABTS

A atividade antioxidante foi determinada pelo ensaio do cátion radical ABTS, segundo metodologia descrita por Re et al. (1999), com modificações. O radical ABTS foi formado a partir da reação de solução de ABTS  $7\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  e persulfato de potássio  $2,45\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , na proporção 1:1 ( $v \cdot v^{-1}$ ). A mistura permaneceu em repouso entre 12–16h ao abrigo da luz para a geração do cátion cromóforo ABTS<sup>•+</sup>. A solução do cátion ABTS<sup>•+</sup> foi diluída em etanol 80% até absorvância  $0,700 \pm 0,050$ , no comprimento de onda 734nm.

Em tubo de ensaio, 0,5mL dos extratos foi adicionada a 3,5mL de solução ABTS<sup>•+</sup> e a leitura da absorvância foi realizada após 6 minutos de reação, no comprimento de onda de 734nm. A quantificação da atividade antioxidante total foi realizada a partir de uma curva analítica de Trolox ( $0-0,15\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) nas mesmas condições das amostras, e os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  de Trolox por mL de amostra (TEAC – Capacidade antioxidante equivalente a Trolox).

## 7 CARACTERIZAÇÃO COLORIMÉTRICA DOS EXTRATOS DE ANTOCIANINAS DE CASCA DE JABUTICABA E POLPA DE AÇAÍ

A caracterização colorimétrica dos extratos foi determinada por colorimetria em Colorímetro Colorquest II spera (Hunter Lab, Reston, VA), com leitura direta dos

valores das coordenadas L\* (luminosidade), a\* (intensidade de vermelho vs verde) e b\* (intensidade de amarelo vs azul), conforme descrita no item 4.

## **8 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS CONCENTRADOS DE ANTOCIANINAS DE CASCAS DE JABUTICABA E POLPA DE AÇAÍ**

Os extratos obtidos nos itens 5.1 e 5.2 foram concentrados até eliminação total do solvente em evaporador rotativo (MA 120, Marconi) a 40 °C e em seguida em um sistema de agitação com injeção de ar à temperatura ambiente (27 °C). O armazenamento dos extratos concentrados foi feito em frascos âmbar, a temperatura de refrigeração (4 °C), até a utilização dos mesmos.

### **8.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO E QUÍMICA DOS EXTRATOS CONCENTRADOS DE ANTOCIANINAS**

Os extratos concentrados de antocianinas de cascas de jabuticaba e polpa de açaí foram caracterizados segundo as seguintes propriedades físico e químicas, assim citadas no item 3: pH, acidez titulável, sólidos solúveis totais (°Brix). Além disso, foi realizada a análise colorimétrica dos extratos obtidos (item 4), bem como uma quantificação dos compostos e atividade antioxidante, conforme descritas nos itens 5 e 6.

## **9 ELABORAÇÃO DAS BEBIDAS ISOTÔNICAS**

Para elaboração das bebidas isotônicas, foram realizados testes preliminares, em laboratório, com várias misturas de sais, extrato concentrado de cascas de jabuticaba e polpa de açaí (e mistura dos extratos, na proporção 1/1) e aromatizantes, de modo que fosse obtida uma bebida de concentração osmótica dentro dos padrões da legislação para bebidas para atletas (BRASIL, 2010).

Escolhidas as melhores mistura, com um teor de antocianina aproximado de  $9\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , foram desenvolvidas formulações “brancas” (isentas de corante) de bebidas isotônicas, cujos ingredientes foram: sacarose, monofostato de potássio, cloreto de sódio, sorbato de potássio como conservante, e aromatizante idêntico ao natural, no sabor morango com maracujá. Em seguida, os extratos concentrados anteriormente preparados de cascas de jabuticaba, polpa de açaí e a mistura deles foram adicionadas à formulação “branca” de maneira a se obter três formulações de bebidas isotônicas.

Para estabelecer um padrão de comparação de sabor, foi utilizada uma marca comercial, no mesmo sabor das demais (morango com maracujá). Este produto foi escolhido por ser líder de mercado nesta categoria, e adquiridos no mercado local.

## 9.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO E QUÍMICA DAS BEBIDAS ISOTÔNICAS

Foi realizada a caracterização física e química das bebidas isotônicas adicionadas de extrato concentrado de cascas de jabuticaba, polpa de açaí e mistura, conforme descritas nos itens 3, 4 e 5: pH, sólidos solúveis totais (°Brix), acidez titulável total (expressa em % de ácido cítrico), relação SST/ATT, fenólicos totais antocianinas totais e atividade antioxidante (ABTS). Além disso, foi medido as coordenadas colorimétricas das bebidas pela leitura das coordenadas L\* (luminosidade), a\* (vermelho a verde) e b\* (amarelo a azul), conforme descrito no item 4. A diferença global de cor ( $\Delta E^*$ ) entre a bebida isotônica comercial e as bebidas isotônicas formuladas a partir dos extratos foi obtida pela Equação 1.3.

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (\text{eq. 1.4})$$

### 9.1.1 Medida da osmolalidade

A fim de verificar se as amostras apresentavam característica de isotônico foi realizada a análise de osmolalidade.

Foi utilizado o método crioscópico para medir a osmolalidade das formulações de bebidas para a caracterização da bebida isotônica.

Foram tomadas cerca de 2,5 mL de amostras e feita a leitura do abaixamento de ponto de congelamento em um crioscópio marca ITR modelo MK540. Em seguida, os valores foram convertidos de °Hovert (°H) em escala Celsius (°C) multiplicando pelo fator 0,965. De posse dos valores de crioscopia em °C, foi utilizada a equação 1.4 para o cálculo da mOsmolalidade·kg<sup>-1</sup>.

$$mOsmol/Kg = \frac{\Delta T_c}{K_c} \times 1000 \quad (\text{Eq. 1.5})$$

em que:

$\Delta T_c$  = Abaixamento do ponto de congelamento

$K_c$  = Constante crioscopia da água (1,86 °C·Kg· mol<sup>-1</sup>)

## **9.2 ACEITABILIDADE DAS BEBIDAS ISOTÔNICAS**

A análise sensorial (tanto para impressão global quanto para cor) foi realizada com 113 consumidores de bebidas isotônicas, na academia Bio-forma, localizada na cidade de Viçosa, MG.

Para estas análises, foram utilizadas quatro formulações de bebidas isotônicas:

Formulação JAB: adicionada de extrato de cascas de jabuticaba;

Formulação ACA: adicionada de extrato de polpa de açaí;

Formulação MIS: adicionada da mistura dos extratos;

Formulação COM: bebida comercial.

### **9.2.1 Cor**

Os consumidores (n=113) foram solicitados a avaliar a sua aceitação em relação à cor das quatro amostras de bebidas isotônicas.

As amostras foram codificadas com números de três dígitos e apresentadas (à temperatura e luz ambiente) aos consumidores, em garrafas transparente de PET de 500mL com tampas de propileno, próprias para este tipo de bebidas. Optou-se por apresentar as bebidas nesta embalagem pelo fato de os consumidores desta bebida estarem familiarizados a comprá-los desta forma, o que favorece a avaliação da cor.

Os consumidores avaliaram as amostras de forma monádica, registrando o quanto gostaram ou desgostaram de cada amostra, utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos (Figura 1.2), sendo atribuído nota 9 para gostei extremamente e 1 para desgostei extremamente.

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: ( )M ( )F

Por favor, avalie as amostras utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou da COR do produto.

	Código	Nota
9 – Gostei extremamente	_____	_____
8 – Gostei muito	_____	_____
7 – Gostei moderadamente	_____	_____
6 – Gostei ligeiramente	_____	_____
5 – Indiferente	_____	_____
4 – Desgostei ligeiramente	_____	_____
3 – Desgostei moderadamente	_____	_____
2 – Desgostei muito	_____	_____
1 – Desgostei extremamente	_____	_____

Comentários: \_\_\_\_\_

**Figura 1.2** – Ficha de avaliação usada para o teste de cor.

### 9.2.2 Impressão Global

Os consumidores (n=113) foram também solicitados a avaliar a sua aceitação em relação à impressão global das quatro amostras de bebidas isotônicas.

Neste teste, as amostras foram codificadas com números de três dígitos e apresentadas de forma monádica aos consumidores, em garrafas transparente de PET de 500mL com tampas de propileno.

Os consumidores foram solicitados a degustar as bebidas, registrando o quanto gostaram ou desgostaram de cada amostra, utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos (Figura 1.3), sendo atribuído nota 9 para gostei extremamente e 1 para desgostei extremamente.



Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: ( )M ( )F

Por favor, avalie as amostras utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou do produto. Enxague a boca entre as amostras

9 – Gostei extremamente	Código	Nota
8 – Gostei muito		
7 – Gostei moderadamente	_____	_____
6 – Gostei ligeiramente		
5 – Indiferente		
4 – Desgostei ligeiramente	Comentários:	
3 – Desgostei moderadamente	_____	
2 – Desgostei muito	_____	
1 – Desgostei extremamente		

**Figura 1.3** – Ficha de avaliação usada para o teste de impressão global.

### III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 1 CARACTERIZAÇÃO DA CASCA DE JABUTICABA E POLPA DE AÇAÍ

##### 1.1 FÍSICO E QUÍMICA

A Tabela 1.1 indica os resultados obtidos para a caracterização física e química das cascas de jabuticaba e polpa de açaí.

**Tabela 1.1** – Caracterização da casca de jabuticaba e polpa de açaí.

Característica	Casca de jabuticaba**	Polpa de Açaí**
Água (%)	79,13 <sup>a</sup>	82,33 <sup>b</sup>
Sólidos solúveis totais (°Brix)	12,55 <sup>a</sup>	3,55 <sup>b</sup>
Acidez total titulável (g de ácido cítrico·100g <sup>-1</sup> – peso úmido)	1,53 <sup>a</sup>	0,20 <sup>b</sup>
pH	3,31 <sup>a</sup>	4,77 <sup>b</sup>
Relação Brix/acidez	8,25 <sup>a</sup> ±	17,52 <sup>b</sup>

\*\*Os valores representam a média de 3 repetições. Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

Pelo teor médio de água presente na casca de jabuticaba e polpa de açaí, pode-se perceber que ambas apresentam elevado conteúdo de água. Nascimento et al. (2008) caracterizaram polpas frescas de açaí comercial, proveniente da cidade de Belém/PA, encontrando elevados teores de água para a mesma (89,18%). Alexandre et al. (2004) encontraram valores de 86,01% de água na polpa de açaí adquirida do município de Toméaçu/PA.

Em estudos com jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) de duas variedades, Boari Lima et al. (2008) determinaram a composição centesimal de frações da polpa e casca, encontrando valores médios na casca de 75,84% para variedade Paulista e 84,24% para a variedade 'Sabará'. Guedes (2009) também avaliou o teor de umidade de 25 jabuticabeiras cv 'Sabará' provenientes de 5 sítios próximos ao município de Diamantina, obtendo valores médios para a casca que variaram entre 75,95% e 85,95%.

As determinações de pH, acidez e o teor de sólidos solúveis contribuem para a apreciação objetiva do sabor dos frutos, por isso a importância do estudo de caracterização físico-química dos mesmos.

Os teores de sólidos solúveis totais (SST) em frutos são importantes tanto para o consumo "in natura" como para a indústria (BRUNINI et al., 2004) pois são utilizados como uma determinação aproximada do teor de açúcares e, muitas vezes, como índice de maturação (CHITARRA e CHITARRA, 2005). Segundo Menezes et al. (2001), o conteúdo médio superior a 9,00% é bastante desejável do ponto de vista comercial. Entretanto, um alto conteúdo de sólidos solúveis totais pode sugerir um menor potencial de conservação pós-colheita para as jabuticabas, uma vez que excesso de açúcares na fruta pode estar associado a uma rápida deterioração e fermentação e, por consequência, redução na vida útil.

Neste estudo, foi encontrado um teor de sólidos solúvel de 12,55°Brix para a casca de jabuticaba. Este valor se aproxima daquele encontrado por Boari Lima et al. (2008), que encontraram 11,60°Brix para a casca de frutos de jabuticabeira 'Sabará'. Guedes (2009), ao avaliar as características físico-químicas de frutos provenientes de 25 Jabuticabeiras, encontrou valores de SST que variaram entre 11,16°Brix a 15,60°Brix.

Em um estudo acerca das características físico-químicas de jabuticaba 'Sabará' provenientes de diferentes regiões do estado de São Paulo, Oliveira et al.

(2003) encontraram valores que variaram entre 11,5 a 17,9 °Brix, concordantes com os valores encontrados por Pereira et al. (2000) para a variedade 'Sabará' (14,0 °Brix ).

A polpa de açaí apresentou teor de sólidos solúveis bem menor que as cascas de jabuticaba, de 3,55°Brix. Resultados similares foram relatados por Alexandre et al. (2004), que encontraram valor de 3,2°Brix para polpa congelada adquirida da cidade de Tomé-Açu (PA) e por Nascimento et al. (2008), que encontraram valor médio de 2,7 °Brix para polpa fresca adquirida na cidade de Belém – PA. Santos et al. (2008) observaram valores de SST que variava de 2,4°Brix a 42°Brix.

Os valores encontrados para a acidez da casca de jabuticaba corroboram os resultados obtidos em diversos trabalhos como os de Boari Lima et al. (2008) (1,67% de ácido cítrico na casca); Guedes (2009) (valor médio de 1,90% de ácido cítrico na casca); Oliveira et al. (2003) (0,888% a 1,65% de ácido cítrico de casca). Entretanto, observa-se que os valores aqui encontrados são elevados quando comparados aos resultados obtidos por Pereira et al. (2000), de 0,45g de ácido cítrico por 100g de polpa, para a mesma variedade.

O valor médio para o pH da casca de jabuticaba (3,31) foi estatisticamente menor que o da polpa de açaí (4,77). Valores próximos para cascas de jabuticaba foram encontrados por Oliveira et al. (2003) (2,91 a 3,72), Guedes (2009) (3,05 a 3,76) e Boari Lima et al. (2008) (3,39).

Segundo a legislação vigente para padrões de identidade e qualidade para comercialização de polpa de açaí no mercado brasileiro interno, a acidez titulável (ATT) deve estar em torno 0,27% a 0,45% de ácido cítrico e o pH em torno de 4,0 a 6,20 (BRASIL, 2000). Os valores médios de ATT e pH para a polpa de açaí encontrados neste estudo foi de 0,20 (expressos em % de ácido cítrico) e 4,77%, respectivamente, valores estes próximos aos de referência. Nascimento et al. (2008) relataram um valor de ATT de 0,19% de ácido cítrico e pH de 5,0, enquanto Alexandre et al. (2004) reportaram valor de 0,31% (expresso em ácido cítrico) para ATT e pH de 5,2.

Santos et al. (2008) caracterizaram polpas de açaí, encontrando valores de ATT variando de 0,20 a 0,94 % de ácido cítrico, e pH de 3,55 a 4,89. A análise de

variância demonstrou diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre as polpas de açaí integrais para todos os parâmetros físico-químicos avaliados.

Essas características podem ser muito interessantes na utilização da casca de jabuticaba e polpa de açaí para formulação de bebidas, uma vez que elas contribuirão para elevar o nível de acidez na bebida com consequência direta na conservação do produto, que poderá ter o conteúdo de conservantes reduzido ou até mesmo eliminado. Além disso, como fontes de antocianinas, é importante que o pH da fruta “in natura” e da polpa seja menor que três uma vez que o cátion flavílium é mais estável neste meio, havendo portanto uma maior retenção dos compostos bioativos.

A relação sólidos solúveis totais e acidez total titulável (SST/ATT) é considerada um critério de avaliação do sabor em frutos (CHITARRA e CHITARRA, 2005), sendo mais representativa que a medição isolada de açúcares ou da acidez. Alguns autores (CZELUSNIAK et al., 2003; NOGUEIRA, 2003) consideram um valor limite de 20, sendo as amostras com valores inferiores de maior interesse do ponto de vista industrial, pois apresentam elevado teor de acidez.

A casca de jabuticaba apresentou um valor de 8,25 para esta relação, valor similar ao encontrado por Guedes (2009), com média de 7,24 para as diferentes jabuticabeiras. Oliveira et al. (2003) observaram valores que variaram entre de 7,43 em frutos provenientes de Guaíra-SP, a 18,98, provenientes de Ituverava-SP. Eles concluíram que as jabuticabas que apresentaram os maiores valores, poderiam ser consideradas como ideal para consumo como fruta fresca, por apresentam maior conteúdo de açúcares.

Já para a polpa de açaí, esta relação SS/AT foi mais alta (17,52), pois, apesar do baixo conteúdo de sólidos solúveis na polpa, a acidez desta é muito baixa. Isto é desejável para consumo imediato de polpa, como têm-se observado nos comércios locais.

## **1.2 ANÁLISE COLORIMÉTRICA**

Na Tabela 1.2 encontram-se os resultados das coordenadas de cor da casca de jabuticaba e polpa de açaí.

**Tabela 1.2** – Valores médios das coordenadas de cor da casca de jabuticaba e polpa de açaí.

<b>COORDENADAS DE COR</b>	<b>CASCA DE JABUTICABA**</b>	<b>POLPA DE AÇAÍ**</b>
L* – luminosidade	27,63 <sup>a</sup>	25,46 <sup>b</sup>
a* – vermelho vs verde	11,00 <sup>a</sup>	1,02 <sup>b</sup>
b* – amarelo vs azul	2,66 <sup>a</sup>	-0,29 <sup>b</sup>
h* – ângulo de tonalidade (graus)	6,58 <sup>a</sup>	-8,02 <sup>b</sup>
C* – saturação de cor (chroma)	11,32 <sup>a</sup>	1,06 <sup>b</sup>

\*\*Os valores representam a média de 3 repetições. Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

Mesmo apresentando variações significativas ( $p < 0,05$ ), tanto a casca de jabuticaba quanto à polpa de açaí apresentou pequenos valores da coordenada L\*, de 27,63 e 25,46, respectivamente, indicando que as amostras eram escuras.

Em relação à coordenada a\*, apesar de apresentarem diferenças significativas ( $p < 0,05$ ), tanto a casca de jabuticaba quanto a polpa de açaí apresentaram valores positivos (11,00 e 1,02), indicando tonalidades que tendem ao vermelho. Já para a coordenada b\*, a casca apresentou valor positivo (2,66), indicando uma tendência para o amarelo, enquanto a polpa de açaí tendeu ao azul (indicado pelo valor negativo de b\*, de -0,29). Visualmente, a polpa de açaí apresentava coloração roxeada. Já a casca de jabuticaba apresentava uma coloração arroxeada quase preta, com resíduos de uma polpa esbranquiçada (BOARI LIMA et al., 2008), o que deve ter contribuído para o aumento de b\*, evidenciando uma coloração mais amarelada.

Para saturação (C\*), que representa a intensidade da tonalidade, os valores situaram-se ao redor de 11,32 para a casca de jabuticaba, indicando uma cor mais saturada e pura em relação ao branco, com intensidade de tonalidade para o vermelho. Já a polpa de açaí apresentou um menor valor de C\* (1,06) indicando intensidade de tonalidade para o azul, porém menos intensa.

Os valores de h\* (tonalidade da cor) obtidos para a casca de jabuticaba e polpa de açaí foram de 6,58 e -8,28 graus, respectivamente, indicando que o menor ângulo para ambas amostras representa a maior intensidade de tonalidades de vermelho.

Em um estudo com polpa de mirtilo, Rocha (2009) encontrou valores de  $a^*$  de 2,23, tendendo para o vermelho, enquanto que para a coordenada  $b^*$ , o valor foi de -0,54, tendendo para o azul. Esta mesma autora encontrou valor de  $L^*$ ,  $h^*$  e  $C^*$  de 24,55, -0,24 e 2,29, respectivamente, valores estes similares aos encontrados neste estudo para polpa de açaí.

Lee (2002), ao estudar o perfil cromatográfico em sete variedades de laranja de polpa vermelha, observou uma correlação entre o ângulo  $h^*$  e o teor de antocianinas ( $r = -0,927$ ). Estes resultados também foram encontrados por Lima et al. (2007), ao evidenciar correlações estatisticamente significativas para  $h^*$  ( $r = -0,85$ ) e para  $L^*$  ( $r = -0,86$ ) e  $a^*$  ( $r = 0,71$ ). Estes autores concluíram que os dados referentes ao  $h^*$  demonstram que o aumento do teor desses pigmentos indica uma cor mais vermelha, pois quanto menor for o ângulo  $h^*$ , isto é, mais próxima ao eixo  $a^*$ , mais vermelha será a fruta.

### 1.3 COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os resultados dos teores de fenólicos totais, antocianinas totais e atividade antioxidantes da casca de jabuticaba e polpa de açaí estão apresentados na Tabela 1.3.

**Tabela 1.3** – Valores médios dos teores de fenólicos totais, antocianinas totais e atividade antioxidante da casca de jabuticaba e polpa de açaí.

Análises	Casca de jabuticaba**	Polpa de Açaí**
Fenólicos Totais ( $\text{mg AGE} \cdot 100\text{g}^{-1} - \text{bu}$ )	455,72 <sup>a</sup>	576,0 <sup>b</sup>
Antocianinas ( $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1} - \text{bu}$ )	65,28 <sup>a</sup>	58,33 <sup>a</sup>
Atividade Antioxidante ( $\mu\text{M Trolox} \cdot \text{g}^{-1}$ )	12,34 <sup>a</sup>	11,71 <sup>a</sup>

bu = base úmida (base fresca). AGE = ácido gálico equivalente. \*\*Os valores representam a média de 3 repetições. Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

O conteúdo de fenólicos totais nas cascas de jabuticabas frescas (79,13% bu) foi de  $455,72\text{mg AGE} \cdot 100\text{g}^{-1}$ , corroborando os resultados encontrados por Silva (2011), que encontrou teores variando entre  $285,67\text{mg AGE} \cdot 100\text{g}^{-1}$  a  $435,38\text{mg AGE} \cdot 100\text{g}^{-1}$ , para a casca, quando extraído com o mesmo solvente utilizado neste estudo (etanol 70%). Hamm et al. (2009), ao avaliar o teor de fenólicos em três frutas nativas, jabuticaba, jambolão e araçá-vermelho, encontraram teores de  $499,10\text{mg AGE} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ;  $455,72\text{mg AGE} \cdot 100\text{g}^{-1}$  e  $608,73\text{mg AGE} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ,

respectivamente. Boari Lima (2008), ao estudar as variedades de jabuticaba 'Paulista' e 'Sabará', encontrou valores de 450mg AGE·100 g<sup>-1</sup> e 490mg·100g<sup>-1</sup> de fenólicos totais, valores semelhantes aos encontrados neste estudo.

A polpa de açaí apresentou conteúdo de fenólicos totais superior à casca de jabuticaba (p<0,05). Valores inferiores foram observados por Cruz (2008), de 343,7 mg AGE·100 g<sup>-1</sup> e Santos et al. (2008), de 232 mg de ác. tânico/100g de polpa.

Kuskoski et al. (2006) avaliaram teores de fenólicos em frutas e polpas, observando que o Bagaçu extraído em etanol apresentou maior conteúdo de fenólicos, de 897,6 mg AGE·100 g<sup>-1</sup>. Das polpas analisadas, a polpa de maracujá apresentou o menor teor de fenólicos (20,0 6 mg AGE·100 g<sup>-1</sup>), seguida de cupuaçu (20,5 mg AGE·100 g<sup>-1</sup>) e abacaxi (21,7 mg AGE·100 g<sup>-1</sup>). As polpas que apresentaram maior teor foram as de acerola (580,1 mg AGE·100 g<sup>-1</sup>), açaí (132,8 mg AGE·100 g<sup>-1</sup>) e amora (118,9 mg AGE·100 g<sup>-1</sup>).

Em um estudo de identificação e quantificação de compostos fenólicos, antocianinas e outros flavonóides em cinco cultivares de uvas cultivadas em Minas Gerais, Abe et al. (2007) encontraram teores de fenólicos que variava entre 65mg AGE·100g<sup>-1</sup> (Moscato Embrapa) a 391mg AGE·100g<sup>-1</sup> (Folha de figo 420A). Kuskoski et al. (2006) também determinaram o teor de fenóis totais em polpa de jambolão e encontrou 194mg AGE·100g<sup>-1</sup> de matéria fresca, valores esse bem inferiores ao encontrado nesse estudo, evidenciando que as matérias-primas aqui estudadas (jabuticaba e açaí) apresentaram elevado teor quando comparadas a outras frutas .

O teor de antocianinas encontrados para casca de jabuticaba foi de 65,28mg·100g<sup>-1</sup> (base fresca), estatisticamente igual (p < 0,05) ao da polpa de açaí, de 58,33mg·100g<sup>-1</sup> (base fresca). Teores superiores foram reportados por Silva et al. (2011), no qual o conteúdo de antocianinas totais nas cascas frescas variou entre 111,01mg·100g<sup>-1</sup> e 239,27mg·100g<sup>-1</sup> de casca de jabuticaba, e Teixeira et al. (2008), que encontraram valor de 492,74mg·100g<sup>-1</sup> para cascas frescas. Isso pode ser explicado em razão das diferentes condições de extração envolvidas, como solvente extrator, pH, tempo de extração e relação casca: solvente, uma vez que as mesmas cascas foram utilizadas.

Os teores de antocianinas totais aqui encontrados para as cascas de jabuticaba foram maiores que o descrito por Teixeira et al. (2008) para polpa de açaí

(21,23mg·100 g<sup>-1</sup>), morango (21,69mg·100g<sup>-1</sup>), repolho roxo (24,36mg·100 g<sup>-1</sup>) e berinjela (64,06mg·100g<sup>-1</sup>), que são reconhecidos como alimentos ricos nesse corante. Kuskoski et al. (2006) também relataram valores de antocianinas inferiores para polpa de uva (30,9mg·100g<sup>-1</sup>), que é empregada como fonte comercial desse pigmento. Em estudo com mirtilo, Rocha (2009) encontrou teores de antocianinas de 58,95 cianidina-3-glicosídeo·100g<sup>-1</sup>.

Cavalcanti et al. (2010) relataram teores de antocianinas totais de 3,16mg·100g<sup>-1</sup>; 13,52mg·100g<sup>-1</sup>; 18,45mg·100g<sup>-1</sup> para polpa de morango, uva e açaí, respectivamente. Os valores aqui obtidos para polpa de açaí também foram superiores aos quantificados por Kuskoski et al. (2006), que encontraram teores de 22,8mg·100g<sup>-1</sup> em polpas de açaí congelada. Cruz (2008) relatou teor na polpa de açaí de 80,4mg de cianidina 3-glucosídeo·100g<sup>-1</sup> de polpa, sendo este teor próximo ao obtido por Menezes (2005), de 78,8mg·100g<sup>-1</sup> em açaí grosso, e ainda maior que o teor encontrado por Kuskoski et al. (2006) para a polpa de uva (30,9 mg·100g<sup>-1</sup>) e amora (41,8mg·100g<sup>-1</sup>), indicando o açaí como uma boa fonte destes pigmentos.

Santos et al. (2008), ao analisar 12 polpas de açaí comercializadas na cidade de Fortaleza – CE, encontraram teores de antocianinas que variaram de 13,93 a 54,18 mg·100g<sup>-1</sup> do produto, resultados que apresentaram diferenças significativas entre as marcas avaliadas. Por outro lado, Teixeira et al. (2008) quantificaram teores de antocianinas equivalentes a 21,23mg·100g<sup>-1</sup> do produto, pelo método pH<sub>único</sub> e 19,62 mg·100g<sup>-1</sup>, pelo método pH<sub>Diferencial</sub>. As diferenças de teores de antocianinas encontrados em polpas ocorrem devido á grande instabilidade das antocianinas que podem se degradar durante a extração do vegetal, processamento e estocagem. Além disso, elas são influenciadas por vários fatores, dentre eles: pH, temperatura, enzimas, ácido ascórbico, oxigênio, dióxido de enxofre e íons metálicos.

De acordo com a tabela 1.3, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) para a atividade antioxidante entre a casca de jabuticaba e a polpa de açaí, sendo que a primeira apresentou atividade de 12,34 $\mu$ mol·L Trolox·g<sup>-1</sup> casca, e a segunda, 11,71 $\mu$ mol·L Trolox·g<sup>-1</sup> de polpa. Valores otimizados de atividade antioxidante (1360,8 $\mu$ mol·L Trolox·g<sup>-1</sup>), determinados pelo ensaio do cátion radical ABTS, foram reportados por Silva (2011), o que pode ser atribuído ao maior teor de fenólicos totais ou individuais extraídos da casca em razão da otimização das condições de extração. A atividade antioxidante da casca de jabuticaba foi também maior do que



os relatados por Kuskoski et al. (2005), que trabalharam com diferentes polpas de frutas relatadas como fontes de antocianinas, como açaí ( $9,4\mu\text{mol}\cdot\text{L Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$ ), uva ( $9,2\mu\text{mol}\cdot\text{L Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$ ), amora ( $7,1\mu\text{mol}\cdot\text{L Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$ ), sendo inferior apenas para polpa de acerola ( $67,6\mu\text{mol}\cdot\text{L Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$ ) e manga ( $13,2\mu\text{mol}\cdot\text{L Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Santos et al. (2008) encontraram valores de  $\text{TEAC}_{\text{ABTS}}$  para polpas de açaí que variaram entre  $10,21\mu\text{mol}\cdot\text{L Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$  a  $52,47\mu\text{mol}\cdot\text{L Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$ , corroborando os resultados aqui obtidos.

Vários estudos têm demonstrado que compostos fenólicos não antociânicos contribuem mais para a atividade antioxidante dos extratos de cascas de jabuticaba que antocianinas (HEIM et al., 2002; SUN et al., 2002). É reportado que a jabuticaba contém, além de antocianinas (cianidina-3-glicosídeo, delphinidina-3-glicosídeo e peonidina-3-glicosídeo) (KENNELLY et al., 2008; KENNELLY et al., 2006; KENNELLY et al., 2004), outros compostos não antociânicos como quercetina, isoquercetina, quercimeritrina, quercitrina, rutina, miricitrina, miricetina, ácido cinâmico, ácido O-cumárico, ácido gálico, ácido protocatecúico, metil protocatecuato, ácido elágico e taninos (KENNELLY et al., 2008; KENNELLY et al., 2006) os quais possuem considerável atividade antioxidante.

Kuskoski et al. (2006) observaram a influência dos compostos fitoquímicos na atividade antioxidante e, principalmente, a dos pigmentos antociânicos. As polpas de frutas analisadas que não os continham, como o abacaxi, a graviola, o cupuaçu e o maracujá, apresentaram valores menores de atividade antioxidante. Ainda, as frutas analisadas neste experimento demonstram correlação direta ( $p < 0,05$ ) entre o conteúdo total de compostos fenólicos e a atividade antioxidante.

Contudo, para se estabelecer uma relação direta de cada grupo ou composto fenólico, se faz necessário uma investigação de todos os compostos fenólicos presentes na matéria-prima, afim de se designar o percentual de importância dos mesmos para a atividade antioxidante.

## **2 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS CONCENTRADOS DE CASCA DE JABUTICABA E POLPA DE AÇAÍ**

### **2.1 FÍSICAS E QUÍMICAS**

Os resultados para as análises físicas e químicas dos extratos concentrados obtidos da casca de Jabuticaba e polpa de açaí estão apresentados na Tabela 1.4.

**Tabela 1.4** – Valores médios de pH, acidez titulável (expresso em % de ácido cítrico) e Sólidos Solúveis Totais (em °Brix) para os extratos concentrados obtidos da casca de Jabuticaba e polpa de açaí.

<b>Análises</b>	<b>Extrato de casca de Jabuticaba**</b>	<b>Extrato de polpa de Açaí**</b>
pH	1,86 <sup>a</sup>	2,19 <sup>b</sup>
Acidez titulável total (g de ácido cítrico·100g <sup>-1</sup> )	23,63 <sup>a</sup>	13,93 <sup>b</sup>
Sólidos solúveis totais (°Brix)	14,1 <sup>a</sup>	12,95 <sup>b</sup>

\*\*Os valores representam a média de 3 repetições. Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

O pH do extrato da casca de Jabuticaba foi menor (1,86) que o do extrato de polpa de açaí 2,19 ( $p < 0,05$ ). Este é um parâmetro importante na determinação do potencial de crescimento de microorganismos capazes de provocar deterioração e as bactérias patogênicas. Embora baixo, o pH dos extratos ainda possibilitaria o crescimento de algumas leveduras e fungos filamentosos tolerantes aos ácidos (SOUSA et al., 2007).

Os valores de pH bem como acidez titulável do extrato foram relevantes nos testes preliminares das bebidas isotônicas, uma vez que pequena quantidade desses extratos adicionados à formulação “branca” já contribuiu reduzir acidez no produto final, e conseqüentemente, para a conservação dos mesmos. Além disso, como fontes de antocianinas, é importante que o pH do extrato seja menor que 3 uma vez que o cátion flavílium é mais estável neste meio, havendo portanto uma maior retenção dos compostos bioativos.

Teixeira (2011) caracterizou extratos antiociânicos de Jabuticabas da variedade ‘sabará’ colhidas em março de 2010, encontrando valores de pH que variaram entre 3,14 para extrato processado mecanicamente por 15 segundos e 3,79, para suco comercial não pronto para beber. Ao caracterizar extrato de mirtilo variedade “Bluegem”, Rocha (2009) também encontrou um pH maior para seu extrato, de 3,27. Vale a pena ressaltar que em ambos estudos, os autores não evaporaram os solventes dos extratos, visto que a evaporação leva a uma concentração dos ácido orgânicos (menores valores de ATT), com conseqüente diminuição no pH final dos extratos.

Já o teor de sólidos solúveis do extrato da casca de jabuticaba foi bem mais elevado (14,10°Brix) que o do extrato de polpa de açaí (12,95°Brix) ( $p < 0,05$ ). Teixeira (2011) encontrou valores menores para seus extratos, de 9,8 °Brix para extrato processado mecanicamente por 15 segundos e 10,3°Brix, para extrato processado mecanicamente por 45 segundos. Para o extrato de Mirtilo, Rocha (2009) encontrou valor de 11,7°Brix.

É importante destacar que os resultados dos parâmetros físico-químicos obtidos experimentalmente neste estudo para os extratos concentrados de cascas de jabuticaba e polpa de açaí foram semelhantes aos da casca “in natura” e polpa, demonstrando que estes mantêm as características das frutas que os originara. Poucos trabalhos foram encontrados na literatura acerca de caracterizações físico-químicas de extratos de antocianinas concentrados de casca de Jabuticaba e polpa de açaí, motivando a pesquisa sobre os mesmos.

## 2.2 ANÁLISE COLORIMÉTRICA

A Tabela 1.5 apresenta os resultados das coordenadas de cor dos extratos concentrados de casca de Jabuticaba e polpa de açaí.

**Tabela 1.5** – Valores médios das coordenadas de cor dos extratos concentrados de casca de Jabuticaba e polpa de açaí.

COORDENADAS COLORIMÉTRICAS	CASCA DE JABUTICABA**	POLPA DE AÇAÍ**
L* – luminosidade	25,35 <sup>a</sup>	26,85 <sup>b</sup>
a* – vermelho vs verde	1,43 <sup>a</sup>	2,63 <sup>b</sup>
b* – amarelo vs azul	- 0,22 <sup>a</sup>	-0,12 <sup>b</sup>
h* – ângulo de tonalidade (graus)	- 50,13 <sup>a</sup>	-17,47 <sup>b</sup>
C* – saturação de cor (chroma)	1,45 <sup>a</sup>	2,63 <sup>b</sup>

\*\*Os valores representam a média de 3 repetições. Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

Ambos extratos apresentaram baixos valores de L\* (25,35 e 26,85 para extrato de cascas de jabuticaba e polpa de açaí, respectivamente), indicando que eram escuros (opacos). Vale lembrar que a coordenada L\* representa amostras com maior ou menor claridade, com valores variando de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branca).

Em relação à coordenada  $a^*$ , tanto o extrato de cascas de jabuticaba quanto o de polpa de açaí obtiveram baixos valores (1,43 e 2,63, respectivamente), indicando que estas tendiam ao vermelho (valores positivos de  $a^*$ ). Para a coordenada  $b^*$ , ambos extratos apresentaram valores negativos em relação a este parâmetro (-0,22 e -0,12, respectivamente), indicando uma tendência ao azul. Visualmente, ambos extratos apresentavam tonalidades de cores roxo escuro.

Os valores de  $h^*$ , que representam a tonalidade da cor, obtidos para os extratos de cascas de jabuticaba e polpa de açaí foram de -50,13 e -17,47 graus, respectivamente, indicando que um ângulo pequeno negativo representa a faixa de cor entre vermelho e azul (roxo). Para saturação, que representa a intensidade da tonalidade, os pequenos valores obtidos (1,45 e 2,63 para o extrato de cascas de jabuticaba e de polpa de açaí, respectivamente) indicam cores menos saturadas e puras em relação ao branco.

Ao estudar as coordenadas de cor de extrato de mirtilo da variedade “Bluegem”, Rocha (2009) verificou valores de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $c^*$  e  $h^*$  de 24,18, 0,36, -1,04, 1,10 e -0,24, respectivamente, concluindo que esta variedade de mirtilo estudada apresentava coloração roxeada escura, corroborando os resultados encontrados neste estudo.

### 2.3 COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A Tabela 1.6 revela os teores de antocianinas totais, fenólicos totais e atividade antioxidante (ABTS) dos extratos concentrados de casca de Jabuticaba e polpa de açaí.

**Tabela 1.6**– Valore médios dos teores de fenólicos totais, antocianinas totais e atividade antioxidante dos extratos concentrados de casca de Jabuticaba e polpa de açaí.

PROPRIEDADES BIOATIVAS	CASCA DE JABUTICABA**	POLPA DE AÇAÍ**
Fenólicos Totais (mg AGE·100g <sup>-1</sup> - bu)	216,99 <sup>a</sup>	310,39 <sup>a</sup>
Antocianinas totais (mg ·100g <sup>-1</sup> - bu)	80,17 <sup>a</sup>	74,38 <sup>a</sup>
Atividade Antioxidante (µM Trolox.g <sup>-1</sup> )	57,39 <sup>a</sup>	40,02 <sup>b</sup>

bu = base úmida (base fresca). AGE = ácido gálico equivalente. \*\*Os valores representam a média de 3 repetições. Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

Não houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade para os teores de fenólicos encontrados nos extratos concentrados, sendo eles 216,99mg AGE·100g<sup>-1</sup> e 310,39 mg AGE·100g<sup>-1</sup> para extrato de casca de Jabuticaba e polpa de açaí, respectivamente. Silva et al. (2010) avaliaram o teor de compostos fenólicos em extratos de cascas de jabuticaba encontrando valores de 636,23 mg AGE·100g<sup>-1</sup> de casca. Rosso (2006) encontrou valores de 3782,6 mg AGE·100g<sup>-1</sup> para extrato bruto de polpa de açaí enquanto Rocha (2009) obteve um teor de Fenólicos de 2007 mg AGE·100g<sup>-1</sup> de polpa ao estudar as propriedades bioativas de mirtilo.

Vedana et al. (2008) avaliaram diferentes formas para obtenção de extração de cascas de uva, modificando-se solventes, temperatura e métodos de extração (com ou sem trituração). Esta autora observou que os valores mais elevados de compostos fenólicos totais foram das amostras que passaram pelo processo de trituração (extratos hidroalcoólicos), de 403,17mg AGE·100g<sup>-1</sup> de casca, quando comparados ao extrato aquoso, de 235,16mg AGE·100g<sup>-1</sup>. Ainda neste estudo, foram observadas diferenças significativas (p<0,05) nos teores de fenólicos quando extraídos a quente, de 559,77mg AGE·100g<sup>-1</sup>, evidenciando o efeito da temperatura nos teores de fenólicos totais extraídos.

Os teores de antocianinas totais encontrados para os extratos concentrados de casca de jabuticaba neste estudo, de 80,17mg·100g<sup>-1</sup> de casca foi estatisticamente igual ao do extrato de polpa de açaí, ao nível de 5% de probabilidade. Silva et al. (2010) encontraram teor de 48,06mg·100g<sup>-1</sup> de casca, valor este menor que o encontrado neste estudo para a mesma fruta.

O extrato de antocianina concentrado de polpa de açaí apresentou teor de 74,38mg de antocianinas por 100g. Rocha (2009) encontrou valor de 1182mg de cianidina-3-glicosídeo por 100g de polpa de mirtilo. Vedana et al. (2008) observaram que as antocianinas de uva eram melhor extraídas a frio, usando como solvente o etanol (12,98mg·100g<sup>-1</sup>), quando comparadas à extração à quente (4,90mg·100g<sup>-1</sup>), uma vez que estas rapidamente degradam na presença de calor (MALACRIDA e MOTA, 2006). Além disso, foi observado que o extrato aquoso sem trituração proporcionava maiores extração desses compostos (34,82mg·100g<sup>-1</sup>). Kuskoski et al. (2005) também observaram maiores teores de antocianinas em extrato aquoso de uva (34,82mg·100g<sup>-1</sup>) para polpa de uva.

Embora tenham apresentado diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em relação à atividade antioxidante, os valores encontrados neste estudo para os extratos concentrados de casca de jabuticaba e polpa de açaí foram elevados quando comparada a estudos com extrato hidroalcoólico de uva, de  $3,412 \mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$  utilizando a metodologia ABTS e  $6,1 \mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$ , pelo método de DPPH (VEDANA et al., 2008). Silva et al. (2010) encontraram maiores valores de atividade antioxidante, de  $723 \mu\text{M}$  de  $\text{Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$  para extrato hidroalcoólico de cascas de jabuticaba, enfatizando o poder bioativo desta fruta.

O que se tem observado em trabalhos publicados na área é uma falta de concordância nos valores encontrados para atividade antioxidante de extratos devido à falta de padronização de tais resultados, sendo encontrados resultados em  $\mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$  ou  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$ , dificultando a comparação entre as análises.

A casca de jabuticaba e a polpa de açaí analisadas neste experimento demonstraram correlação positiva entre o conteúdo de antocianinas totais e a atividade antioxidante, conforme determinado pelo coeficiente de correlação de Pearson ( $r = 0,99$ ,  $p < 0,05$ ). Isto pode ser explicado pelo fato de que antocianinas são compostos que apresentam atividade antioxidante, ou seja, quanto maior o conteúdo desses compostos nas amostras, maior será a atividade antioxidante observada. Kuskoski et al. (2006) também observaram correlação positiva entre antocianinas e atividade antioxidante ( $r = 0.96$ ), ao quantificar diversas polpas congeladas e comercializadas no sul do Brasil. Estes autores ainda observaram uma correlação direta entre os compostos fenólicos e atividade antioxidante, o que não foi observado neste estudo para os extratos concentrados de casca de jabuticaba e polpa de açaí ( $r = 0,98$ ).

De um modo geral, a correlação entre fenóis totais e atividade antioxidante relatada na literatura é contraditória. Enquanto alguns autores observaram uma correlação positiva (BENVENUTI et al., 2004; JIMENEZ et al., 2000), outros observaram correlação negativa entre os mesmos parâmetros (WU et al., 2004; IMEH et al., 2002). Estudos indicam que a correlação entre fenóis totais e a capacidade antioxidante pode depender do método escolhido e também das características hidrofóbicas ou hidrofílicas do sistema teste e dos antioxidantes testados (ROESLER et al., 2007).

### 3 CARACTERIZAÇÃO DAS BEBIDAS ISOTÔNICAS

#### 3.1 FÍSICO-QUÍMICA

Os resultados das análises de pH, sólidos solúveis totais, acidez titulável total, Ratio e valor de osmolalidade estão representados na Tabela 1.7. Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as formulações para todas as variáveis físico-químicas.

**Tabela 1.7** – Caracterização física e química das bebidas isotônicas formuladas com extrato de casca de jabuticaba (JAB), extrato de polpa de açaí (ACA), mistura dos extratos (MIS) e a amostra comercial (COM).

Análises	JAB**	ACA**	MIS**	COM**
Sólidos solúveis totais (°Brix)	7,91 <sup>a</sup>	7,80 <sup>a</sup>	7,90 <sup>a</sup>	6,50 <sup>b</sup>
Acidez total titulável (%)	0,30 <sup>a</sup>	0,14 <sup>c</sup>	0,23 <sup>b</sup>	0,30 <sup>a</sup>
pH	2,97 <sup>b</sup>	3,35 <sup>a</sup>	2,98 <sup>b</sup>	3,06 <sup>b</sup>
Brix/acidez	25,17 <sup>c</sup>	52,75 <sup>a</sup>	33,31 <sup>b</sup>	21,67 <sup>d</sup>
Osmolalidade (mOsm·Kg <sup>-1</sup> )	294,42 <sup>b</sup>	285,95 <sup>c</sup>	300,74 <sup>b,c</sup>	359,19 <sup>a</sup>

\*\*Os valores representam a média de 3 repetições. Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. JAB - bebida formulada com extrato de casca de jabuticaba; ACA - bebida formulada com extrato de polpa de açaí; MIS - bebida formulada com mistura de extratos de casca de jabuticaba e polpa de açaí; COM - bebida comercial.

Observou-se que teor de sólidos solúveis totais foi maior para as formulações de bebidas desenvolvidas com os extratos de antocianinas de cascas de jabuticaba, polpa de açaí, e a mistura deles. Isto já era esperado uma vez que os extratos contribuem para o aumento na quantidade de açúcares totais, já que são constituídos por glucose e frutose. Além disso, os valores aqui encontrados são coerentes com o proposto pela legislação para bebidas para atletas, que permitem um teor máximo de 8% ( $m \cdot v^{-1}$ ) (BRASIL, 2010).

Os valores obtidos para acidez titulável variaram entre 0,14% e 0,30% de ácido cítrico, para a bebida comercial e formuladas com extrato de cascas de jabuticaba e açaí, respectivamente. Já o pH das bebidas variou entre 2,97 (bebida com extrato de casca de jabuticaba) e 3,35 (bebida com extrato de açaí). Segundo Petrus et al. (2005), isotônicos são bebidas não carbonatadas de elevada acidez. A elevada acidez atrelada a um baixo pH são fatores importantes de conservação da

bebida, considerados obstáculos atuantes na garantia da segurança microbiológica deste produto. Entretanto, o que deve ser observado é que uma elevada acidez pode causar rejeição no produto, caso a quantidade adicionada desses extratos acidificados (Tabela 1.7), for alta. Por isso a importância de se avaliar a relação Brix/acidez (Ratio) das amostras, uma vez que também leva em consideração os teores de açúcares, afetando diretamente na avaliação sensorial dos produtos.

A relação Brix/acidez (Ratio) foi maior para a bebida formulada a partir do extrato de polpa de açaí, de 52,75. Isto ocorreu devido ao elevado teor de SST associado à baixa acidez desta formulação, levando a uma relação SST/Acidez bastante superior as demais bebidas. A amostra comercial apresentou o menor valor para este parâmetro, de 21,67.

Os valor osmótico das bebidas variou entre  $285,95\text{mOsm}\cdot\text{Kg}^{-1}$ , para a bebida com extrato de açaí, e  $359,19\text{mOsm}\cdot\text{Kg}^{-1}$  para a bebida comercial. São consideradas bebidas isotônicas aquelas cuja osmolalidade estão dentro da faixa de valor osmótico do plasma sanguíneo humano, que varia de  $0,285\text{mOsm}\cdot\text{Kg}^{-1}$  a  $0,295\text{mOsmolal}$ , sendo que são considerados valores de até  $330\text{mOsm}\cdot\text{Kg}^{-1}$  para as bebidas (BRASIL, 2010). A análise da bebida comercial mostra que esta não se enquadrava dentro dos padrões exigidos pela legislação para bebidas isotônicas, sendo classificada, portanto, como uma bebida hipertônica, cuja função não é hidratar.

Petrus et al. (2005) elaboraram uma bebida isotônica com aroma de laranja e avaliaram os parâmetros físicos e químicos da mesma em diferentes concentrações de sorbato (0, 50 e 100ppm), obtendo-se os seguintes valores para os parâmetros SST, ATT, pH, Ratio e osmolalidade, respectivamente:  $6,0^{\circ}\text{Brix}$  e  $6,3^{\circ}\text{Brix}$  para a bebida com ausência e adição de 50ppm de sorbato, respectivamente; 0,1% de ácido cítrico para todas as amostras; 3,2 e 3,4 para a bebida com ausência e adição de 100ppm de sorbato, respectivamente; 63 e 60 para a bebida com ausência e adição de 50ppm de sorbato, respectivamente; e  $286\text{mOsm}\cdot\text{Kg}^{-1}$  para todas as bebidas. Pode se observar que todas as bebidas desenvolvidas estavam dentro dos padrões propostos pela legislação, corroborando este trabalho.

Cavalcanti et al. (2010) avaliaram nove amostras de bebidas provenientes do mercado em relação aos seguintes parâmetros: pH, ATT e STT. Os valores obtidos para o pH das bebidas variou entre 2,05 (Gatorade guaraná e açaí – Temperatura



ambiente) e 2,93 (Marathon, sabor limão - Temperatura de 9°C). Para ATT, os valores encontrados neste estudo variaram de 0,10 (Marathon, sabor limão - à Temperatura de 9°C), a 0,32 % de ácido cítrico (Gatorade guaraná e açaí e tangerina – à Temperatura ambiente). Já os teores de SST variaram de 6,50 °Brix (Gatorade guaraná e açaí e Gatorade morango e maracujá armazenados à temperatura ambiente, e Gatorade de frutas cítricas, em ambas temperaturas) a 12,50 °Brix (Marathon sabor guaraná e açaí, à temperatura ambiente).

De Marchi et al. (2003) também avaliaram os parâmetros físico-químicos de bebidas isotônicas pasteurizadas e frescas, afim de avaliar a vida-de-prateleira de um isotônico natural de maracujá. Eles observaram que os valor de pH, ATT, SST e Ratio de 3,10; 0,5% de ácido cítrico; 8,2 °Brix e 16,40, respectivamente, para a bebida fresca.

Observa-se que diferentes valores para as variáveis físico-químicas são encontrados em diversos trabalhos científicos com bebidas isotônicas, evidenciando que a formulação diferenciada em cada um desses experimentos proporcionou diferentes resultados de caracterização dos produtos. É importante ressaltar que a legislação específica deve ser consultada ao formular bebidas para atletas, de forma a se obter um produto cuja função seja hidratar e repor os sais perdidos devido à prática de atividade física.

### **3.2 ANÁLISE COLORIMÉTRICA**

Os resultados para a avaliação das coordenadas de cor das bebidas formuladas a partir dos extratos de casca de jabuticaba (JAB), polpa de açaí (ACA), a mistura dos extratos (MIS) e da amostra comercial (COM) encontram-se na Tabela 1.8.

**Tabela 1.8 – Valores médios das coordenadas de cor das bebidas isotônicas**

<b>COORDENADAS DE COR</b>	<b>JAB**</b>	<b>ACA**</b>	<b>MIS**</b>	<b>COM**</b>
L* – luminosidade	46,30 <sup>a</sup>	46,16 <sup>a</sup>	45,85 <sup>a</sup>	40,78 <sup>b</sup>
a* – vermelho vs verde	38,00 <sup>a</sup>	31,95 <sup>c</sup>	35,81 <sup>b</sup>	37,90 <sup>a</sup>
b* – amarelo vs azul	20,61 <sup>b</sup>	10,25 <sup>d</sup>	15,36 <sup>c</sup>	25,39 <sup>a</sup>
h* – ângulo de tonalidade (graus)	61,52 <sup>b</sup>	72,20 <sup>d</sup>	66,81 <sup>c</sup>	168,52 <sup>a</sup>
C* – saturação de cor (chroma)	43,23 <sup>b</sup>	33,56 <sup>d</sup>	38,96 <sup>c</sup>	45,62 <sup>a</sup>
ΔE (diferença global de cor)	6,80 <sup>a</sup>	16,97 <sup>b</sup>	11,33 <sup>c</sup>	--

\*\*Os valores representam a média de 3 repetições. Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. JAB - bebida formulada com extrato de casca de jabuticaba; ACA - bebida formulada com extrato de polpa de açaí; MIS - bebida formulada com mistura de extratos de casca de jabuticaba e polpa de açaí; COR - bebida comercial.

Apesar de a amostra comercial ter sido significativamente diferente das demais, em relação ao parâmetro L\* ( $p < 0,05$ ), observou-se que todas as bebidas apresentaram valor de L\* menor, indicando maior luminosidade em relação aos extratos concentrados (Tabela 1.8). O parâmetro a\* forneceu um valor positivo para todas as bebidas, indicando que estas aproximaram-se mais do eixo da cromaticidade do vermelho, indicando coloração mais avermelhada nas amostras de bebidas. Os valores referentes ao parâmetro b\* foram também todos positivos, o que indica a presença da cor amarelada nas bebidas avaliadas.

O parâmetro h demonstra a localização da cor em um diagrama, onde o ângulo 0° representa vermelho puro; o 90°, o amarelo puro; o 180°, o verde puro e o 270°, o azul puro. No caso das bebidas formuladas com extratos de antocianinas, percebe-se que estes ângulos foram pequenos (61,52; 72,20 e 66,81 graus para as bebidas formuladas com extrato de casca de jabuticaba, polpa de açaí e a mistura destes, respectivamente), quando comparadas à da bebida isotônica comercial, que foi de 168,52 graus. Com isso, é possível inferir que as bebidas desenvolvidas com extratos de antocianinas possuíam tonalidade variando entre o vermelho e amarelo, enquanto que a tonalidade da amostra comercial tendia do amarelo ao verde.

O croma (C\*) é definido pela distância de h ao centro do diagrama tridimensional, sendo o zero no centro e aumentando de acordo com a distância (CLYDESDALE, 1984; OLIVEIRA, 2002) (Figura 10). Apesar de estatisticamente

diferentes, todas as bebidas avaliadas obtiveram valores elevados para esta coordenada, indicando possuir cores mais brilhantes e saturadas.

Em relação a variável  $\Delta E^*$  (diferença global de cor), Gonnet (1998) afirma que valores de  $\Delta E^* = 1$  são suficientes para indicar mudanças visuais perceptíveis de cores em duas amostras. Os valores encontrados para  $\Delta E^*$  (Tabela 1.8) indicam que a amostra de bebida isotônica formulada com extrato de casca de jabuticaba foi a mais similar em relação à comercial, em relação à cor, da bebida comercial ( $\Delta E^* = 6,80$ ) seguida da amostra com extrato da mistura ( $\Delta E^* = 11,33$ ). A bebida formulada com com extrato de polpa de açaí se distanciou mais da amostra comercial, com  $\Delta E^*$  de 16,97. Esse resultado era esperado uma vez que o processamento da bebida isotônica comercial é bastante diferente em relação aos das bebidas aqui formuladas, além deste último não conter corantes naturais em sua formulação.

### 3.2.1 Compostos fenólicos e atividade antioxidante

Os teores de fenólicos totais, antocianinas totais e atividade antioxidante para as quatro formulações de bebidas isotônicas (casca de jabuticaba, polpa de açaí, mistura de ambos extratos e amostra comercial) estão representados na Tabela 1.9.

**Tabela 1.9** – Valore médios dos teores de fenólicos totais, antocianinas totais e atividade antioxidante das bebidas isotônicas.

<b>PROPRIEDADES BIOATIVAS</b>	<b>JAB**</b>	<b>ACA**</b>	<b>MIS**</b>
Fenólicos Totais (mg AGE·L <sup>-1</sup> - bu)	93,04 <sup>a</sup>	60,64 <sup>c</sup>	87,70 <sup>b</sup>
Antocianinas totais (mg·L <sup>-1</sup> ) – bu)	9,44 <sup>a</sup>	9,06 <sup>a,b</sup>	9,28 <sup>b,c</sup>
Atividade Antioxidante (μmol·L <sup>-1</sup> Trolox·mL <sup>-1</sup> )	0,84 <sup>a</sup>	0,41 <sup>c</sup>	0,63 <sup>b</sup>

AGE = ácido gálico equivalente. \*\*Os valores representam a média de 3 replicatas. Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. JAB - bebida formulada com extrato de casca de jabuticaba; ACA - bebida formulada com extrato de polpa de açaí; MIS - bebida formulada com mistura de extratos de casca de jabuticaba e polpa de açaí.

Como a formulação da amostra comercial (COM) é composta de corantes artificiais (amarelo de tartrazina e amarelo crepúsculo), esta bebida não apresenta teores de fenólicos, antocianinas e conseqüentemente, nenhuma atividade antioxidante.

O teor de fenólicos variou de 60,64mg AGE·L<sup>-1</sup> para a bebida adicionada de extrato de polpa de açaí a 93,04mg AGE·L<sup>-1</sup>, para a bebida adicionada de extrato de casca de jabuticaba, sendo todas elas estatisticamente diferente ao nível de 5% de probabilidade. Estupinã et al. (2011) caracterizaram bebidas isotônicas adicionadas de extratos em pó de antocianinas de Andes Berry (*Rubus glaucus Benth*) quanto a teores de fenólicos, encontrando valores que variaram entre 89,9 e 101,4mg AGE·L<sup>-1</sup> para amostra de bebida que continha carreador maltodextrina (MFDA) e sem carreador, respectivamente.

Para antocianinas totais, as amostras de bebida que continham maior teor desses compostos foi a adicionada de extrato de casca de jabuticaba e da mistura dos corantes, de 9,44mg·L<sup>-1</sup> e 9,28mg·L<sup>-1</sup>, respectivamente, enquanto a amostra adicionada de extrato de polpa de açaí continha apenas 9,06mg·L<sup>-1</sup>, também expressos em cianidina-3-glicosídeo. Fallico et al. (2010) avaliaram teores de antocianinas de diferentes produtos do mercado cuja formulação era a base frutas vermelhas (sucos, néctares, bebidas carbonatadas e bebidas isotônicas), observando que o néctar de cenoura preta apresentava o maior teor desse composto, de 41,3mg·100mL<sup>-1</sup>, enquanto as bebidas isotônicas não apresentaram a presença deste composto, uma vez que eram formuladas a base de corantes artificiais. Burin et al. (2011) também avaliaram teores de antocianinas em bebidas isotônicas formuladas com extrato em pó de uva Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera L.*), encontrando teores aproximados de 25,11mg·L<sup>-1</sup> para as amostra cujo corante havia sido microencapsulado com carreador maltodextrina, e 44,66mg·L<sup>-1</sup> para bebida formulada com corante em pó microencapsulado com carreador maltodextrina e ciclodextrina.

A atividade antioxidante das bebidas foi bem inferior aos extratos, o que era esperado com a diluição. A bebida adicionada de extrato de casca de jabuticaba apresentou maior atividade antioxidante, de 0,84µmol·L<sup>-1</sup> Trolox·mL<sup>-1</sup>, enquanto a amostra de açaí apresentou atividade de 0,41µmol·L<sup>-1</sup> Trolox·mL<sup>-1</sup>. Estupinã et al. (2011) também avaliaram a atividade antioxidante de bebidas isotônicas adicionadas de extratos em pó de antocianinas de Andes Berry (*Rubus glaucus Benth*) utilizando diferentes metodologias de avaliação de atividade antioxidante. Pela metodologia TEAC<sub>ABTS</sub>, eles encontraram valores que variaram entre 0,58µmol·L<sup>-1</sup> a 0,99µmol·L<sup>-1</sup> Trolox·mL<sup>-1</sup>, para amostras de bebidas cujo extrato em pó não continha agente

carreador e um que havia sido microencapsulada com carreador maltodextrina (MFDA), respectivamente.

A coordenada de cor  $a^*$  apresentou correlação positiva ( $r=0,71$  e  $r=0,97$  para as bebidas adicionadas de extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, respectivamente) com o teor de antocianinas totais, pela correlação de Pearson. Embora a cor vermelha de um considerável número de frutas seja decorrente da presença de antocianinas, há controvérsias quanto à existência de correlação entre o teor destes compostos e medidas objetivas da cor. Bakker et al. (1994) observaram, em sucos de 39 genótipos de morango, que o teor de antocianinas ( $333,0\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  a  $20,7\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ) não influenciou claramente na avaliação da cor. Em quatro cultivares de framboesa, Ancos et al. (1999) relataram que embora a cultivar “Ceva” tenha apresentado o mais elevado teor antocianinas, sem, contudo haver diferença significativa ( $p < 0,05$ ) do parâmetro  $h^*$ , a cultivar “Rubi” foi considerada a mais vermelha em decorrência do maior valor de  $a^*$ .

Já a atividade antioxidante correlacionou-se positivamente ( $r = 0,93$  ;  $p < 0,05$ ) com os teores de fenólicos totais, demonstrando que estes compostos exercem maior influência na atividade antioxidante que as antocianinas totais ( $r = 0,69$ ;  $p < 0,05$ ), para todas as formulações, conforme demonstrado pelos coeficientes de correlação de Pearson. Esta relação parece óbvia quando se observa que as antocianinas representam somente cerca de 10% do conteúdo de fenólicos nas amostras de bebidas isotônicas, justificando sua baixa contribuição na atividade antioxidante dessas amostras.

Santos et al. (2008) e Kuskoski et al. (2006) correlacionaram a atividade antioxidante a compostos fitoquímicos e concluíram que os elevados valores de atividade antioxidante foram atribuídos aos compostos fenólicos e às antocianinas, porém em menor escala. Soares et al. (2008) também observaram resultados semelhantes, com correlações positivas entre as atividades antioxidantes e os teores de antocianinas e fenólicos.

## **4 ACEITABILIDADE**

### **4.1 ATRIBUTO COR**

Os 113 consumidores solicitados a participar da análise sensorial para cor tinham idade variando entre 14 a 71 anos, sendo 72% do sexo masculino e 27% do

sexo feminino. A idade média dos consumidores foi de 29 anos, e o desvio-padrão de 10,37 anos. Os resultados aqui obtidos também revelaram predominância de consumidores entre jovens e adultos (correspondendo a 95,5% dos consumidores).

As médias obtidas para cada tratamento, em relação ao atributo cor, estão representadas na Tabela 1.10.

**Tabela 1.10** – Média dos julgamentos para as formulações de bebida isotônica em relação ao atributo cor.

<b>FORMULAÇÃO</b>	<b>MÉDIA</b>
<b>JAB</b>	6,86 <sup>a</sup>
<b>ACA</b>	6,61 <sup>a</sup>
<b>MIS</b>	5,24 <sup>b</sup>
<b>COM</b>	7,13 <sup>a</sup>

JAB – Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba; ACA – Bebida isotônica adicionada de extrato de polpa de açaí; MIS – Bebida isotônica adicionada mistura de extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí; COM: Amostra comercial. As médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

As formulações adicionadas de extrato de casca de jabuticaba (JAB) e polpa de açaí (ACA) apresentaram a mesma aceitabilidade ( $p > 0,05$ ) que a bebida comercial (COM), situando-se entre os termos hedônicos gostei ligeiramente e gostei muito.

A formulação que continha a mistura dos extratos (MIS) foi a menos aceita pelos consumidores em relação ao atributo cor, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Esta amostra obteve a menor média, de 5,24, situando-se entre os termos hedônicos indiferente a gostei ligeiramente.

Apesar de muito utilizada na análise estatística de dados de aceitação, a ANOVA apresenta algumas limitações uma vez que desconsidera a individualidade dos consumidores (MINIM, 2010). A técnica do mapa de preferência tem sido bastante empregada neste contexto pois permite a comparação das preferências e aceitações e as relaciona com as características de qualidade do produto, pela utilização de procedimentos estatísticos multivariados. Por meio de uma representação gráfica das diferenças de aceitação, essa técnica permite a identificação de cada consumidor e suas preferências em relação as amostras avaliadas, considerando portanto, a individualidade dos respondentes.

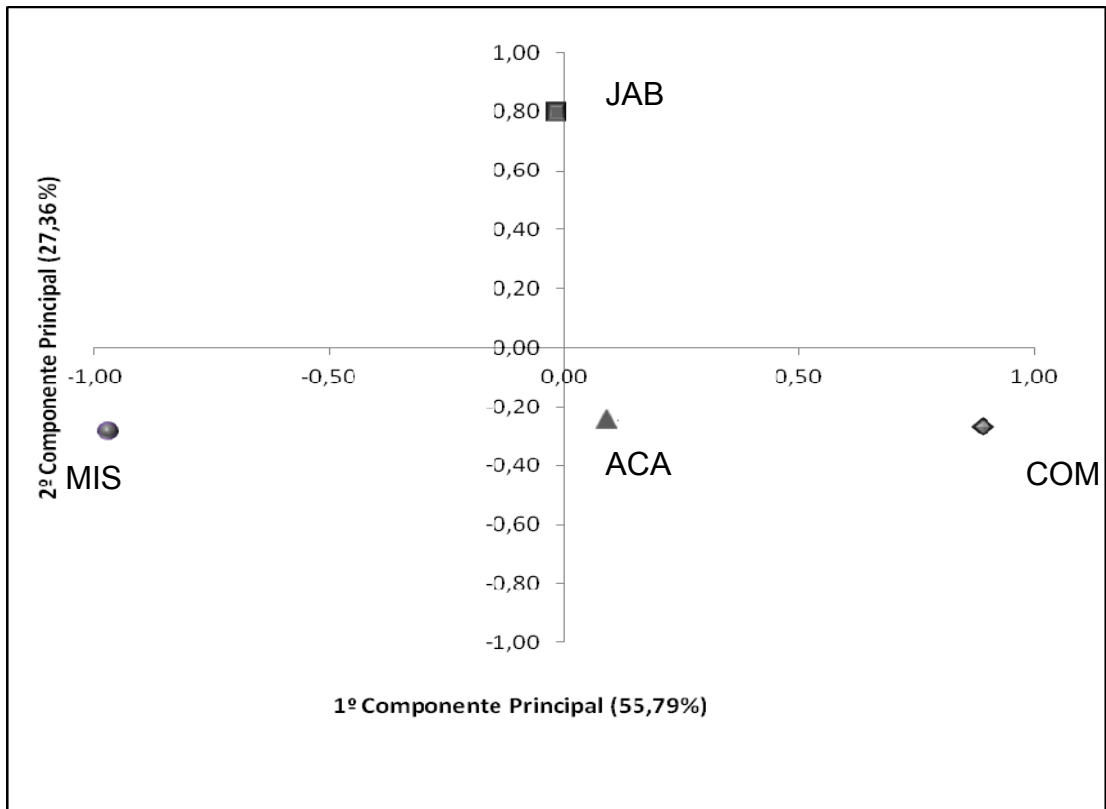
Assim, com os dados obtidos no teste de aceitação para as quatro formulações de bebidas isotônicas, foi realizada a análise do Mapa de Preferência interno.

Na Figura 1.4, o primeiro componente explicou 55,79% da variação da aceitação entre as formulações de bebidas isotônicas, enquanto o segundo explicou 14,82% da variação. Como os dois primeiros componentes principais explicam a maior parte de variância (70,61%) entre as amostras, eles são suficientes para discriminá-las quanto à aceitação.

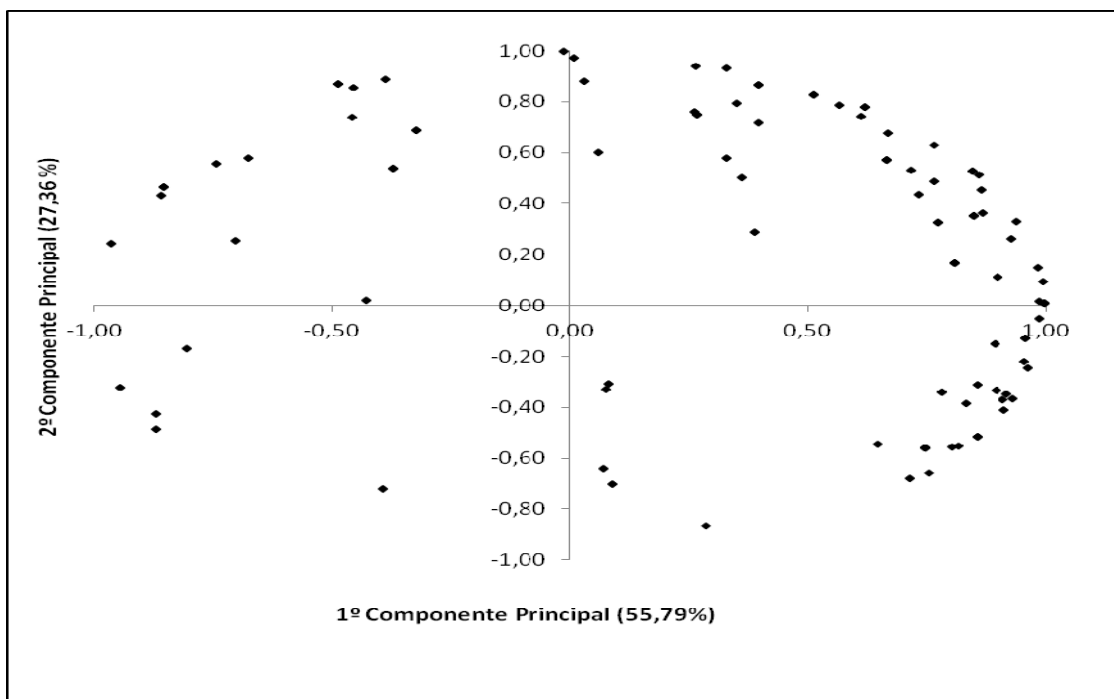
A separação espacial das amostras de bebidas isotônicas sugere a existência de diferença na aceitação das mesmas (Figura 1.4A), com formação de três grupos: o primeiro grupo formado pelas amostras de bebida comercial (COM) e adicionada de extrato de polpa de açaí (ACA); um segundo grupo representado pela bebida adicionada de extrato de casca de jabuticaba (JAB); e um terceiro grupo composto da amostra de bebida formulada pelas misturas dos extratos (MIS).

Na Figura 1.4B, cada ponto representa as correlações entre os dados de aceitação de cada consumidor e os dois primeiros componentes principais. Os consumidores correlacionados com pelo menos um dos componentes principais consideram diferença na aceitação das amostras.

Ainda, os consumidores podem correlacionar-se positiva ou negativamente com um ou os dois componentes principais e a aceitação será de acordo com a posição dos pontos no gráfico uma vez que os consumidores localizam-se próximo à região das amostras que eles mais gostam.



A: Dispersão das amostras de bebidas isotônicas em relação à aceitação dos Consumidores.



B: Correlação entre a aceitação de cada consumidor e os dois componentes principais

**Figura 1.4** – Mapa de preferência interno em relação ao atributo cor



Os consumidores mais próximos do centro do gráfico (Figura 1.4B) não estão correlacionados com nenhum dos componentes principais e contribuem pouco para a discriminação das amostras, ou seja, são consumidores que consideram as amostras com aceitação semelhante. Este grupo é formado por um pequeno número de consumidores.

Nota-se que maioria dos consumidores correlacionaram positivamente com o primeiro e com o segundo componente principal, preferindo, em relação ao atributo cor, as formulações adicionadas de extrato de polpa de açaí (ACA), a amostra comercial (COM), e a amostra adicionada de extrato de casca de jabuticaba (JAB).

A menor concentração de consumidores no quarto quadrante (correlacionando-se negativamente com os dois componentes principais) indica que a formulação que continha a mistura dos extratos de casca de jabuticaba e polpa de açaí (MIS) apresentou menor aceitação em relação as demais amostras de bebida.

Por meio das análises estatísticas univariada (ANOVA) e multivariada (Mapa de preferência interno), foi possível observar que a adição de extratos de antocianinas de casca de jabuticaba e polpa de açaí na formulação de bebidas isotônicas influenciou positivamente na aceitação da cor destes produtos, uma vez que estas bebidas foram igualmente aceitas à bebida comercial, que é líder no mercado desta categoria de bebidas. Já a mistura de extratos não proporcionou melhorias na cor, em ambas as análises, evidenciando que a mistura não proporcionou melhoria na cor em relação aos extratos separados.

A adição de extratos de frutas em produtos ácidos como as bebidas isotônicas constituem-se boas alternativas de mercado uma vez que os produtos disponíveis no mercado ainda utilizam os corantes artificiais para dar cor aos mesmos. Os corantes obtidos a partir da extração das antocianinas de frutas apresentam-se como fontes promissoras desses aditivos já que, além de conferir tonalidades de cores que vão desde o azul ao vermelho, elas também agregam funcionalidade ao produto final.

## **4.2 IMPRESSÃO GLOBAL**

Dos 113 consumidores solicitados a participar da análise sensorial para impressão global, 65,0% eram do sexo masculino enquanto 35,0% eram do sexo feminino. As idades variaram entre 14 a 83 anos, sendo a idade média dos

consumidores de 31 anos, e o desvio-padrão de 11,9 anos. Os resultados revelaram predominância de consumidores jovens e adultos no mercado de bebidas isotônicas, correspondendo a 95,6% dos participantes.

As médias obtidas para cada tratamento, em relação ao atributo impressão global, estão apresentadas na Tabela 1.11. Para este atributo, as 4 formulações de bebidas isotônicas não diferiram entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, sendo que todas obtiveram notas altas na escala hedônica (entre 6 e 7, ou seja, gostei ligeiramente e gostei moderadamente).

**Tabela 1.11** – Média dos julgamentos para as formulações de bebida isotônica em relação a impressão global.

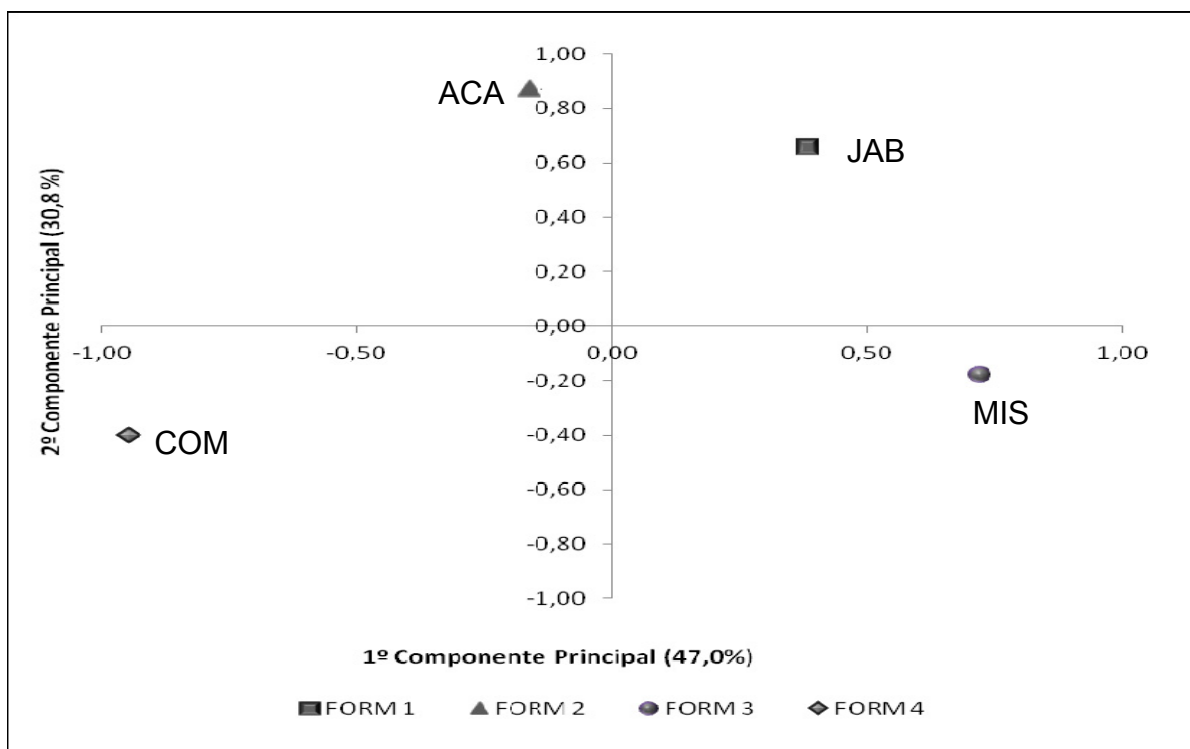
<b>FORMULAÇÃO</b>	<b>MÉDIA</b>
<b>JAB</b>	6,93 <sup>a</sup>
<b>ACA</b>	6,79 <sup>a</sup>
<b>MIS</b>	6,67 <sup>a</sup>
<b>COM</b>	6,65 <sup>a</sup>

JAB – Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba; JAB – Bebida isotônica adicionada de extrato de polpa de açaí; JAB – Bebida isotônica adicionada mistura de extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí; COM - Amostra comercial. As médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

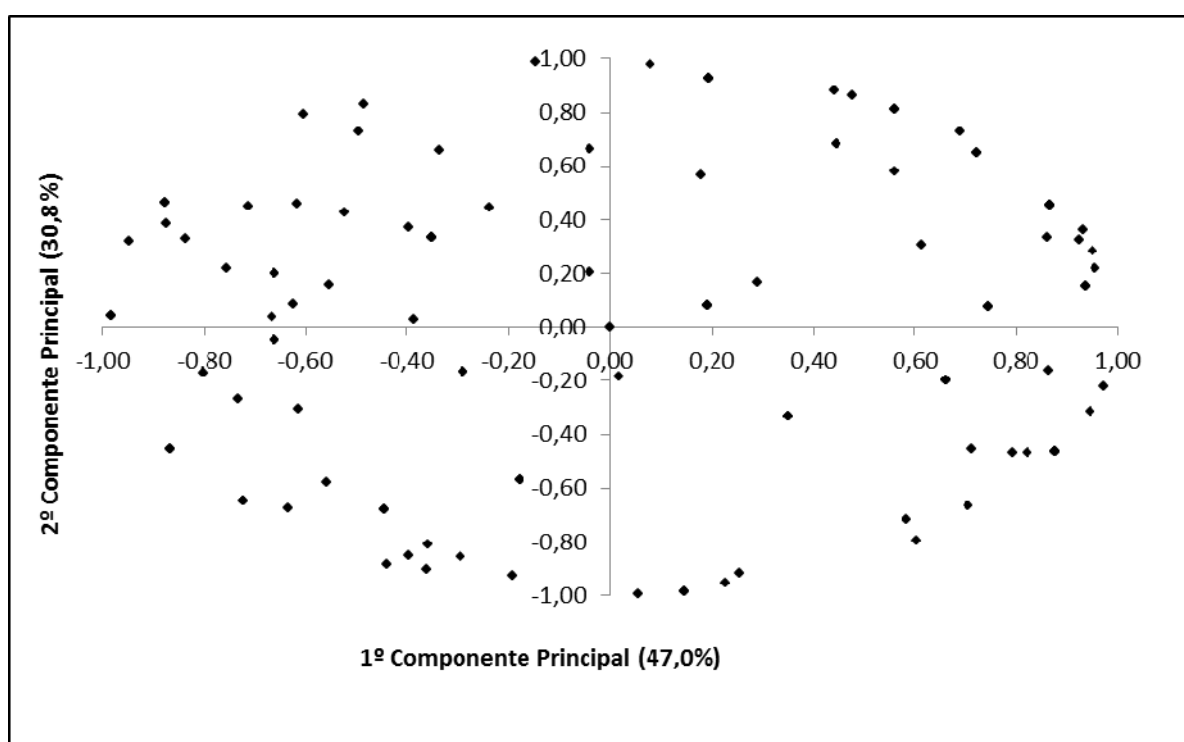
As bebidas formuladas neste presente trabalho (ACA, JAB e MIS) obtiveram médias entre 6 e 7, situando-se entre os termos hedônicos gostei ligeiramente e gostei moderadamente. Percebe-se que a amostra comercial (COM), que é líder de mercado, também obteve a mesma nota (entre os termos hedônicos gostei ligeiramente e gostei moderadamente) para o atributo impressão global.

Com os dados obtidos no teste de aceitação para as quatro formulações de bebidas isotônicas, foi realizada a análise do Mapa de Preferência interno.

Na Figura 1.5, o primeiro componente explica 47,0% da variação de aceitação entre as amostras de bebidas isotônicas e o segundo, 30,8%. Os dois primeiros componentes explicam 77,8% da variância entre as amostras quanto a sua aceitação, em relação ao atributo impressão global.



A: Dispersão das amostras de bebidas isotônicas em relação à aceitação dos Consumidores.



B: Correlação entre a aceitação de cada consumidor e os dois componentes principais

**Figura 1.5** – Mapa de preferência interno em relação ao atributo impressão global

A distribuição espacial das amostras de bebidas sugere a formação de quatro grupos na aceitação das amostras com os dois componentes principais (Figura 1.5A). Entretanto, o gráfico de correlação de consumidores mostrou distribuição homogênea em relação aos componentes principais, indicando que todas as bebidas foram igualmente aceitas (Figura 1.5B).

Novamente, tanto a análise estatística univariada (ANOVA) quanto a multivariada (Mapa de Preferência Interno) possibilitaram a mesma conclusão na análise dos dados, de que a adição de corantes naturais na formulação de bebidas isotônicas proporcionou aceitação igual à da bebida comercial, que é atualmente líder de mercado de bebidas isotônicas. Isto pode estar relacionado ao fato de que os consumidores destes produtos estão cada vez mais preocupados com a questão da saúde e dos problemas causados pelo uso de corantes sintéticos, principalmente no que se refere à sua toxicidade. Estes consumidores estão dispostos a aceitar novas tendências, sendo a utilização de corantes naturais uma estratégia de marketing uma vez que agregam valor à bebida por conferir cor e bioatividade ao produto final.

#### **IV. CONCLUSÃO**

Um bom conhecimento acerca dos constituintes físico-químicos de frutas utilizadas como matéria-prima pode contribuir para um melhor aproveitamento das mesmas na indústria alimentícia, promovendo assim uma maior valorização econômica.

Considerando-se os resultados obtidos, pode-se concluir que tanto as cascas de jaboticaba, a polpa de açaí e seus extratos são fontes ricas em compostos fenólicos e antocianinas, além de possuir apreciáveis propriedades antioxidantes, apresentando-se, portanto como alternativas viáveis na obtenção de corantes naturais.

As bebidas formuladas neste estudo encontraram-se dentro dos padrões físico-químicos propostos pela legislação para esta categoria de bebidas.

Quando comparadas à amostra comercial estudada, a adição de extratos de antocianinas na formulação de bebidas isotônicas proporcionou tonalidade de cores claras, vivas e tendendo ao vermelho, característico da presença de antocianinas.

A adição de extratos de antocianinas de casca de jabuticaba e polpa de açaí na formulação de bebidas isotônicas influenciou positivamente na aceitação da cor e impressão global destes produtos, sendo estas formulações igualmente aceitas a bebida de marca comercial.

Conclui-se que é possível a utilização de corantes naturais na formulação de bebidas isotônicas, pois além de adequados às exigências da legislação e para padrão de cor e sabor, podem trazer benefícios à saúde pela presença de compostos bioativos.

## V. REFERÊNCIAS

ABE, L.T.; DA MOTA, R.V.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 394-400, 2007.

ALEXANDRE, D.; CUNHA, R.L.C.; HUBINGER, M.D. Conservação do açaí pela tecnologia de obstáculo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 114-119, 2004.

ANCOS, B.; GONZALES, E.; CANO, M. P. Differentiation of raspberry varieties according to anthocyanin composition. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A**, v. 208, p. 33-38, 1999.

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

BAKKER, J.; BRIDLE, P.; BELLWORTHY, S. J. Strawberry juice colour: a study of the quantitative and qualitative pigment composition of juice from 39 genotypes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 64, p. 31-37, 1994.

BENVENUTI, S.; PELLATI, F.; MELEGARI, M.; Bertelli, D. Polypehols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of rubus, ribes and aronia. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 69, p. 164-169, 2004

BOARI LIMA, A. J.; CORRÊA, A. D.; ALVES, A. P. C.; ABREU, C. M. P. DANTAS-BARROS, A.M. Caracterização química do fruto de jabuticaba (*myrciaria cauliflora berg*) e de suas frações. **Archivos latino americanos de nutricion**, v. 58, p. 416-421, 2008.

BOBBIO, F.O.; DRUZIAN, J.I; ABRÃO, P.A.; BOBBIO, P.A.; FADELLI, S. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaizeiro (*euterpe oleracea*) mart. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, p. 388-390, 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC N° 18, de 27 de abril de 2010. Dispõe sobre alimentos para atletas. **Diário Oficial da União**; Poder Executivo, de 28 de abril 2010.

BRASIL. MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. INSTRUÇÃO NORMATIVA N° 01, DE 7 DE JANEIRO DE 2000. **Aprovar o Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa de fruta.** Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br>. Acesso em: 15 de Out. de 2011.

BRUNINI, M. A.; OLIVEIRA, A. L.; SALANDINI, C. A. R.; BAZZO, F. R. Influência de embalagens e temperatura no armazenamento de jabuticabas (*Myrciaria jaboticaba* (vell) berg) cv 'Sabará'. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 378-383, 2004.

BURIN, V.M.; ROSSA, P.N.; FERREIRA-LIMA, N.E.; HILLMANN, M.C.R.; BOIRDIGNON-LUIZ, M.T. Anthocyanins: optimisation of extraction from Cabernet Sauvignon grapes, microcapsulation and stability in soft drink. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 186–193, 2011.

CAVALCANTI, D.T.B.; ARAÚJO, C.R.; PIMENTEL, M.R.F.; PEREIRA, E.V.S.; OLIVEIRA, S.P.A.; FERREIRA, L.C.; DE LIMA, V.L.A.G. Teor de antocianinas em polpas congeladas de uva, morango e açaí comercializadas em torno da UFRPE. **X Jornada de ensino, pesquisa e extensão (jepex) – UFRPE: 2010, recife.**

CESARONE, M.R.; DI RENZO, A; ERRICHI, S; SCHÖNLAU, F; WILMER, J.L.; BLUMENFELD, J. Improvement in Circulation and in Cardiovascular Risk Factors With a Proprietary Isotonic Bioflavonoid Formula OPC-3®. **Angiology**, v. 59, p. 408-414, 2008.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio.** Lavras: UFLA, 2005. 783 p.

CLYDESDALE, F. M. Color measurement. In: GRUENWEDEL, D. W; WHITAKER, J. P. **Food Analysis: Principles and Techniques.** v.1, New York: Marcel Dekker Inc., 1984. p. 95-150.

CRUZ, A.P.G. **Avaliação do efeito da extração e da microfiltração do açaí sobre sua composição e atividade antioxidante.** 2008. 88p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro Rio de Janeiro, RJ, 2008.

CZELUSNIAK, C.; OLIVEIRA, M.C.S.; NOGUEIRA, A.; SILVA, N.C.C.; WOSIACKI, G. **Qualidade de Maçãs Comerciais Produzidas no Brasil: Aspectos Físico-Químicos.** Brazilian Journal of Food Technology, v. 6, p. 25-31, 2003.

DE MARCHI, R.; MONTEIRO, M. Avaliação da Vida-de-Prateleira de um Isotônico Natural de Maracujá (*Passiflora edulis Sims. f. flavicarpa Deg.*). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, p. 291-300, 2003.

ESTUPINÃN, D.C.; SCHWARTZ, S.J.; GARZÓN, S.A. Antioxidant Activity, Total phenolics content, anthocyanin, and color stability of isotonic model beverages colored with andes berry (*rubus glaucus benth*) anthocyanin powder. **Journal of Food Science**, v. 76, p. S26-S34, 2011.

FALLICO, B.; ARENA, E.; CHIAPPARA, E.; BALLISTRERI, G. Colour and label evaluation of commercial pasteurized red juices and related drinks. **Food Additives and Contaminants: Part B**, v. 3, p. 201-211, 2010.

FULEKI, T.; FRANCIS, F.J. Quantitative methods for anthocyanins: 2. Determination of total anthocyanins and degradation index for cranberry juice, **Journal of Food Science**, v. 33, p. 78-83, 1968.

GONNET, J. F. Color effects of co-pigmentation of anthocyanins revisited. 1: a colorimetric definition using the CIELAB scale. **Food Chemistry**, v. 63, p. 409-415, 1998.

GUEDES, M.N.S. **Diversidade de acessos de jabuticabeira 'Sabará' em Diamantina/MG por meio da caracterização biométrica e físico-química dos frutos e fisiológica das sementes**. 2009. 70p. Dissertação (Mestrado em Produção vegetal) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, MG, 2009.

GUIMARÃES, L. **A cor como informação: a construção biofísica, lingüística e cultural da simbologia das cores**. 3. ed. São Paulo: Annablume, 2004. 143p.

HAMM, J.H.G.; MANICA-BERTO, R.; CONTREIRA, C.L.; PEGORARO, C.; RUFATO, A.R.; SILVA, J.A. Estudo fitoquímico em frutos da família myrtaceae. In: XVII CIC. XI ENPOS I Mostra científica: Evoluir sem extinguir: por uma ciência do devir., 2009, Pelotas. **Anais...** Pelotas : Editora e Gráfica Universitária, 2009.

HEIM, K.E.; TAGLIAFERRO, A.R.; BOBILVA, D.J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutrition and Biochemistry**, v. 13, p. 572-584, 2002.

HOJO, R.H.; CHALFUN, N.N.J.; HOJO, E.T.D.; VEIGA, R.D.; PAGLIS, C.M.; LIMA, L.C.O. Produção e qualidade dos frutos da goiabeira 'Pedro Sato' submetida a diferentes épocas de poda. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 357-362, 2007.

IAL- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo, 2008. 1020p.

IMEH, U.; KHOKBAR, S. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: Antioxidant activity and cultivar variations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 6301-6306, 2002.

JIMENEZ, E.A.; RINCÓN, M.; PULIDO, R.F.S.C. Guava fruit (*Psidium guajava L.*) as a new source of antioxidant dietary fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5489-5493, 2000.

KALT W.; FORNEY, C.F.; MARTIN, A.; PRIOR, R.L. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 4638-4644, 1999.

KENNELLY E.J., REYNERTSON, K.A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M.J.: Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, p. 883-890, 2008.

KENNELLY, E.J.; EINBOND, L.S.; REYNERTSON, K.A.; DUO, X.D.; BASILE, M.J. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, v. 84, p. 23-28, 2004.

KENNELLY, E.J.; REYNERTSON, K.A.; WALLACE, A.M.; ADACHI, S.; GIL, R.R.; YANG, H.; BASILE, M.J.; D'ARMIENTO, J.; WEINSTEIN, I.B. Bioactive depsides and anthocyanins from jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 1228-1230, 2006.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI, F. J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência Tecnológica de Alimentos**, v. 25, p. 726-732, 2005.

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

LEE, H. S. Characterization of major anthocyanins and the color of red-fleshed blood orange (*Citrus sinensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 1243-1246, 2002.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. G. Standardization of pigment analysis in cranberries. **Hortscience**, v. 7, p. 83-84, 1972.

LEITE, A.V.; MALTA, L.G.; RICCIO, M.F.; EBERLIN, M.N.; PASTORE, G.M.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R. Antioxidant potential of rat plasma by administration of



freeze-dried Jaboticaba peel (*Myrciaria Jaboticaba* Vell Berg), **Journal of Food Chemistry**, v. 59, p. 2277-2283, 2011.

LIMA, V.L.A.G.; MÉLO, E.A.; GUERRA, N.B. Correlação entre o Teor de Antocianinas e Caracterização Cromática de Polpas de Diferentes Genótipos de Aceroleira. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, p. 51-55, 2007.

MALACRIDA, C.R.; MOTTA, S. ANTOCIANINAS em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim CEPPA**, v. 24, p. 59-82, 2006.

MENEZES, E. M. S. **Efeito da alta pressão hidrostática em polpa de açaí pré-congelada (*Euterpe oleracea* Mart.)**. 2005. 83p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2005.

MENEZES, J. B.; JUNIOR, J. G.; NETO, S. E. A.; SIMÕES, A. do. N. Armazenamento de dois genótipos de melão amarelo sob condições ambiente. **Horticultura Brasileira**, v. 19, p. 42-49, 2001.

MINIM, V.P.R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. 1. Ed. Viçosa: UFV, 2006. 225p.

NASCIMENTO, R.J.L; COURI, S.; ANTONIASSI, R.; FREITAS, S.P. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p. 498-502, 2008.

NOGUEIRA, A. **Tecnologia de processamento sidrícola: efeitos do oxigênio e do nitrogênio na fermentação lenta da sidra**. 2003. 210p. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos Agroindustriais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2003.

OLIVEIRA, A. L.; BRUNINI, M. A.; SALANDINI, C. A. R. Caracterização tecnológica de jaboticabas 'Sabará' provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, jaboticabal, v. 25, p. 397-400., 2003.

OLIVEIRA, A. P. V. **Caracterização sensorial de sobremesas lácteas de chocolate empregando Perfil Livre e Mapa de Preferência Interno e medidas de cor e textura**. Londrina, 2002, 137p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, 2002.

PEREIRA, M. C. T.; SALOMÃO, L. C. C.; MOTA, W. F.; VIEIRA, G. Atributos físicos e químicos de frutos de oito clones de jaboticabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 22., p. 16-21., 2000.

PETRUS, R.R.; FARIA, J.A.F. Processamento e avaliação de estabilidade de bebida isotônica em garrafa plástica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 18-24, 2005

PONTES, L.V. **Avaliação sensorial e instrumental da cor de misturas em pó para refresco, bebida isotônica e gelatina utilizando corantes naturais**. 2004. 97p. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2004.

POZO-INSFRAN, D.D; BRENES, C.H.; TALCOTT, S.T. Phytochemical composition and pigment stability of açai (euterpe oleracea mart.). **Journal of Agricultural and food chemistry**, v. 52, p. 1539-1545, 2004.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying na improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

ROCHA, F.I.G. **Avaliação da cor e da atividade antioxidante da polpa e extrato de mirtilo (*vaccinium myrtillus*) em pó**. 2009. 93p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2009.

ROESLER, R.; MALTA, L.G.; CARRASCO, L.C.; HOLANDA, R.B.; SOUSA, C. A.S.; PASTORE, G.M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 53-60, 2007.

ROSSO, V.V. **Composição de carotenóides e antocianinas em acerola. Estabilidade e atividade antioxidante de extratos antociânicos em sistemas-modelo de extratos antociânicos de acerola e açai**. 2006. 134p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2006.

SANTOS, G.M.; MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M.; COSTA, J.M.C.; FIGUEIREDO, R.W.; PRADO, G.M. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açai (*Euterpe oleracea Mart.*). **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 5, p. 187-192, 2008.

SAS, **Statistical Analysis System (SAS®)**, SAS software versão 9.2, Cary, 2006. 176p.

SILVA, B. M.; ANDRADE, P.B.; VALENTÃO, P.; FERRERES, F.; SEABRA, R.M.; FERREIRA, M.A. Quince (*Cydonia oblonga Miller*) Fruit (Pulp, Peel and Seed) and Jam: antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4705-4712, 2004.

SILVA, G.J.F.; CONSTANT, P.B.L.; FIGUEIREDO, R.W.; MOURA, S.M. Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jabuticaba (*myrciaria ssp.*). **Alimentos e nutrição**, v. 21, p. 429-436, 2010.

SILVA, P.C.F. da **Propriedades antioxidantes in vitro de uva branca e de uva tinta e de seus respectivos vinhos elaborados**. 2003. 138p. Tese (mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2003.

SILVA, P.I. **Otimização da extração e microencapsulamento de fenólicos e antocianinas de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*)**. 2011. 159p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2011.

SILVA, S. D. A. E.; ANTUNES, L. E. C.; ANTHONISEN, D. G.; LEMÕES, J. S.; GONÇALVES, E. D. Caracterização de genótipos de mirtilo utilizando marcadores moleculares. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p. 180- 184, 2008.

SILVA, S.R. **Extração e estabilidade de pigmentos antociânicos de frutos de Maria-Pretinha (*Solanum americanum. Mili.*)**. 1996. 76p. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1996.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A, Jr. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.

SOUSA, M. B.; CURADO, T.; VASCONCELLOS, F. N.; TRIGO, M. J. 2007. **Mirtilo – qualidade pós colheita**. Folhas de Divulgação nº 8 apresentado na ação de demonstração Agro 556, em Nov. de 2007. 30p.

SUN, J.; CHU, Y.; WU, X.; LIU, R.H. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 7449–7454, 2002.

TEIXEIRA, L.N.; STRINGHETA, P.C.; OLIVEIRA, F.A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v. 55, p. 297-304, 2008.

TEIXEIRA, N.C. **Desenvolvimento, caracterização físico-química e avaliação sensorial de suco de jabuticaba (*myrciaria Jabuticaba (vell) berg*)**. 2011. 137p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais Belo Horizonte, Belo Horizonte, MG, 2011.

VEDANA, M.I.S.; ZIEMER, C.; MIGUEL, O.G.; PORTELLA, A.C.; CANDIDO, L.M.B. Efeito do processamento na atividade antioxidante de uva. **Alimentos e nutrição**, v. 19, p. 159-165, 2008.

WICKLUND, T.; ROSENFELD, H.J.; MARTINSEN, B.K.; SUNDFØR, M.W.; LEA, P.; BRUUN, T.; BLOMHOFF, R.; HAFFNER, K. Antioxidant capacity and colour of strawberry jam as influenced by cultivar and storage conditions. **LWT - Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v. 38, p. 387-391, 2005.

WU, X.; BEECHER, R. G.; HOLDEN, J. M.; HAYTOWITZ, D. B.; GEBHARDT, S. E.; PRIOR, R. L. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the united states. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4026-4037, 2004.

## CAPÍTULO II

### **Estabilidade de bebidas isotônicas formuladas com extrato de antocianina de casca de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*) e polpa de açaí (*Euterpe oleracea Mart*) sob diferentes condições de armazenamento.**

#### **RESUMO**

A utilização de extratos de frutas como corantes naturais em alimentos pode trazer benefícios à saúde pela presença de compostos bioativos. A polpa de açaí e a casca de jabuticaba apresentam-se como fontes viáveis na produção destes corantes uma vez que apresentam elevados teores de antocianinas, muitas vezes superiores ao de fontes comerciais. A utilização desses pigmentos em bebidas isotônicas é, portanto, justificável, já que os consumidores destes produtos estão associados à hábitos alimentares mais saudáveis, na busca por qualidade de vida. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi estudar a estabilidade das antocianinas, dos compostos fenólicos, da atividade antioxidante e da cor desses extratos adicionados a bebidas isotônicas, em diferentes condições de armazenamento: sob refrigeração (4 °C); em ausência e presença de luz, ambas a 25 °C, ao longo 63 dias de armazenamento. O conteúdo de fitoquímicos, assim como a atividade antioxidante do extrato, foi quantificado ao longo do armazenamento por espectrofotometria. Além disso, foram realizadas análises colorimétricas no sistema CIElab das bebidas isotônicas formuladas com extratos de antocianinas, ao longo do período de estocagem. A degradação das antocianinas seguiu uma cinética de primeira ordem, e a estabilidade das bebidas formuladas com extrato de casca de jabuticaba foi 2 vezes maior que as adicionadas de extrato de polpa de açaí, em todas as condições de estocagem avaliadas. O tempo de meia vida das antocianinas foi 29 e 26 vezes maior na condição de refrigeração (4 °C) que na presença de luz a 25 °C, para as bebidas formuladas com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, respectivamente, demonstrando o efeito deletério da luz e temperatura na estabilidade destes pigmentos. Em ambas as formulações de bebidas isotônicas, houve um aumento inesperado no teor de fenólicos, principalmente quando estocados na presença e ausência de luz, a 25°C. Houve uma diminuição

significativa ( $p < 0,05$ ) na atividade antioxidante para ambas as formulações de bebidas. Entretanto, na bebida formulada com extrato de casca de jabuticaba, houve uma queda seguida de oscilações nesta atividade nas três condições de armazenamento, provavelmente em função do aumento no teor de fenólicos durante o armazenamento. Já para as formulações de bebidas isotônicas adicionadas de extrato de polpa de açaí, a queda foi mais acentuada quando as bebidas foram estocadas em presença de luz, a 25°C. A atividade antioxidante correlacionou-se positivamente com os teores de fenólicos totais ( $r = 0,86-0,92$ ), demonstrando maior contribuição de compostos fenólicos não antocianínicos que de antocianinas ( $r = 0,54-0,81$ ) nas bebidas isotônicas. Em ambas as bebidas, a gradual degradação da cor vermelha e aumento da cor azul foi observada pelo incremento do parâmetro CIE L\* e diminuição de C\* e h\*, principalmente quando estocadas em presença e ausência de luz (a 25°C), que podem ter resultado da degradação do cátium flavilium e formação de carbinol. A diferença global de cor foi maior para as amostras estocadas na presença de luz (25°C), sendo que sob refrigeração a (4°C), o  $\Delta E^*$  foi pequeno e praticamente constante ao longo do experimento para ambas as amostras de bebidas, evidenciando que nesta condição, as antocianinas tem sua estabilidade aumentada. Tanto as cascas de jabuticaba como a polpa de açaí apresentaram elevado poder tintorial e antioxidante, evidenciando seu grande potencial e viabilidade para uso na indústria de alimentos, especialmente em produtos armazenados ao abrigo da luz, em baixas temperaturas, o que minimiza sua degradação e descoloração.

**Palavras-chave:** casca de jabuticaba; polpa de Açaí; antocianina; fenólicos; atividade antioxidante (ABTS); estabilidade; bebida isotônica.

## I. INTRODUÇÃO

A cor é um dos atributos avaliados mais importante no ato de compra de alimentos e bebidas, sendo o primeiro fator a ser observado por consumidores, podendo ter efeito positivo ou negativo na escolha destes produtos (NACHAY, 2009). Por isso a importância de estudar fontes novas de corantes alimentícios. Entretanto, o que tem sido observado é um aumento na substituição de corantes sintéticos por corantes naturais, já que os consumidores têm buscado melhorias na qualidade de vida, com hábitos alimentares mais saudáveis.

As antocianinas, pigmentos vegetais responsáveis pela maioria das cores azul, roxa e todas as tonalidades de vermelho (MARKAKIS, 1982), são excelentes alternativas à adição de cor a produtos alimentícios uma vez que apresentam elevado poder tintorial, baixa toxicidade e solubilidade em água, o que permite uma incorporação adequada nas matrizes alimentícias (ERSUS e YURDAGEL, 2007).

Estudos “in vitro” e “in vivo” tem mostrado que as antocianinas são responsáveis por propriedades terapêuticas importante como: atividade antioxidante, anticarcinogênica e anti-inflamatória, inibição da oxidação lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e uma diminuição na ocorrências de doenças cardiovasculares (SEERAM e NAIR, 2002; DE ROSSO e MERCADANTE, 2007b; WANG e XU, 2007). Todas essas características têm despertado o interesse de pesquisadores acerca do uso de antocianinas como corantes naturais.

Frutas vermelhas como o açaí e a jabuticaba apresentam-se como fontes viáveis na produção de corantes uma vez que apresentam elevados teores de antocianinas (TEIXEIRA et al., 2008), muitas vezes superiores ao de fontes comerciais, sendo portanto fontes promissoras destes pigmentos para a indústria de alimentos. Desta maneira, a adição de extratos de antocianinas dessas frutas como corantes e ingredientes funcionais em bebidas isotônicas é uma estratégia comercial, uma vez que o mercado destas bebidas está crescendo devido à procura de produtos mais saudáveis associadas à saúde e ao bem estar; e nutricional, já que meios isotônicos contribuem para uma rápida absorção gastrointestinal de nutrientes (CESARONE et al., 2008).

Entretanto, as antocianinas são pigmentos instáveis que podem facilmente ser convertidos em compostos sem cor. Essa instabilidade pode ser influenciada por

sua estrutura química, pH do meio, temperatura, luz, presença de oxigênio, degradação enzimática e interações entre os componentes dos alimentos, tais como ácido ascórbico, íons metálicos, açúcares e copigmentos (MALACRIDA e MOTTA, 2006). Deste modo, a indústria de alimentos está constantemente em busca de novas fontes de corantes naturais, que sejam mais estáveis e apresentem menor custo de produção.

Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a estabilidade de extratos de antocianinas de casca de jabuticaba e polpa de açaí, incorporados a bebidas isotônicas, quando expostas à três condições de estocagem: sob refrigeração, a 4°C, em presença e ausência de luz, a 25°C, ao longo de 63 dias de armazenamento.

## **II. MATERIAL E MÉTODOS**

As análises foram realizadas no Laboratório de Pigmentos Naturais e Compostos Bioativos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

### **1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE DOS RESULTADOS**

Os experimentos foram realizados em 3 repetições.

O experimento da estabilidade foi disposto em esquema de parcela subdividida sendo na parcela um esquema fatorial 2x3 (2 níveis de bebidas isotônicas: adicionadas de extrato de polpa de açaí e casca de jabuticaba, e 3 níveis de condições de estocagem: na presença e ausência de luz, ambas a 25°C, e sob refrigeração, a 4°C), e na subparcela, o tempo de estocagem (em nove níveis: 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 63 dias).

Medidas de correlação foram realizadas entre a atividade antioxidante e os compostos fenólicos.

No estudo de estabilidade das bebidas, foram plotadas as curvas das médias marginais de cada determinação versus tempo (dias), e uma análise de regressão linear foi utilizada para determinar a adequacidade do modelo cinético de degradação das antocianinas.

Os dados foram interpretados por análise de variância (ANOVA). Para os fatores qualitativos, foi aplicado teste de média (teste F ou de Tukey), ao nível de 5%



de probabilidade. As análises estatísticas foram implementadas no software SAS, (SAS Institute Inc., 2006) versão 9.2, licenciado para a UFV, 2012.

## **2 MATÉRIA PRIMA**

As jabuticabas (*Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg) cv 'sabará' foram colhidas no Distrito de Cachoeiro do Campo/MG, safra 2010/2011, equanto as polpas de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) foram adquiridas do estado do Pará. Os procedimentos de higienização e estocagem das matérias-primas estão descritas no item 2 do primeiro Capítulo.

## **3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS**

### **3.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS CONCENTRADOS DE ANTOCIANINAS DE CASCA DE JABUTICABA E POLPA DE AÇAÍ**

Os pigmentos foram extraídos segundo metodologia proposta por Silva (1996), conforme detalhado no item 7 do primeiro Capítulo.

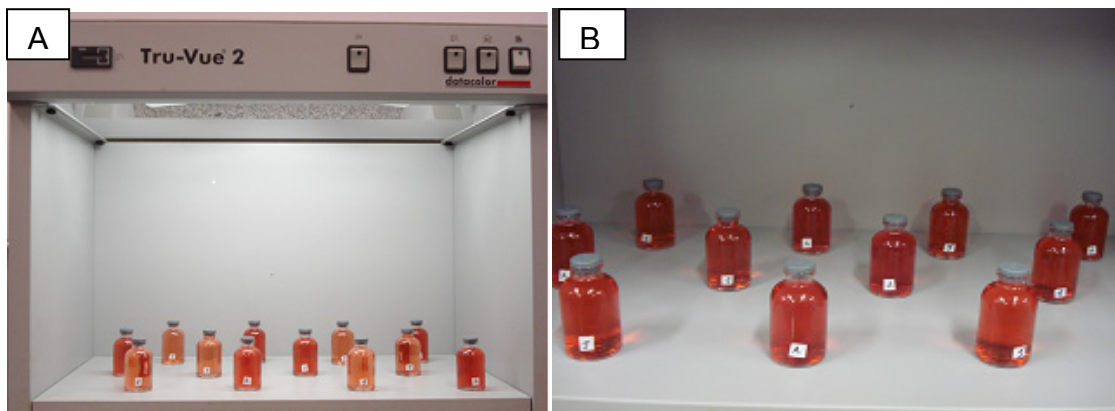
## **4 PREPARO DAS BEBIDAS ISOTÔNICAS**

Foram desenvolvidas, em laboratório, formulações "brancas" (isentas de corante) de bebidas isotônicas, cujos ingredientes foram: sacarose, monofostato de potássio, cloreto de sódio, sorbato de potássio como conservante, e aromatizante idêntico ao natural, no sabor morango e maracujá. Após o preparo das soluções "brancas" foram desenvolvidos 2 isotônicos com os extratos concentrados de antocianinas de polpa de açaí e casca de jabuticaba.

## **5 ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS BEBIDAS ISOTÔNICAS**

No estudo de estabilidade, frascos hermeticamente fechados contendo 15mL de bebidas isotônicas foram armazenados nas seguintes condições: em uma câmara de luz (TrueVue<sup>®</sup> 2, Data color), sob incidência de duas lâmpadas fluorescentes (correspondente à luz do dia), à temperatura de 25°C, em frascos transparentes; em ausência de luz, à temperatura de 25°C e em frascos âmbar; em temperatura de refrigeração (4 °C), em vidros âmbar. Amostras de bebida eram retiradas ao acaso dos frascos, no tempo zero (t<sub>0</sub>) e após 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 63 (t<sub>f</sub>) dias de estocagem, para determinação de antocianinas totais, fenólicos totais, cor e

atividade antioxidante. O percentual de degradação das antocianinas foi calculado a partir dos valores iniciais (tempo  $t_0$ ).



**Figura 2.1** – Disposição das amostras na câmara de luz fluorescente de 40 W (A) e no escuro (B).

## 5.1 CARACTERIZAÇÃO COLORIMÉTRICA

Foi realizada a caracterização da cor de cada bebida, nos tempos determinados, segundo detalhado no item 4 do primeiro Capítulo.

## 5.2 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

As análises de compostos fenólicos totais das bebidas isotônicas foram realizadas segundo metodologia citada por Singleton e Rossi (1965), conforme detalhando no item 5.3, do primeiro Capítulo.

## 5.3 ANTOCIANINAS TOTAIS

O teor de antocianinas totais das bebidas isotônicas foi determinado por espectrofotometria de acordo com Lees e Francis (1972), conforme detalhado no item 5.4 do primeiro Capítulo. Foi utilizado o Coeficiente de Extinção médio ( $\epsilon_{1\text{cm}}^{1\%}$ :  $98,2 \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ), que corresponde à cianidina-3-glicosídeo (FULEKI e FRANCIS, 1968).

### 5.3.1 Cinética de degradação de antocianinas

As medidas de absorvância das bebidas isotônicas diluídas nos diferentes métodos de quantificação de antocianinas foram utilizadas para construir gráficos do logaritmo neperiano da razão absorvância/absorvância inicial ( $\text{Ln } A/A_0$ ) versus

tempo, obtendo-se através da inclinação da reta o valor da constante de velocidade de degradação (kd). A partir dos valores obtidos de kd foram calculados os valores do tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) pela relação  $t_{1/2} = \ln 2 / kd$ , sendo usados como parâmetros para estimar a estabilidade em condições de exposição à luz e temperatura.

#### **5.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO ENSAIO DO CÁTION RADICAL ABTS**

A atividade antioxidante das bebidas isotônicas foi determinada pelo ensaio do cátion radical ABTS, segundo metodologia descrita por Re et al. (1999), com modificações, conforme descrito no item 6 do primeiro Capítulo.

### **III. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **1 ESTUDO DA ESTABILIDADE**

##### **1.1 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS**

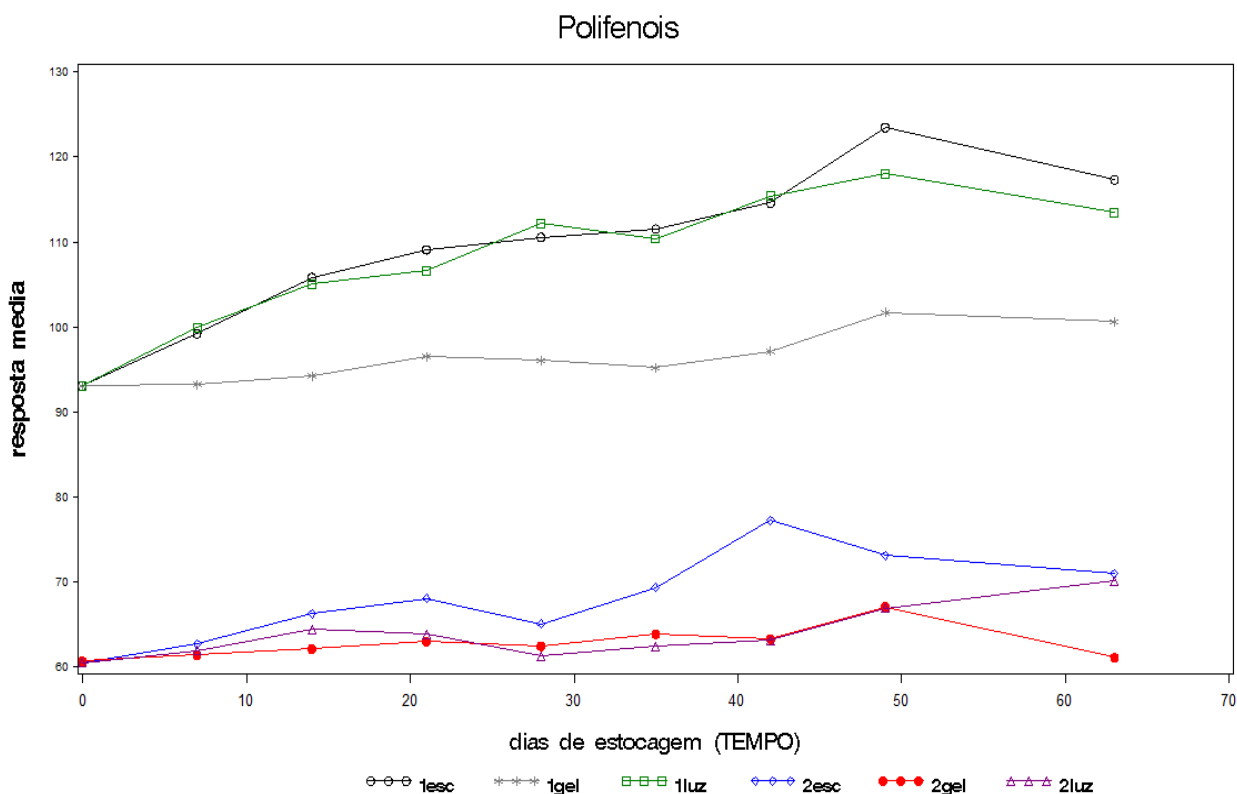
O conteúdo de fenólicos totais nas bebidas formuladas com extrato de cascas de jaboticabas frescas e polpa de açaí foi de 93,04mg GAE·L<sup>-1</sup> e 60,64mg GAE·L<sup>-1</sup>, respectivamente. Estupinã et al. (2011) caracterizaram bebidas isotônicas adicionadas de extratos em pó de antocianinas de Andes Berry (*Rubus glaucus Benth*) quanto a teores de fenólicos, encontrando valores que variaram entre 89,9 e 101,4mg AGE·L<sup>-1</sup> para amostra de bebida que continha maltodextrina (MFDA) e sem carreador, respectivamente. Na Tabela 2.1 tem-se o resumo da análise de variância para os compostos fenólicos no experimento de estabilidade.

**Tabela 2.1** – Resumo da análise de variância (ANOVA) para teor de fenólicos das bebidas isotônicas estocadas sob diferentes condições e tempo de armazenamento

<b>Fatores de variação</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
Tipo de bebida	1	64212.99	57280.2*
Condição de armazenamento	2	1200.25	1070.67*
Tipo de Bebida x Condição de armazenamento	2	413.84	369.17*
Erro a	12	1.12	-
Tempo	8	387.80	133.83*
Tempo x Tipo de bebida	8	75.67	26.12*
Tempo x Condição de armazenamento	16	41.80	14.43*
Tempo x Condição de armazenamento x Tipo de bebida	16	23.29	8.04*
Erro b	96	2.89	-

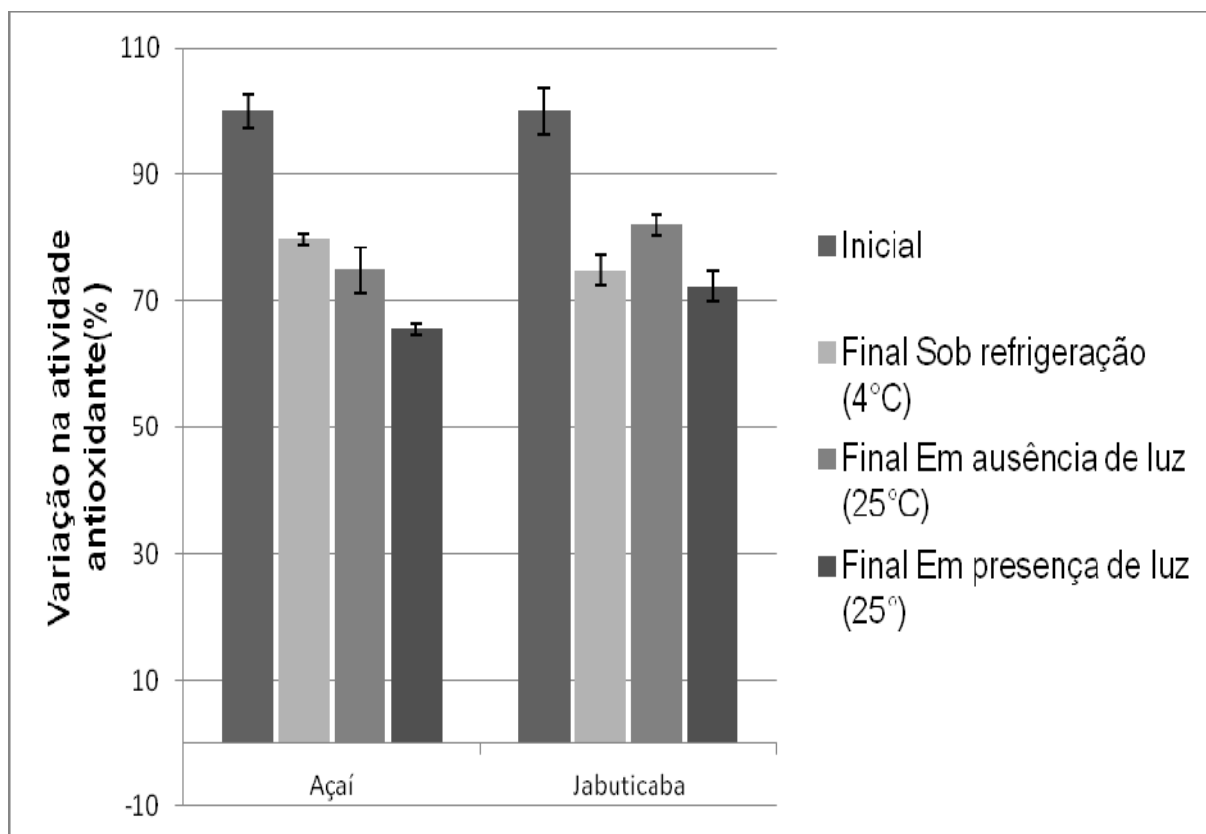
Valor da probabilidade do teste F. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Pela ANOVA (Tabela 2.1), observa-se que o teor de fenólicos foi significativamente ( $p < 0,05$ ) afetado pelo tipo de bebida, tempo, condições de armazenamento, bem como as interações entre eles. A Figura 2.2 representa a variação do teor de fenólicos sob diferentes condições e tempo de armazenamento.



**Figura 2.2** – Mudança nos teores de fenólicos ao longo do período de armazenamento. 1ESC = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba e armazenada em ausência de luz, a 25°C ; 1Gel = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba e armazenada em , sob refrigeração, a 4°C; 1Luz = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba e armazenada em presença de luz, a 25°C ; 2ESC = Bebida isotônica adicionada de extrato de açaí e armazenada em ausência de luz, a 25°C ; 2Gel = Bebida isotônica adicionada de extrato de açaí e armazenada em , sob refrigeração, a 4°C; 2Luz = Bebida isotônica adicionada de açaí e armazenada em presença de luz, a 25°C.

A variação percentual do teor de fenólicos para as bebidas isotônicas armazenadas sob refrigeração a 4°C (ao abrigo de luz), em ausência e presença de luz, a 25°C, estão apresentadas na Figura 2.3.



**Figura 2.3** – Variação percentual no teor de fenólicos entre o tempo inicial e final (63 dias de armazenamento), para as bebidas isotônicas formuladas com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, sob diferentes condições de estocagem.

Foi possível observar que as bebidas formuladas com extrato de casca de jabuticaba apresentaram aumento significativo no teor de compostos fenólicos ( $p < 0,05$ ) em relação às bebidas com extrato de polpa de açaí, em todas as condições de armazenamento.

Nas bebidas formuladas com extrato de casca de jabuticaba e armazenadas sob refrigeração, a 4°C, não houve degradação nos teores de fenólicos ao longo dos 63 dias de estocagem; entretanto, esta condição diferiu significativamente das demais (ausência de luz e presença de luz, a temperatura ambiente (25°C)), em que o aumento foi de 26,14% e 21,94%, respectivamente (Figura 2.3).

Este aumento nos teores de fenólicos já foi observado por autores como Laine et al. (2008), em um estudo acerca do efeito da adição de maltodextrina na estabilidade de compostos fenólicos de “*cloudberry*” durante armazenamento. Estes autores observaram que havia uma diminuição nos teores de fenólicos nos extratos de corantes não microencapsulados, devido a reações de hidrólise, oxidação e

polimerização. Entretanto, ao adicionar a maltodextrina, o teor destes compostos aumentou ao longo do tempo de armazenamento. Teores de fenólicos totais em “*raspberries*” frescas aumentaram em 1,5 durante o armazenamento a 20 °C, por 8 dias (KALT et al., 1999). Nohynek et al. (2006) mostraram que o teor de fenólicos em “*cloudberries*” congeladas aumentou durante os 12 meses de armazenamento. Esses autores explicam que esse aumento inesperado no teor de fenólicos pode ser devido à mudanças estruturais nas moléculas dos compostos fenólicos, como a copigmentação.

Já para a bebida formulada com extrato de polpa de açaí, sob refrigeração (4°C), o teor de fenólicos se manteve constante ao longo do experimento, havendo um aumento de 16% no final do experimento nas bebidas estocadas em presença e ausência de luz, a temperatura ambiente (25°C) (Figura 2.3).

## 1.2 ANTOCIANINAS TOTAIS

As amostras de bebida formuladas com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí apresentaram teor de antocianinas de 9,44mg·L<sup>-1</sup> e 9,06mg·L<sup>-1</sup>, expressos em cianidina-3-glicosídeo. Teores superiores foram encontrados por Burin et al. (2011), ao avaliar teores de antocianinas em bebidas isotônicas formuladas com extrato em pó de uva Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera L.*), encontrando teores aproximados de 25,11mg ·L<sup>-1</sup> para a amostra cujo corante havia sido microencapsulado com carreador maltodextrina, e 44,66mg·L<sup>-1</sup> para bebida formulada com corante em pó microencapsulado com carreador maltodextrina e ciclodextrina.

Na Tabela 2.2 encontra-se o resumo da análise de variância (ANOVA) para os teores de antocianinas nas bebidas isotônicas.

**Tabela 2.2** – Resumo da análise de variância (ANOVA) para teor de antocianinas das bebidas isotônicas estocadas sob diferentes condições e tempo de armazenamento

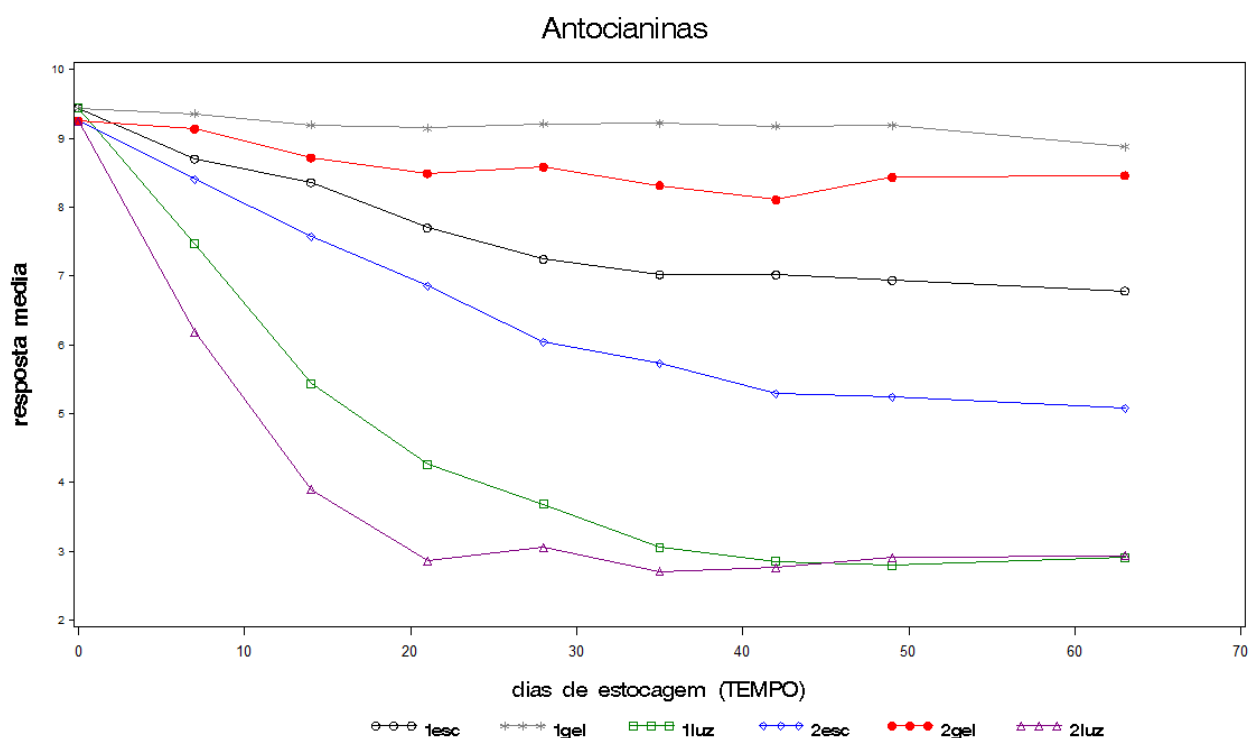
<b>Fatores de variação</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
Tipo de bebida	1	23.11	1080.99*
Condição de armazenamento	2	568.60	13295.9*
Tipo de bebida x Condição de armazenamento	2	2.14	50.16*
Erro a	12	0.02	-
Tempo	8	27.29	1272.57*
Tempo x Tipo de bebida	8	0.27	12.76*
Tempo x Condição de armazenamento	16	6.61	308.24*
Tempo x Condição de armazenamento x Tipo de bebida	16	0.50	23.67*
Erro b	96	0.02	-

Valor da probabilidade do teste F. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Pode-se perceber que as condições e o tempo de armazenamento, bem como o tipo de bebida influenciaram significativamente ( $p < 0,05$ ) no teor de antocianinas, como pode ser visto pelo resultado da ANOVA (Tabela 2.2).

A Figura 2.4 mostra a mudança nos teores de antocianinas para as bebidas isotônicas formuladas com extrato de polpa de açaí e casca de jabuticaba, ao longo do tempo de armazenamento de 63 dias, para as condições estudadas.





**Figura 2.4** – Variação nos teores de antocianinas ao longo do período de armazenamento. 1ESC = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba e armazenada em ausência de luz, a 25°C ; 1Gel = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba e armazenada em , sob refrigeração, a 4°C; 1Luz = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba e armazenada em presença de luz, a 25°C ; 2ESC = Bebida isotônica adicionada de extrato de açaí e armazenada em ausência de luz, a 25°C ; 2Gel = Bebida isotônica adicionada de extrato de açaí e armazenada em , sob refrigeração, a 4°C; 2Luz = Bebida isotônica adicionada de açaí e armazenada em presença de luz, a 25°C.

Para ambas as formulações (adicionadas de extrato de polpa de açaí e casca de jabuticaba), a perda de antocianina para cada condição de armazenamento foi ajustada a um modelo de cinética de degradação de primeira ordem, permitindo o cálculo da constante de degradação ( $k_d$ ) e tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) (Tabela 2.3). Este comportamento já foi relatado por outros autores, como De Rosso et al. (2007b) em estudos de estabilidade com bebidas isotônicas formuladas com extrato de antocianinas em pó de acerola e açaí; e Burin et al. (2007), ao estudar a estabilidade de antocianinas microencapsuladas adicionadas em bebidas isotônicas. É

importante ressaltar que estes resultados foram semelhantes, mesmo utilizando extrato em pó.

**Tabela 2.3** - Valores para constante de degradação ( $k_{obs}$ ), tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e % de degradação das antocianinas das bebidas isotônicas, sob diferentes condições de armazenamento, durante os 63 dias de estocagem

Tipo de Bebida	Condições de Armazenagem	$k_{obs}$ ( $h^{-1}$ )*	$t_{1/2}$ (h)*	% de degradação das antocianinas
<b>Polpa de Açaí</b>	Refrigeração (4°C)	$1,63 \times 10^{-3e}$	481,72 <sup>b</sup>	8,59
	Ausência de luz (25°C)	$1,03 \times 10^{-2c}$	67,67 <sup>c</sup>	45,09
	Presença de Luz (25°C)	$4,27 \times 10^{-2a}$	16,24 <sup>c</sup>	68,31
<b>Casca de Jabuticaba</b>	Refrigeração (4°C)	$7,67 \times 10^{-4e}$	907,69 <sup>a</sup>	5,91
	Ausência de luz (25°C)	$5,33 \times 10^{-3d}$	130,03 <sup>c</sup>	28,14
	Presença de Luz (25°C)	$2,00 \times 10^{-2b}$	34,66 <sup>c</sup>	69,19

\*Os valores representam a média de 3 repetições. Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

A temperatura e a luz contribuíram significativamente ( $p < 0,05$ ) para reduzir o conteúdo de antocianinas de açaí e jabuticaba durante o armazenamento, tendo em vista que os valores de  $k_{obs}$  das bebidas estocadas a temperatura ambiente (25°C) foram 6,31 e 6,94 vezes maiores que das bebidas estocadas sob refrigeração (4°C) (Tabela 2.3). Em presença de luz, os valores de  $k_{obs}$  das bebidas isotônica de açaí e jabuticaba foram 26.19 e 26.07 vezes maiores que os valores obtidos para as mesmas bebidas estocadas ao abrigo da mesma, respectivamente.

É conhecido que as antocianinas são rapidamente destruídas pelo calor durante o processamento e estocagem dos alimentos. Os mecanismos de degradação térmica estão relacionados com a clivagem do anel heterocíclico da pseudo-base com formação da chalcona, e posterior formação de produtos derivados de coloração marrom. A luz, por sua vez, exerce efeito duplo sobre as antocianinas: favorece sua biossíntese durante o desenvolvimento da planta, mas acelera sua degradação após a colheita (SCHWARTZ et al., 2010).

Pelos valores de  $t_{1/2}$  encontrados, observou-se que a estabilidade das antocianinas da casca de jabuticaba foi aproximadamente 2 vezes maior que as da

polpa de açaí, em todas as condições estudadas. Isso pode ter ocorrido devido ao maior teor de fenólicos encontrado na bebida formulada com extrato de casca de jabuticaba e que se manteve constante ao longo do tempo de armazenamento, que pode ter tido efeito protetor nas antocianinas desta fruta (De ROSSO e MERCADANTE, 2007a). Além disso, a polpa de açaí avaliada neste estudo havia sido previamente processada e transportada. Com isso, pode ter ocorrido formação de compostos de degradação pela oxidação da fração lipídica desta polpa, que exerceram efeito negativo sobre as antocianinas.

Entretanto, pode-se perceber que a degradação de ambas as antocianinas foi percentualmente similar quando comparados às condições de armazenagem. Isso se deve ao fato dessas duas fontes conterem majoritariamente a mesma antocianidina, cianidina-3-glicosídeo (LEITE et al., 2011; GALLORI et al., 2004), permitindo comportamento similar de degradação. A taxa de degradação de ambas antocianinas foi maior quando expostas à luz a 25°C (% de antocianinas perdidas de 68,31 e 69,19 para a bebida formulada com extrato de polpa de açaí e casca de jabuticaba, respectivamente) que ao abrigo da luz a (25°C) (% de antocianinas perdidas de 45,09 e 28,14 para a bebida formulada com extrato de polpa de açaí e casca de jabuticaba, respectivamente) e sob refrigeração (4°C) (% de antocianinas perdidas de 8,59 e 5,91 para a bebida formulada com extrato de polpa de açaí e casca de jabuticaba, respectivamente (Tabela 2.3).

### 1.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

As bebidas adicionadas de extrato de casca de Jabuticaba e polpa de açaí apresentaram atividade antioxidante  $0,84\mu\text{M Trolox}\cdot\text{mL}^{-1}$  e  $0,41\mu\text{M Trolox}\cdot\text{mL}^{-1}$ , respectivamente. Estupinã et al. (2011) avaliaram a atividade antioxidante de bebidas isotônicas adicionadas de extratos em pó de antocianinas de Andes Berry (*Rubus glaucus Benth*) encontraram valores que variaram entre  $0,58\mu\text{M Trolox}\cdot\text{mL}^{-1}$  a  $0,99\mu\text{M Trolox}\cdot\text{mL}^{-1}$ , para amostras de bebida cujo extrato em pó não continha agente carreador e um que havia sido microencapsulada com maltodextrina (MFDA), respectivamente.

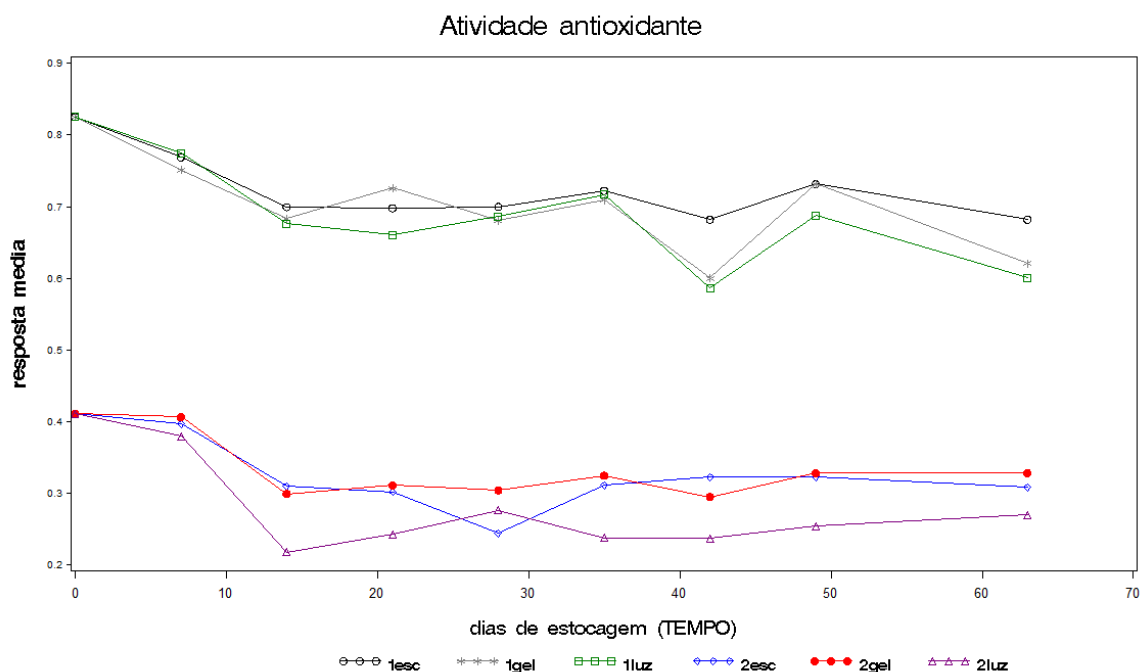
Pela ANOVA (Tabela 2.4), observa-se que os fatores tipo de bebida, tempo, condição de estocagem bem como a interação entre esses fatores afetaram significativamente ( $p<0,05$ ) a atividade antioxidante das bebidas. A Figura 2.5

representa a alteração na atividade antioxidante nas bebidas isotônicas formuladas com extratos antociânicos de casca de jabuticaba e polpa de açaí, sob diferentes condições e tempo de armazenamento.

**Tabela 2.4** – Resumo da análise de variância (ANOVA) para atividade antioxidante das bebidas isotônicas estocadas sob diferentes condições e tempo de armazenamento

Fatores de variação	GL	QM	F
Tipo de bebida	1	6.24	8212.3*
Condição de armazenamento	2	0.024	31.15*
Tipo de bebidaxCondição de armazenamento	2	0.005	7.84*
Erro a	12	0.007	-
Tempo	8	0.052	187.10*
TempoxTipo de bebida	8	0.0057	20.28*
TempoxCondição de armazenamento	16	0.0021	7.72*
TempoxCondição de armazenamento x Tipo de bebida	16	0.00097	3.46*
Erro b	96	0.00028	-

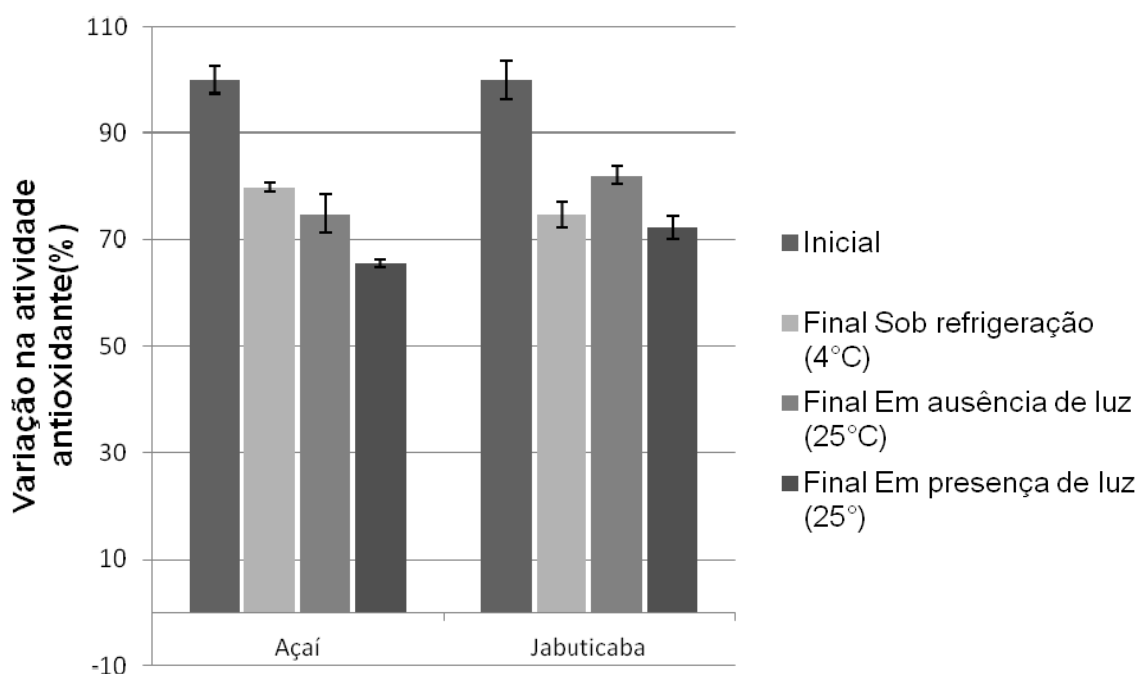
Valor da probabilidade do teste F. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade.



**Figura 2.5** – Mudança na atividade antioxidante ao longo do período de armazenamento. 1ESC = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de

jabuticaba e armazenada em ausência de luz, a 25°C ; 1Gel = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba e armazenada em , sob refrigeração, a 4°C; 1Luz = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba e armazenada em presença de luz, a 25°C ; 2ESC = Bebida isotônica adicionada de extrato de açaí e armazenada em ausência de luz, a 25°C ; 2Gel = Bebida isotônica adicionada de extrato de açaí e armazenada em , sob refrigeração, a 4°C; 2Luz = Bebida isotônica adicionada de açaí e armazenada em presença de luz, a 25°C.

A variação percentual da atividade antioxidante para as bebidas isotônicas armazenadas sob refrigeração (a 4°C), em ausência e presença de luz (a 25°C), esta representada na Figura 2.6.



**Figura 2.6** – Variação percentual na atividade antioxidante entre o tempo inicial e final (63 dias de armazenamento), para as bebidas isotônicas formuladas com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, sob diferentes condições de estocagem.

Pode-se perceber que, para todas as condições de armazenamento, as bebidas formuladas com extrato de casca de jabuticaba apresentaram uma pequena queda na atividade antioxidante ao longo do período de armazenamento. A amostra armazenada sob refrigeração (4°C) apresentou menor queda ao longo do tempo, de 18%, enquanto que na presença de luz a temperatura ambiente (25°C), a queda da atividade anti-radical foi maior, de 27,7% (Figura 2.6). Entretanto, é possível perceber que a atividade antioxidante da bebida adicionada de extrato de casca de jabuticaba oscilou bastante em todas as condições de armazenamento estudadas, possivelmente, devido à formação de novos compostos fenólicos que contribuíam para a manutenção da atividade antioxidante desta bebida. Estes resultados de atividade antioxidante não refletem adequadamente os resultados obtidos quanto aos compostos fenólicos no período estudado, no qual, como pode ser observado na Figura 2.2 e 2.3, os teores de fenólicos aumentaram durante o tempo de estocagem. Provavelmente o método utilizado para determinação da atividade antioxidante não conseguiu capturar os compostos fenólicos formados durante o armazenamento.

Já na bebida isotônica formulada com extrato de polpa de açaí, pode-se perceber o efeito deletério da luz na atividade anti-radical dessa bebida, com perda de 48,78% da atividade antioxidante já nos primeiros 14 dias de experimento. Já ao abrigo de luz à temperatura ambiente (25°C) e sob refrigeração (4°C), houve uma queda de 24,4% de atividade anti-radical nos primeiros 14 dias de experimento, sendo que em seguida essa atividade se manteve praticamente constante. Ao final, a atividade antioxidante foi maior para as amostras que estavam sob refrigeração (4°C) e ao abrigo de luz a 25°C (Figura 2.6).

Durante o período de armazenamento, a atividade antioxidante correlacionou-se positivamente com os teores de fenólicos totais ( $R= 0,86-0,92$ ) para todos os tratamentos, demonstrando maior contribuição desses compostos que de antocianinas ( $R= 0,54-0,81$ ), determinados pela correlação entre a atividade antioxidante e os teores de fitoquímicos (Tabela 2.5).

**Tabela 2.5** – Correlação entre a atividade antioxidante e o teor de fitoquímicos presentes nas bebidas formuladas com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, determinada pelos coeficientes de correlação de Pearson.

	<b>Coefficiente de correlação de Pearson</b>		
	Presença de luz, a temperatura ambiente (25°C)	Ausência de luz, a temperatura ambiente (25°C)	Ausência de luz, sob refrigeração (4°C)
Fenólicos totais	0,86	0,87	0,92
Antocianinas	0,81	0,54	0,79

Esses resultados também foram observados por Kuskoski et al. (2005), que verificaram correlação positiva para componentes fenólicos e antociânicos e a capacidade antioxidante em polpas de frutas; e Sousa et al. (2007), que encontraram correlação positiva entre os teores de fenólicos totais e atividade antioxidante de 6 frutas do Nordeste Brasileiro.

#### **1.4 CARACTERIZAÇÃO COLORIMÉTRICA**

As mudanças dos parâmetros de cor entre o tempo inicial ( $t_0$ ) e o tempo final ( $t_f$ ) para as bebidas formuladas com extrato de antocianina de casca de jabuticaba e polpa de açaí estão representadas na Tabela 2.6. Pelas coordenadas de cor observadas e calculadas a partir dos valores de  $a^*$  e  $b^*$  no início deste experimento, tem-se que ambas as bebidas se encontravam dentro do primeiro quadrante (Figura 10), com valores positivos de  $a^*$  e  $b^*$ , ou seja, entre as cores vermelha e amarela, respectivamente, com bastante luminosidade (valor elevado de  $L^*$ ); elevados valores de  $C^*$ , que indicavam que as amostras de bebidas possuíam cores puras e intensas; e pequenos valores de  $h^*$ , que indicava que as duas bebidas apresentavam tonalidades que tendia ao vermelho. Isso demonstra que os resultados aqui encontrados relacionam-se com o pigmento antociânico presente.

**Tabela 2.6** – Variação nas coordenadas cor das bebidas isotônicas formuladas com extrato de antocianinas de casca de jabuticaba e polpa de açaí, durante 63 dias de estocagem\*.

Tipo de Bebida / Condição de armazenamento	Dias	Luminosidade (L*)	Chroma (C*)	Tonalidade (h*)	Diferença Global de cor ( $\Delta E^*$ )
JAB / GEL	0	51,93 ± 0,11	37,77 ± 0,50	1,18 ± 0,07	1,40 ± 0,08
	63	52,64 ± 0,75	36,14 ± 0,65	1,17 ± 9,1x10 <sup>-3</sup>	
JAB / ESC	0	51,93 ± 0,11	37,77 ± 0,50	1,18 ± 0,07	5,41 ± 0,16
	63	53,18 ± 1,54	32,12 ± 0,55	1,16 ± 7,5x10 <sup>-3</sup>	
JAB / LUZ	0	51,93 ± 0,11	37,77 ± 0,50	1,18 ± 0,07	18,12 ± 0,27
	63	58,26 ± 1,39	21,40 ± 1,01	1,07 ± 7,2x10 <sup>-3</sup>	
ACA / GEL	0	46,27 ± 0,62	30,72 ± 1,01	1,27 ± 2,4x10 <sup>-2</sup>	2,13 ± 7,1x10 <sup>-3</sup>
	63	48,09 ± 0,99	29,87 ± 2,49	1,25 ± 0,01	
ACA / ESC	0	46,27 ± 0,62	30,72 ± 1,01	1,27 ± 2,4x10 <sup>-2</sup>	7,88 ± 0,11
	63	50,44 ± 0,95	27,04 ± 2,06	1,06 ± 4,2x10 <sup>-3</sup>	
ACA / LUZ	0	46,27 ± 0,62	30,72 ± 1,01	1,27 ± 2,4x10 <sup>-2</sup>	16,31 ± 0,16
	63	55,87 ± 0,82	21,33 ± 1,49	0,87 ± 0,02	

\* Os valores apresentados representam as médias das três repetições ± desvio padrão. JAB/ GEL: Bebida adicionada de extrato de casca de jabuticaba na condição de armazenamento de refrigeração (4°C). JAB/ ESC: Bebida adicionada de extrato de casca de jabuticaba na condição de armazenamento em ausência de luz (25°C). JAB/ LUZ: Bebida adicionada de extrato de casca de jabuticaba na condição de armazenamento em presença de luz (25°C). ACA/ GEL: Bebida adicionada de extrato de polpa de açaí na condição de armazenamento de refrigeração (4°C). ACA/ ESC: Bebida adicionada de extrato polpa de açaí na condição de armazenamento em ausência de luz (25°C). ACA/ LUZ: Bebida adicionada de extrato de polpa de açaí na condição de armazenamento em presença de luz (25°C).

Em um processo degradativo ao longo do tempo, as antocianinas podem sofrer duas mudanças básicas quanto a sua coloração: a cor pode tornar-se gradativamente menos intensa, pela perda de saturação, e/ou mudar de tonalidade, pela formação de compostos de degradação, resultando em cores diferentes da original (CONSTANT, 2003). Assim, é importante considerar tanto as variações de c\* (saturação), h\* (tonalidade), bem como o  $\Delta E$ , que indica a variação da cor ao longo tempo.

A Tabela 2.7 representa o resumo da análise de variância (ANOVA) para a coordenada L\*.

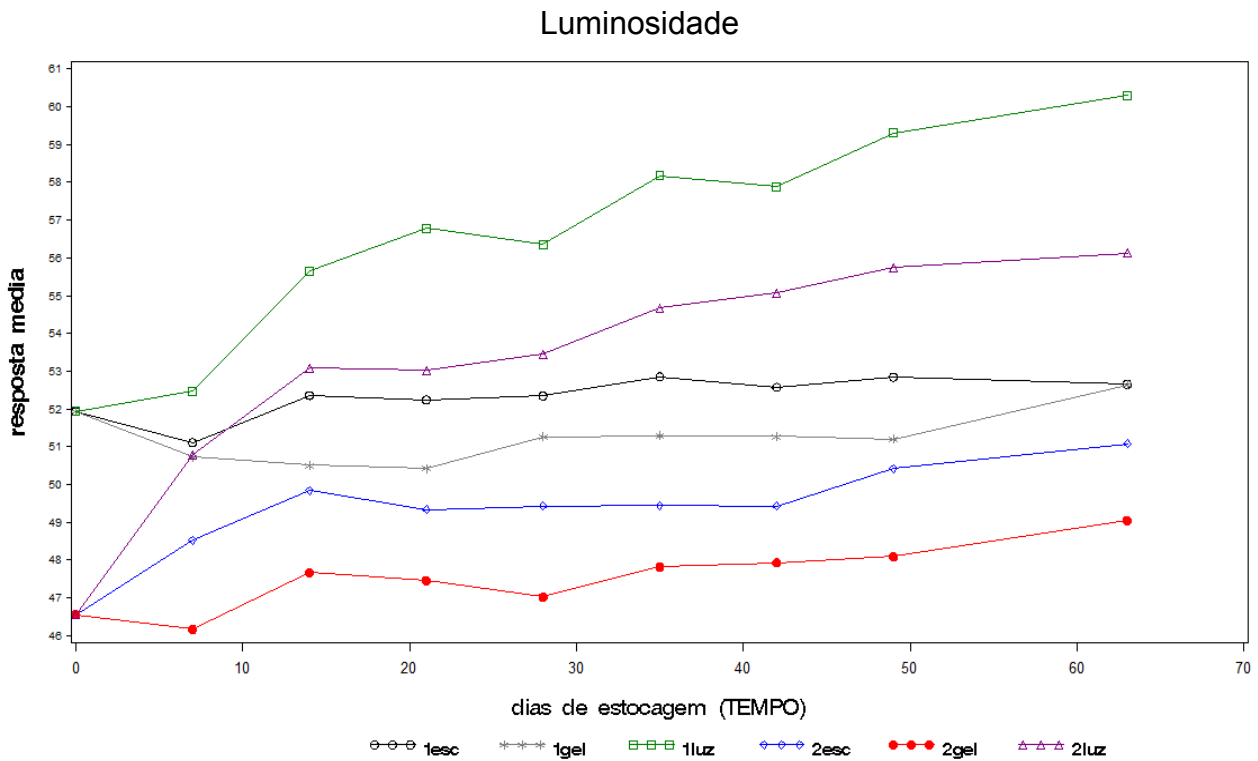


**Tabela 2.7** – Resumo da análise de variância (ANOVA) para determinação da coordenada L\* (Luminosidade). das bebidas isotônicas estocadas sob diferentes condições e tempo de armazenamento

<b>Fatores de variação</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
Tipo de bebida	1	457.55	12570.6*
Condição de armazenamento	2	433.28	11903.9*
Tipo de bebida x Condição de armazenamento	2	1.84	50.48*
Erro a	12	0.036	-
Tempo	8	34.37	455.31*
Tempo x Tipo de bebida	8	2.82	37.41*
Tempo x Condição de armazenamento	16	10.76	142.55*
Tempo x Condição de armazenamento x Tipo de bebida	16	0.756	10.02*
Erro b	96	0.075	-

Valor da probabilidade do teste F. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Pela ANOVA, observa-se que os fatores tipo de bebida, tempo, condição de estocagem bem como a interação entre esses fatores influenciaram significativamente, ao nível de 5% de probabilidade, o parâmetro de cor L. A figura 2.7 representa a variação na coordenada L das bebidas formuladas com extratos de antocianinas de casca de jabuticaba e polpa de açaí sob diferentes condições de armazenamento e tempo de estocagem.



**Figura 2.7** – Comportamento de  $L^*$  (Luminosidade) das bebidas isotônicas formulada com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, em diferentes condições de armazenamento 1ESC = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba e armazenada em ausência de luz, a 25°C ; 1Gel = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba e armazenada em , sob refrigeração, a 4°C; 1Luz = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba e armazenada em presença de luz, a 25°C ; 2ESC = Bebida isotônica adicionada de extrato de açaí e armazenada em ausência de luz, a 25°C ; 2Gel = Bebida isotônica adicionada de extrato de açaí e armazenada em , sob refrigeração, a 4°C; 2Luz = Bebida isotônica adicionada de açaí e armazenada em presença de luz, a 25°C.

As duas bebidas formuladas com extrato de antocianinas apresentaram aumento na luminosidade ao longo do tempo de estocagem. Esse aumento foi maior na presença de luz a 25°C, para ambas as bebidas (8 unidades para a bebida formulada com extrato de casca de jabuticaba, e 10 unidades para a amostra de bebida de açaí) (Figura 2.7). A condição de refrigeração a 4 °C produziu o menor aumento desse parâmetro para ambas as bebidas (1,5 unidades para a bebida com

extrato de casca de jabuticaba, e 3 unidades para a bebida de açaí). Aumentos no parâmetro de luminosidade já foram reportados por outros autores, como Estupinã et al. (2011), em estudo de estabilidade de bebida isotônica adicionada de extrato em pó antocianico de “*Andes Berry*” e Cevallos-casals e Cisneros-zevallos (2004) com milho roxo e batata doce de polpa vermelha, indicando que há uma descoloração devido à degradação das antocianinas.

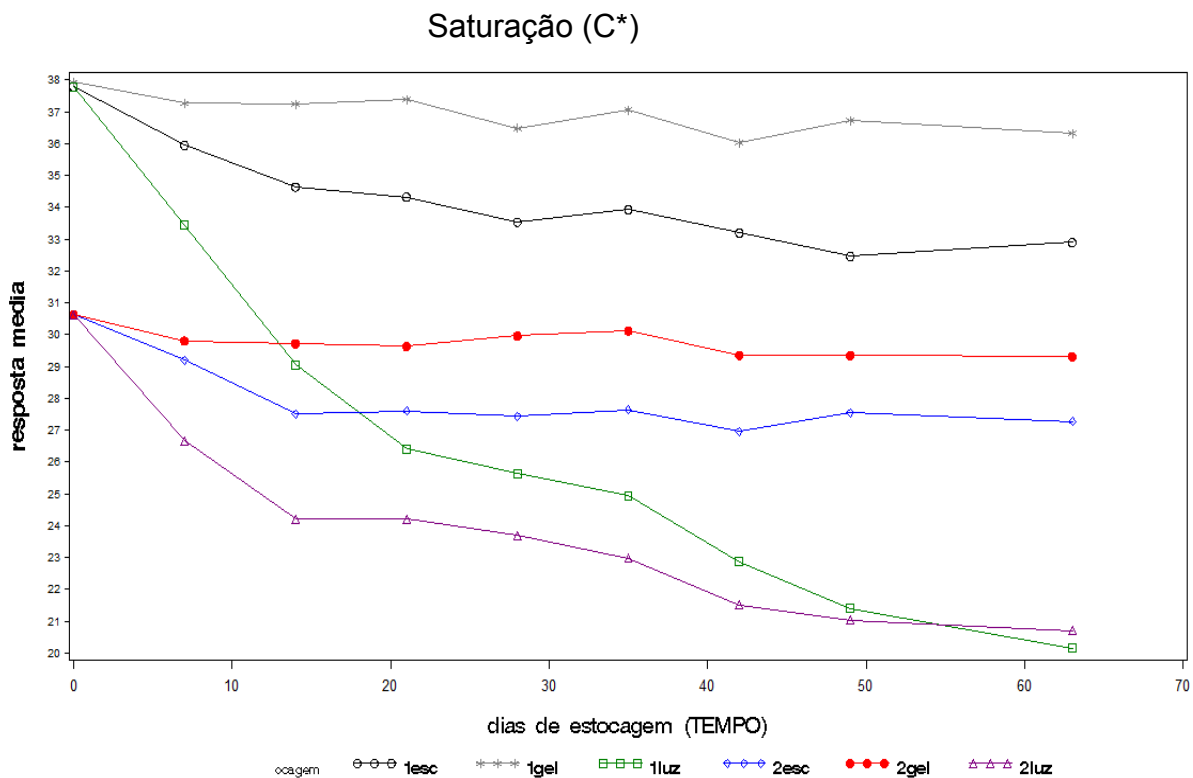
A Tabela 2.8 mostra o resumo da análise de variância (ANOVA) para a coordenada C\* (saturação).

**Tabela 2.8** – Resumo da análise de variância (ANOVA) para determinação da coordenada C\* (Saturação) das bebidas isotônicas estocadas sob diferentes condições e tempo de armazenamento

Fatores de variação	GL	QM	F
Tipo de bebida	1	1209.46	35569.6*
Condição de armazenamento	2	908.15	40224.1*
Tipo de bebida x Condição de armazenamento	2	69.16	3067.91*
Erro a	12	0.022	-
Tempo	8	77.33	3883.32*
Tempo x Tipo de bebida	8	6.22	312.48*
Tempo x Condição de armazenamento	16	26.41	1326.68*
Tempo x Condição de armazenamento x Tipo de bebida	16	3.01	151.39*
Erro b	96	0.0199	-

Valor da probabilidade do teste F. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Pode-se observar que todos os fatores (tipo de bebida, tempo, condições de estocagem e interação entre eles) influenciaram significativamente na variação do parâmetro de cor C\*, ao nível de 5% de probabilidade. A figura 2.8 representa a variação na coordenada C\* das bebidas formuladas com extratos de antocianinas de casca de jabuticaba e polpa de açaí sob diferentes condições de armazenamento e tempo de estocagem.



**Figura 2.8** – Comportamento de C\* (saturação) das bebidas isotônicas formulada com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, em diferentes condições de armazenamento. 1ESC = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba e armazenada em ausência de luz, a 25°C ; 1Gel = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba e armazenada em , sob refrigeração, a 4°C; 1Luz = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba e armazenada em presença de luz, a 25°C ; 2ESC = Bebida isotônica adicionada de extrato de açaí e armazenada em ausência de luz, a 25°C ; 2Gel = Bebida isotônica adicionada de extrato de açaí e armazenada em , sob refrigeração, a 4°C; 2Luz = Bebida isotônica adicionada de açaí e armazenada em presença de luz, a 25°C.

Os valores de saturação (C\*) diminuíram ao longo do período de armazenamento, tanto para a bebida formulada com extrato de casca de jabuticaba como de polpa de açaí, em todas as condições avaliadas. Esta diminuição foi mais acentuada na presença de luz, à 25°C (16,3 e 9,39 unidades para bebida com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, respectivamente), o que evidencia o efeito deletério da luz nas antocianinas. Sob refrigeração (4°C), foi possível perceber que houve pequena alteração nesta mesma coordenada colorimétrica, de 1,42 e

0,85 unidades, para bebidas formuladas com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, respectivamente (Figura 2.8). Estes resultados indicam que, em ambas as bebidas isotônicas formuladas neste trabalho, houve uma diminuição na intensidade da coloração vermelha (diminuição dos valores de C\*) como consequência da perda de antocianinas e formação de compostos de degradação como a pseudobase incolor ou carbinol (CEVALLOS-CASALS e CISNEROS-ZEVALLOS, 2004).

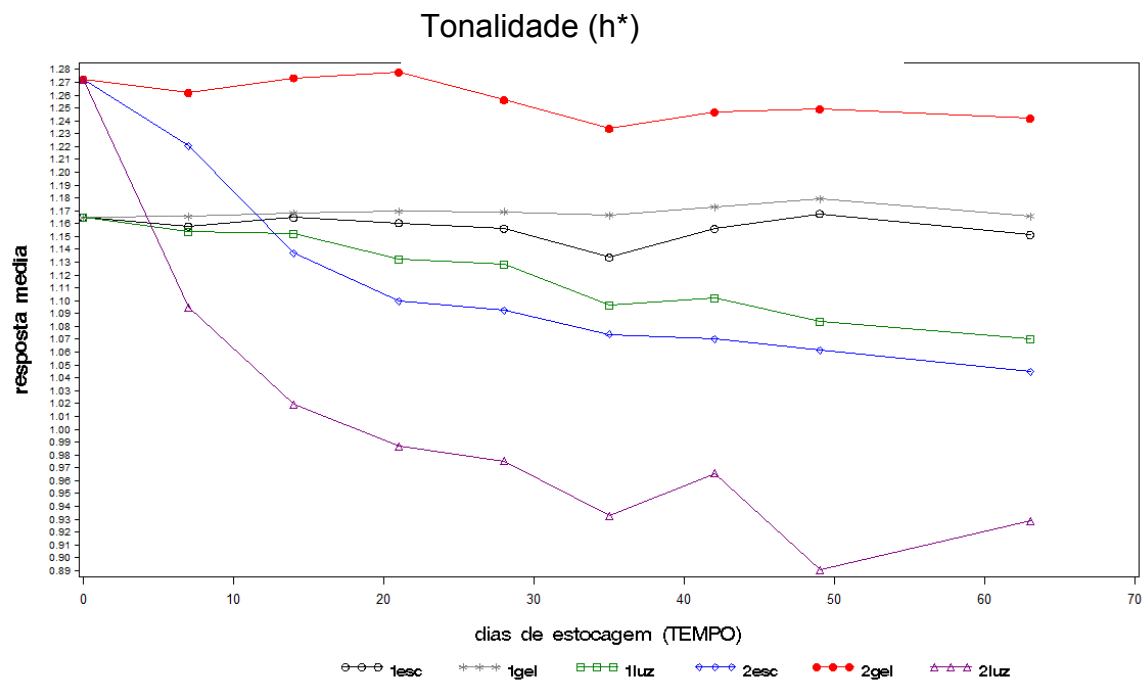
A Tabela 2.9 mostra o resumo da análise de variância (ANOVA) para a coordenada h\*.

**Tabela 2.9** – Resumo da análise de variância (ANOVA) para determinação da coordenada h\* (Tonalidade) das bebidas isotônicas estocadas sob diferentes condições e tempo de armazenamento

<b>Fatores de variação</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
Tipo de bebida	1	0.018	769.05*
Condição de armazenamento	2	0.30	12851.8*
Tipo de bebidaxCondição de armazenamento	2	0.13	5954.91*
Erro a	12	0.00	-
Tempo	8	0.027	997.82*
TempoxTipo de bebida	8	0.014	544.21*
TempoxCondição de armazenamento	16	0.0072	267.24*
TempoxCondição de armazenamentoxTipo de bebida	16	0.0031	114.18*
Erro b	96	0.00	-

Valor da probabilidade do teste F. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Pela ANOVA, observa-se que os fatores tipo de bebida, tempo, condição de estocagem bem como a interação entre esses fatores, foram significativos ao nível de 5% de probabilidade. A figura 2.9 representa a variação na coordenada h\* das bebidas formuladas com extratos de antocianinas de casca de jabuticaba e polpa de açaí sob diferentes condições de armazenamento e tempo de estocagem.



**Figura 2.9** – Comportamento de  $h^*$  (tonalidade) das bebidas isotônicas formulada com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, em diferentes condições de armazenamento. 1ESC = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba e armazenada em ausência de luz, a 25°C ; 1Gel = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba e armazenada em , sob refrigeração, a 4°C; 1Luz = Bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba e armazenada em presença de luz, a 25°C ; 2ESC = Bebida isotônica adicionada de extrato de açaí e armazenada em ausência de luz, a 25°C ; 2Gel = Bebida isotônica adicionada de extrato de açaí e armazenada em , sob refrigeração, a 4°C; 2Luz = Bebida isotônica adicionada de açaí e armazenada em presença de luz, a 25°C.

A tonalidade (ângulo  $h^*$ ) é o parâmetro que traduz a cor propriamente dita. Houve uma diminuição nos parâmetros de tonalidade ( $h^*$ ) para ambas as bebidas, principalmente quando estocadas em presença de Luz (25°C) (0,11 e 0,4 unidades para as bebidas formuladas com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, respectivamente). Entretanto, para a bebida formulada com extrato de casca de jabuticaba, pode-se observar que a condição de estocagem ao abrigo de luz a 25°C exerceu pouca influência no parâmetro  $h^*$  (0,02 unidades) quando comparado à bebida de açaí (0,21 unidades) mostrando que a bebida com extrato de casca de jabuticaba manteve a tonalidade de vermelho ao longo do tempo, mesmo

armazenado em presença de luz. Sob refrigeração (4°C), ambas as fontes de antocianinas mantiveram a tonalidade de cor constante ao longo do tempo (Figura 2.9).

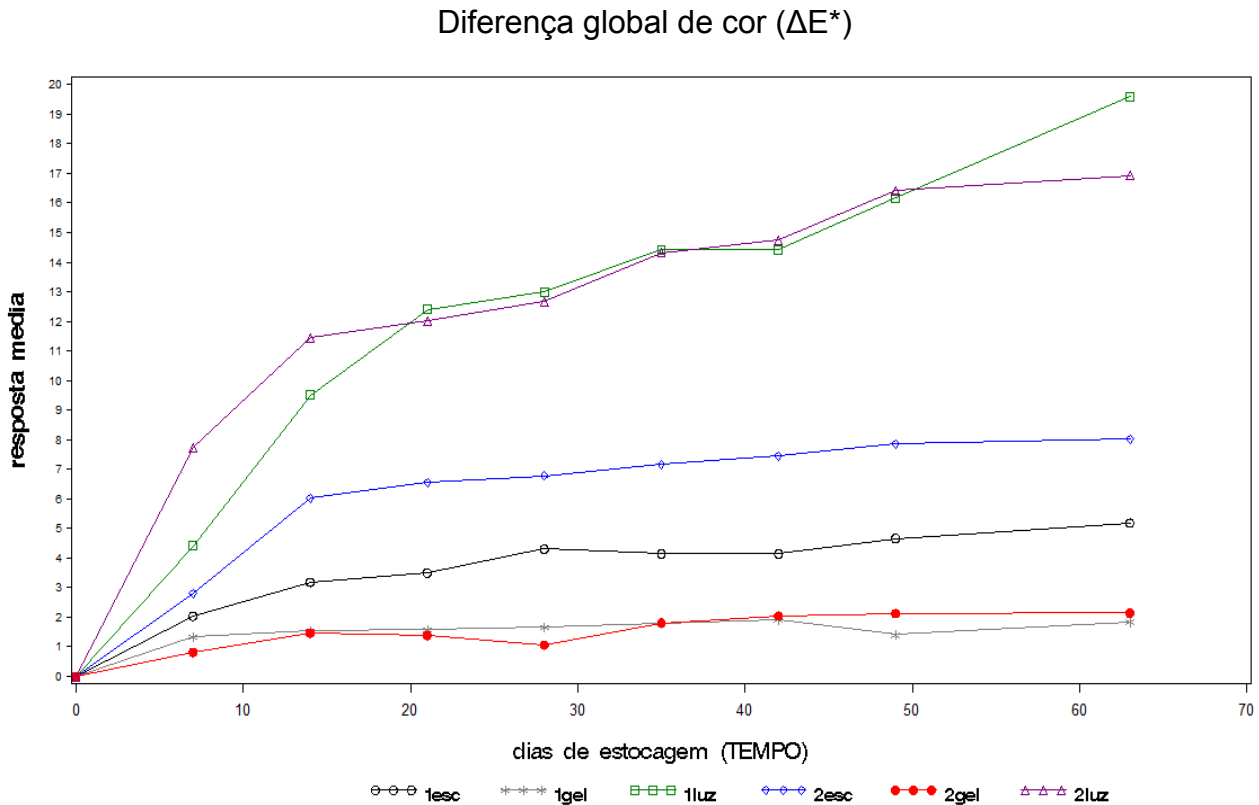
Os resultados aqui encontrados indicam que houve uma mudança na tonalidade das cores das bebidas, principalmente quando estocadas em presença e ausência de luz, à 25°C. Ao final do experimento, nessas condições, a tonalidade das bebidas tendia a uma coloração roxeada, devido à formação de compostos de coloração escura derivados da degradação dos pigmentos e que contribuíram para tornar a cor mais impura.

Outra coordenada importante é a diferença global de cor ( $\Delta E^*$ ), que expressa a perda de coloração ao longo do tempo de armazenamento. Pela ANOVA referente a este parâmetro (Tabela 2.10), pode-se perceber que todos os fatores (tipo de bebida, tempo, condição de estocagem bem como a interação entre eles) influenciaram significativamente, ao nível de 5% probabilidade, a diferença global de cor entre as amostras. O gráfico 2.10 mostra na diferença global de cor ( $\Delta E^*$ ) sob o efeito dessas variáveis.

**Tabela 2.10** – Resumo da análise de variância (ANOVA) para determinação da diferença global de cor  $\Delta E^*$  das bebidas isotônicas estocadas sob diferentes condições e tempo de armazenamento

Fatores de variação	GL	QM	F
Tipo de bebida	1	30.97	544.07*
Condição de armazenamento	2	1481.54	26023.40*
Tipo de bebida x Condição de armazenamento	2	23.45	412.04*
Erro a	12	0.056	-
Tempo	8	138.02	5124.71*
Tempo x Tipo de bebida	8	1.34	50.04*
Tempo x Condição de armazenamento	16	39.94	1482.89*
Tempo x Condição de armazenamento x Tipo de bebida	16	2.52	93.90*
Erro b	96	0.0026	-

Valor da probabilidade do teste F. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade.



**Figura 2.10** – Comportamento de  $\Delta E^*$  (Diferença global de cor) das bebidas isotônicas formulada com extrato de casca de jabuticaba e polpa de açaí, em diferentes condições de armazenamento (Sob refrigeração, em presença e ausência de luz).

Esta diferença  $\Delta E^*$  é calculada a partir das mudanças na coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  entre o início e o final do período de estocagem. Neste experimento, o  $\Delta E^*$  para todas as amostras de bebidas foi maior que 1, em todas as condições de armazenamento. Isto indica que houve diferença perceptível na coloração das bebidas entre o início e final do experimento, já que um  $\Delta E^*$  de 1,0 representa o limiar da percepção da diferença de cor percebida ao olho humano (GONNET, 1998). Entretanto, vale ressaltar que pequenas diferenças de cor, mesmo que detectadas pela visão, não são suficientes para descaracterizar um produto ou influenciar negativamente em sua aceitação.

Foi possível perceber, no entanto, que esta diferença foi maior para as amostras estocadas na presença de luz (25°C), com  $\Delta E^*$  de 18,12 (bebida formulada com extrato de casca de jabuticaba), e 16,31 unidades (bebida adicionada de extrato de polpa de açaí) (Figura 2.10). Sob refrigeração a (4°C), o  $\Delta E^*$  foi pequeno e



praticamente constante ao longo do experimento para ambas as amostras de bebidas, evidenciando que nesta condição, as antocianinas tem uma maior estabilidade.

#### IV. CONCLUSÃO

O modelo da cinética de degradação tanto para as antocianinas da casca de jabuticaba quanto da polpa de açaí, adicionadas às bebidas isotônicas, foi ajustado como sendo de primeira ordem. O tempo de meia vida para a bebida adicionada de extrato de jabuticaba foi o dobro que da bebida de açaí, embora as antocianinas tenham apresentado comportamento similar na degradação.

As condições de armazenamento afetaram a estabilidade das bebidas isotônicas adicionadas de extratos de antocianinas, sendo que a refrigeração a 4°C mostrou ser a condição mais eficiente no armazenamento destas bebidas, em relação a todas as variáveis avaliadas (antocianinas totais, fenólicos totais, atividade antioxidante e coordenadas de cor).

Houve correlação direta entre os teores de fenólicos totais e antocianinas e os valores da atividade antioxidante.

Pelo valor de  $\Delta E^*$ , ambas as bebidas formuladas neste estudo apresentaram modificações na coloração ao final do experimento, sendo que a bebida formulada com extrato de polpa de açaí foi mais alterada ao longo deste período.

#### V. REFERÊNCIAS

CEVALLOS-CASALS, B.A.; CISNEROS-ZEVALLOS, LUIS. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. **Food Chemistry**, v. 86, p. 69–77, 2004.

CESARONE, M.R.; DI RENZO, A.; ERRICHI, S.; SCHÖNLAU, F.; WILMER, J.L.; BLUMENFELD, J. Improvement in Circulation and in Cardiovascular Risk Factors With a Proprietary Isotonic Bioflavonoid Formula OPC-3®. **Angiology**, v. 59, p. 408-414, 2008.

BURIN, V.M.; ROSSA, P.N.; FERREIRA-LIMA, N.E.; HILLMANN, M.C.R.; BOIRDIGNON-LUIZ, M.T. Anthocyanins: optimisation of extraction from Cabernet Sauvignon grapes, microcapsulation and stability in soft drink. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 186–193, 2011.

DE ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. The high ascorbic acid content is the main cause of the low stability of anthocyanin extracts from acerola. **Food Chemistry**, v. 103, p. 935–943, 2007a.

DE ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Evaluation of colour and stability of anthocyanins from tropical fruits in an isotonic soft drink system. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 8, p. 347–352, 2007b.

ERSUS, S.; YURDAGEL, U. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota L.*) by spray drier. **Journal of Food Engineering**, v. 80, p. 805–812, 2007.

ESTUPINÑAN, D.C.; SCHWARTZ, S.J.; GARZÓN, S.A. Antioxidant Activity, Total phenolics content, anthocyanin, and color stability of isotonic model beverages colored with “Andes berry” (*rubus glaucus benth*) anthocyanin powder. **Journal of Food Science**, v. 76, p. S26-S34, 2011.

FULEKI, T.; FRANCIS, F.J. Quantitative methods for anthocyanins: 2. Determination of total anthocyanins and degradation index for cranberry juice, **Journal of Food Science**, v. 33, p. 78-83, 1968.

GALLORI, S.; BILIA, A. R.; BERGONZI, M. C.; BARBOSA, W. L. R.; VINCIERI, F. F. Polyphenolic constituents of fruit pulp of *Euterpe oleracea* Mart. (açai palm). **Chromatographia**, v. 59, p. 739–743. 2004.

HUTCHINGS, J. B. **Food colour and appearance**. Cambridge: Chapman & Hall, 1994. 513p.

KALT, W.; FORNEY, C. F.; MARTIN, A.; PRIOR, R. L. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 4638–4644, 1999.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI, F. J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência Tecnológica de Alimentos**, v. 25, p. 726-732, 2005.

LAINÉ, P.; KYLLI, P.; HEINONEN, M.; KIRSI, J. Storage stability of microencapsulated Cloudberry (*Rubus chamaemorus*) phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 11251-61, 2008.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. G. Standardization of pigment analysis in cranberries. **Hortscience**, v. 7, p. 83-84, 1972.

LEITE, A.V.; MALTA, L.G.; RICCIO, M.F.; EBERLIN, M.N.; PASTORE, G.M.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R. Antioxidant potencial of rat plasma by administration of

freeze-dried jaboticaba peel (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg), **Journal of Food Chemistry**, v. 59, p. 2277-2283, 2011.

MALACRIDA, C.R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim do CEPPA**, v. 24, p. 59-82, 2006.

MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS, P. (Ed.) **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982, p.163-180.

NACHAY, K. A new color palette emerges. **Food Technology**, v. 4, p. 50–62, 2009

NOHYNEK, L.J.; ALAKOMI,H.; KAHKONEN, M. P.; HEINONEN, M.; HELANDER, I. M.; OKSMAN-CALDENTY, K.; PUUPPONEN-PIMIA, R. H. Berry phenolics: antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. **Nutrition and Cancer**, v. 54, p. 18–32, 2006.

PALAMIDIS, N.; MARKAKIS, P. Stability of grape anthocyanin in a carbonated beverage. **Journal of Food Science**, v. 40, p. 1047-1049, 1975.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying na improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

SEERAM, N.; NAIR, M. Inhibition of lipid peroxidation and structureactivity-related studies of the dietary constituents anthocyanins, anthocyanidins, and catechins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5308–5312, 2002.

SAS, **Statistical Analysis System (SAS®)**, SAS software versão 9.2, Cary, 2006. 176p.

SCHWARTZ, S.J.; VON HELBE, J.; GIUSTI, M.M. Corantes. In: FENNEMA, O.R. *Química de Alimentos*. Porto Alegre: Artmed. 2010. Cap 8, p.445-498.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A, Jr. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.

SOUSA, P. H. M. ; ALMEIDA, M. M. B. ; FERNANDES, A.G. ; MAIA, G. A. ; MAGALHÃES, A. C.; LEMOS, T. L. G. Correlação entre a atividade antioxidante e os conteúdos de vitamina C e compostos fenólicos totais em frutas tropicais do nordeste brasileiro. In. XLVI Congresso Brasileiro de Química. **Associação Brasileira de Química – Seção Regional do Rio Grande do Norte (ABQ-RN)**, 2007. Disponível em <<http://www.abq.org.br/cb/2007/trabalhos/10/10-515-647.htm>>. Acesso em 02 Out. 2011.

WANG, W.D.; XU, S.Y. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. **Journal of Food Engineering**, v. 82, p. 271–275, 2007.

## CONCLUSÕES FINAIS

Tanto a casca de jabuticaba quanto a polpa de açaí mostraram ser boas fontes de antocianinas e compostos fenólicos, apresentando elevada atividade antioxidante, o que justifica a sua utilização como corantes naturais em alimentos, como bebidas isotônicas.

As bebidas formuladas com extrato de casca de jabuticaba, polpa de açaí, mistura desses extratos e a bebida comercial encontravam dentro dos padrões físico-químicos propostos pela legislação para esta categoria de bebidas.

Quando comparadas à amostra comercial estudada, a adição de extratos de antocianinas na formulação de bebidas isotônicas proporcionou tonalidade de cores claras, vivas que tendiam ao vermelho, característico da presença de antocianinas.

Em relação ao atributo cor, a análise sensorial mostrou que a bebida comercial foi igualmente aceita à bebida formulada com extrato de polpa de açaí, seguida da de casca de jabuticaba. Já para o atributo impressão global, esta diferença não existiu, sendo que todas as amostras foram igualmente aceitas, ao nível de 5 % de probabilidade pela análise de componentes principais.

O estudo de estabilidade mostrou que o modelo da cinética de degradação tanto para as antocianinas da casca de jabuticaba quanto da polpa de açaí, adicionadas às bebidas isotônicas, foi ajustado como sendo de primeira ordem.

A luz e temperatura exerceram efeito negativo na estabilidade das bebidas, sendo que a refrigeração a 4°C mostrou ser a condição mais eficiente no armazenamento destas, em relação a todas as variáveis avaliadas (antocianinas totais, fenólicos totais, atividade antioxidante e parâmetros colorimétricos). Houve correlação direta entre os teores de fenólicos totais e antocianinas e os valores da atividade antioxidante.

Em todas as bebidas, houve perda da coloração vermelha e aumento da coloração azul, que pode ser observada através do incremento do parâmetro CIE L\* (luminosidade) e diminuição dos valores de C\* (intensidade de cor) e h\* (tonalidade de cor), que podem ser resultado da degradação do cátion flavílium e formação carbinol.

Pelo valor de  $\Delta E^*$  (diferença global entre as bebidas formuladas com extrato de antocianinas e comercial), ambas as bebidas formuladas neste estudo

apresentaram modificações na coloração ao final do experimento, sendo que a bebida formulada com extrato de polpa de açaí apresentou maior alteração ao longo deste período.

O emprego da casca de jabuticaba e polpa de açaí como fonte de corante é viável em formulações de bebidas isotônicas, uma vez que proporcionam cores vivas e atrativas, garantem uma elevada vida de prateleira, e melhoram a qualidade destes produtos pela bioatividade conferida.