



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

MILENA CRISTINA FILLA

**EFEITO DO ARMAZENAMENTO EM BAIXAS
TEMPERATURAS SOBRE A CAPACIDADE ANTIOXIDANTE
E ACEITAÇÃO DE BEBIDA MISTA DE FRUTAS E VEGETAIS**

MILENA CRISTINA FILLA

**EFEITO DO ARMAZENAMENTO EM BAIXAS
TEMPERATURAS SOBRE A CAPACIDADE ANTIOXIDANTE
E ACEITAÇÃO DE BEBIDA MISTA DE FRUTAS E VEGETAIS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Helena Prudencio.

Londrina
2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

F484e Filla, Milena Cristina.
Efeito do armazenamento em baixas temperaturas sobre a capacidade antioxidante e aceitação de bebida mista de frutas e vegetais / Milena Cristina Filla. - Londrina, 2017.
89 f.: il.

Orientador: Sandra Helena Prudencio.
Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2017.

Inclui bibliografia.

1. Bebidas - Avaliação sensorial - Teses. 2. Bebidas - Armazenamento - Teses. 3. Compostos bioativos - Teses. 4. Suco de frutas - Teses. I. Prudencio, Sandra Helena. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. III. Título.

CDU 663.8/.9

MILENA CRISTINA FILLA

**EFEITO DO ARMAZENAMENTO EM BAIXAS TEMPERATURAS
SOBRE A CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E ACEITAÇÃO DE BEBIDA
MISTADA DE FRUTAS E VEGETAIS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Helena
Prudencio
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Sandra Garcia
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Renê Oliveira do Couto
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 12 de junho de 2017.

Dedico

A Deus, pela força e auxílio em todos os momentos deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Professora Dr^a. Sandra Helena Prudencio, pelas orientações e ensinamentos ao longo do trabalho.

Aos meus pais, Mônica e Vitorio, meu irmão Vinícius, e toda minha família, pelo apoio e estímulo a continuar, mesmo nos momentos de desânimo.

Aos meus tios, Marineide e Alberto, pela acolhida em sua residência, permitindo a realização do mestrado.

Ao Ederson Diego por, mesmo de longe, estar sempre presente com seu apoio, paciência e amor dedicados a mim todos os dias.

À Rita de Cássia Machado, pelas valorosas conversas e reflexões que me fizeram seguir em frente e fortalecer meu lado emocional e profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de Mestrado.

À Professora Dr^a. Sandra Garcia, pela preciosa contribuição no desenvolvimento desta pesquisa.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos pelos conhecimentos compartilhados e de suma importância na minha formação.

Ao estagiário Caio Valencise Campos, por toda a ajuda na parte experimental.

Aos colegas de mestrado pela troca de experiências, lições de vida e demonstração de força de vontade.

À Dirlei Kieling, pela ajuda no início do trabalho experimental, por suas dicas e conselhos de grande valor.

À equipe de avaliadores da análise sensorial, sem os quais uma importante parte deste trabalho não poderia ser realizada.

Aos funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos por toda colaboração e atenção prestadas.

À todos que, de alguma forma, torceram para que esta realização pessoal se concretizasse.

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação”

(Simone de Beauvoir)

FILLA, Milena Cristina. **Efeito do armazenamento em baixas temperaturas sobre a capacidade antioxidante e aceitação de bebida mista de frutas e vegetais.** 2017. 89 p. Dissertação. (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

RESUMO

O apelo por bebidas mistas contendo frutas, vegetais e raízes, dispostos nas prateleiras com as denominações de “suco verde” ou “suco detox”, tem sido associado a um estilo de vida mais saudável. São bebidas de fácil e rápido preparo, assim receitas caseiras estão disponíveis nas mais diversas fontes informativas. Diz-se que devem ser consumidas logo após o preparo, a fim de não haver perda em suas propriedades antioxidantes, vitaminas ou alterar-se seu sabor. Dessa forma, o objetivo principal deste trabalho foi o de formular uma bebida mista de couve-manteiga, gengibre, água de coco e laranja, semelhante às receitas encontradas na mídia informal e determinar o efeito do armazenamento sob congelamento (até 7 dias) e refrigeração (0 a 7 horas, e 0 a 25 horas) sobre as propriedades antioxidantes e físico-químicas (acidez total titulável, pH, sólidos solúveis totais e cor), conteúdo de ácido ascórbico e fenólicos totais, e aceitação sensorial. Não foram observadas alterações quando a bebida foi congelada (-18 °C), por período inferior a 7 dias, nas propriedades antioxidantes e físico-químicas ($p > 0,05$). A refrigeração (4 °C) da bebida mista por até 7 horas preservou as propriedades antioxidantes, compostos fenólicos, sólidos solúveis, acidez titulável, mas levou à redução da cor verde, pH e conteúdo de ácido ascórbico. Mas, sob refrigeração por até 25 horas, observou-se que a atividade antioxidante, cor, pH e ácido ascórbico não foram mantidos ($p \leq 0,05$). A bebida foi considerada apropriada para o teste de aceitação sensorial, após análise microbiológica. As bebidas refrigeradas por 0,13 e 25 horas foram aceitas, com notas máximas de 7 (em escala de 0 a 10) para todos os atributos analisados, além de intenção de compra acima de 3, em escala de 0 a 5 pontos.

Palavras-chave: Bebida verde. Compostos bioativos. Armazenamento. Sensorial.

FILLA, Milena Cristina. **Effect of low temperature storage on antioxidant capacity and acceptance of mixed beverage of fruit and vegetables.** 2017. 89 p. Dissertation (Master's Degree in Food Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

ABSTRACT

The appeal for mixed beverages containing fruit, vegetables and roots, arranged on the shelves named "green juice" or "detox juice," has been associated with a healthier lifestyle. They are beverages of promptness preparation, and homemade recipes are available in the most diverse informative sources. It is said that they should be consumed as soon as prepared, in order to avoid lost of antioxidant properties, vitamins or changes in their taste. Therefore, the aim of this work was to formulate a mixed beverage containing kale, ginger, coconut water and orange, which is similar to the recipes found in the informal media and determine the effect of storage under freezing (up to seven days) and refrigeration (0 to 7 hours and 0 to 25 hours) on antioxidant and physicochemical properties (total titratable acidity, pH, total soluble solids and color), ascorbic acid and total phenolic contents, and sensorial acceptance. No changes were observed when the beverage was frozen (-18 °C) for a period of less than seven days, in antioxidants and in physicochemical properties ($p > 0.05$). The refrigeration of the mixed beverage for up to seven hours preserved the antioxidant properties, phenolic compounds, soluble solids, titratable acidity, but lead to reduced green color, pH and ascorbic acid content. However, in refrigeration for up to 25 hours, it was observed that antioxidant activity, color, pH and ascorbic acid were not conserved ($p \leq 0.05$). The beverage was considered appropriate by mean the sensory acceptance test, after microbiological analysis. The beverages refrigerated for 0, 13 and 25 hours were accepted, with maximum scores of 7 (on a scale of 0 to 10) for all the analyzed attributes, besides purchase intention above 3, on a scale of 0 to 5 points.

Keywords: Green beverage. Bioactive compounds. Storage. Sensory.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –Couve-manteiga	17
Figura 2 –Estabilização do radical ABTS+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio	35
Figura 3 –Etapas de preparo da bebida mista	45
Figura 4 –Ficha do teste de aceitação	53
Figura 5 –Variação dos parâmetros de cor da bebida mista durante armazenamento refrigerado (4 °C).....	61
Figura 6 –Variação dos sólidos solúveis totais da bebida mista de frutas e vegetais durante armazenamento refrigerado (4 °C).....	62
Figura 7 –Variação da acidez total titulável da bebida mista de frutas e vegetais durante armazenamento refrigerado (4 °C).....	63
Figura 8 –Variação do pH da bebida mista de fruta e vegetais durante armazenamento refrigerado (4 °C).....	64
Figura 9 –Variação do teor de ácido ascórbico da bebida mista de frutas e vegetais durante armazenamento refrigerado (4 °C).....	65
Figura 10 –Variação do teor de compostos fenólicos totais da bebida mista de frutas e vegetais durante armazenamento refrigerado (4 °C)	67
Figura 11 –Variação da atividade antioxidante por ABTS da bebida mista de frutas e vegetais durante armazenamento refrigerado (4 °C)	68
Figura 12 –Variação da atividade antioxidante por DPPH da bebida mista de frutas e vegetais durante armazenamento refrigerado (4 °C)	69
Figura 13 –Variação da atividade antioxidante por FRAP da bebida mista de frutas e vegetais durante armazenamento refrigerado (4 °C)	70
Figura 14 –Amostras de bebida mista	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –Parâmetros de cor em amostra da bebida mista de frutas e vegetais recém-preparada e congelada.....	56
Tabela 2 –Sólidos solúveis totais, acidez total titulável, pH e ácido ascórbico da bebida mista de frutas e vegetais	57
Tabela 3 –Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante da bebida mista de frutas e vegetais recém-preparada e congelada	59
Tabela 4 –Aceitabilidade e intenção de compra da bebida mista em diferentes tempos de refrigeração.....	73

LISTA DE SIGLAS

ABTS	2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FRAP	poder antioxidante redutor dos íons ferro
ha	hectare
HPLC	cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IDR	Ingestão Diária Recomendada
pH	potencial hidrogeniônico
ROS	espécies reativas de oxigênio, do inglês <i>Reactive Oxygen Species</i>
TPTZ	4,6-tripiridil-s-triazina
UHT	temperatura ultra alta, do inglês <i>Ultra High Temperature</i>

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Período de plantio da couve-manteiga no Brasil.....	18
Quadro 2 – Composição química e nutricional média da couve	19
Quadro 3 – Composição do suco de laranja Pera por 100 gramas de parte comestível.....	28
Quadro 4 – Composição química média do suco de laranja	29
Quadro 5 – Formulação da bebida mista de frutas e vegetais.....	44
Quadro 6 – Perfil dos avaliadores do teste sensorial de aceitação	51

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1	Bebidas mistas	15
2.2	Couve-manteiga	16
2.3	Gengibre	20
2.4	Água de coco	22
2.5	Laranja	25
2.6	Degradação de ácido ascórbico	30
2.7	Compostos fenólicos e a saúde	31
2.8	Aspectos antioxidantes de sucos e bebidas mistas	32
2.9	Conservação de bebidas por congelamento e refrigeração	37
2.10	Aspectos sensoriais de sucos e bebidas mistas	39
3.	OBJETIVOS	42
3.1	Objetivo geral	42
3.2	Objetivos específicos	42
4.	MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1	Teste preliminar	43
4.2	Componentes da bebida mista	43
4.3	Formulação da bebida mista	43
4.4	Armazenamento	45
4.5	Análises físico-químicas	46
4.6	Avaliação microbiológica	49
4.7	Análise sensorial	50
4.7.1	Perfil dos avaliadores	50
4.7.2	Condições da análise sensorial	51
4.7.3	Teste de aceitação	52
4.8	Delineamento experimental e Análise estatística	54
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	55

5.1	Caracterização da bebida mista de frutas e vegetais e efeito do congelamento sobre as características físico-químicas e atividade antioxidante (Etapa 1).....	55
5.1.1	Cor da bebida mista.....	55
5.1.2	Caracterização físico-química e teor de ácido ascórbico.....	56
5.1.3	Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante.....	57
5.2	Efeito do armazenamento a 4 °C sobre as características físico-químicas, atividade antioxidante e aceitação da bebida mista de frutas e vegetais (Etapa 2).....	59
5.2.1	Cor da bebida mista.....	59
5.2.2	Propriedades físico-químicas e teor de ácido ascórbico	61
5.2.3	Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante.....	63
5.3	Avaliação microbiológica.....	71
5.4	Teste de aceitação	72
6.	CONCLUSÃO.....	74
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
	ANEXO A – Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)	86
	ANEXO B – Ficha de Recrutamento dos Avaliadores para Teste de Aceitação	88

1. INTRODUÇÃO

A comercialização e o consumo de bebidas mistas contendo frutas e vegetais têm se expandido de forma notória, graças às alegações de seus efeitos benéficos à saúde. Os chamados “sucos verdes”, que podem conter frutas e vegetais como a laranja, maçã, vegetais verde-escuros, sementes ou cereais são considerados uma excelente fonte de vitaminas e minerais. Este tipo de suco é conhecido popularmente por introduzir compostos antioxidantes à dieta, melhorar a função intestinal e reduzir o ganho de peso corporal.

Embora na literatura ainda não conste de estudos científicos que comprovem o efeito destes sucos mistos de frutas e vegetais ou “verdes” no organismo humano, o interesse é crescente entre os pesquisadores, devido aos seus componentes, os quais apresentam diferentes propriedades potenciais, como melhora do sistema imune e a redução das espécies reativas de oxigênio, as quais em excesso contribuem para a progressão de muitas doenças, como as cardiovasculares e câncer (GUNATHILAKE; YU; RUPASINGHE, 2014).

A qualidade nutricional juntamente com o grande apelo comercial apresentado pela mídia informal (jornais, revistas não-científicas, rádio, internet e programas de televisão) em relação aos possíveis efeitos benéficos à saúde de bebidas mistas tornam este tipo de produto o assunto do momento.

Nos últimos anos, diversos meios de comunicação informais apresentaram receitas de sucos verdes, e de seus possíveis benefícios à saúde, dentre eles a revista Superinteressante[®], com reportagem em uma de suas edições, e uma edição inteiramente sobre o assunto (Dossiê Superinteressante – “Detox”, abril/2016). Além disso, jornais como Folha de Londrina, a Revista Veja[®] e outras revistas não-científicas já publicaram sobre o tema. Vários livros de receitas também foram publicados.

A indústria de alimentos cada vez mais tem como base o interesse de grande parcela da população em consumir alimentos de boa qualidade nutricional, mais saudáveis, o que leva ao desenvolvimento de produtos inovadores (TEIXEIRA, 2007). O desafio é, além dos efeitos benéficos, agradar o paladar do consumidor, manter as características físico-químicas e sensoriais aceitáveis e a segurança dos alimentos durante o prazo de validade proposto (PIMENTEL, 2015).

Ingerir suco de frutas e vegetais significa reforçar, de uma só vez, o aporte de vitaminas, minerais e compostos fenólicos, extremamente essenciais para o bom funcionamento físico e mental do ser humano. Além disso, significa também regular a atividade intestinal, reduzir os níveis de colesterol sanguíneos, além de aumentar consideravelmente o aporte de antioxidantes, o que previne o aparecimento de doenças crônicas cardiovasculares, diabetes, câncer, além de retardar o envelhecimento precoce (GUNATHILAKE; YU; RUPASINGHE, 2014; LEAHU, 2013).

Muitas das bebidas com estas alegações podem ser produzidas pelo próprio consumidor, diante da facilidade em se encontrar a maioria dos seus componentes, da rapidez e do custo relativamente baixo. A mistura de sucos naturais com condimentos, como o gengibre, juntamente com a folha da couve é um dos mais procurados, por suas propriedades nutritivas e possivelmente medicinais. Agregam-se nutrientes, como vitaminas e minerais, e compostos potencialmente bioativos, em um alimento único (FREITAS; MATTIETTO, 2013). Isto também gera praticidade para o consumidor, ao longo do dia.

O grande problema a ser resolvido, talvez, é a armazenagem destas bebidas recém-preparadas, pois a informação repassada aos pretensos consumidores (pela própria mídia informal) é de que esta deve ser ingerida logo após o preparo. Assim, as propriedades nutricionais, baseadas nos teores de vitaminas (C, por exemplo) e os parâmetros sensoriais, como a cor e o sabor podem ser prejudicados após certo período de tempo (ZHENG, 2011).

Além disso, faltam pesquisas que demonstrem se o congelamento deste tipo específico de bebida prejudica ou não as propriedades destes produtos, já que congelar em temperaturas próximas aos $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, comuns aos congeladores domésticos, pode ser uma opção prática aos consumidores, podendo fazer uso da bebida por um tempo maior após seu preparo (BROWN et al., 2013).

Outra opção é a refrigeração ($\pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$), método de conservação mais utilizado pelos consumidores para um consumo ao longo do dia após o preparo; praticamente não existindo estudos sobre a relação entre o armazenamento refrigerado durante algumas horas e as possíveis mudanças nas propriedades nutricionais e sensoriais em tais bebidas.

Com este pressuposto, nesta pesquisa, preparou-se uma bebida mista de frutas e vegetais, avaliando-se o efeito do armazenamento sob congelamento e

refrigeração sobre parâmetros físico-químicos, teor de vitamina C e compostos fenólicos, capacidade antioxidante e segurança microbiológica, além de se avaliar a aceitação desta bebida por meio de teste sensorial.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Bebidas mistas

O mercado de alimentação ligado à saúde e ao bem-estar, no Brasil, vem crescendo nos últimos anos de forma impressionante, com a conscientização dos brasileiros sobre a importância em se consumir produtos ricos nutricionalmente, naturais e sem conservadores (SEBRAE, 2015). As bebidas mistas de frutas e vegetais também estão entre os alimentos com aumento do consumo nos últimos anos, devido aos efeitos benéficos à saúde, pelo fato de serem naturais, sem aditivos químicos, açúcares refinados e conservadores e pelo seu reconhecido valor nutricional. As frutas e vegetais, empregados como ingredientes, são ricas em aminoácidos, ácidos orgânicos, vitaminas, minerais e fibras (VANHANEM; SAVAGE, 2015).

Tal consumo tem sido promovido pela mídia informal, como em *sites* de dieta, por seus diversos benefícios à saúde, pela perda de massa corporal e eliminação de toxinas do organismo, uma afirmação ainda sem fortes evidências científicas que a confirmem até o momento (VANHANEM; SAVAGE, 2015).

Se preparadas em casa, as bebidas possuem uma flexibilidade na escolha de seus ingredientes, dependendo apenas das preferências dos consumidores e do que se tem disponível entre as frutas e vegetais da época do ano. Dentre as principais formulações de bebidas mistas, veiculadas pelos meios de comunicação informais, diz-se que devem estar presentes pelo menos uma fruta (ou seus sucos), hortaliças (como a couve-manteiga, alface, hortelã), condimentos (como o gengibre), além de sementes (como a linhaça, chia, e outras), geralmente utilizando-se água mineral ou água-de-coco para a homogeneização da bebida em liquidificador.

A indústria de bebidas também tem apresentado um aumento significativo no lançamento e na venda de tais bebidas mistas, com a motivação da falta de tempo do consumidor em preparar os sucos *in natura*, pela praticidade oferecida pelos produtos e como substituição ao consumo de bebidas carbonatadas

(refrigerantes) (CARMO; DANTAS; RIBEIRO, 2014). Tais bebidas prontas para o consumo são acondicionadas, principalmente em embalagens cartonadas UHT, ou em garrafas de vidro, estas com ou sem refrigeração.

O decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009 que regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, dispõe sobre “a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas”. Na Seção II, que trata Das Bebidas não-Alcoólicas, artigo 18, parágrafo 11, o suco denominado misto é classificado como aquele “suco obtido pela mistura de frutas, combinação de fruta e vegetal, combinação das partes comestíveis de vegetais ou mistura de suco de fruta e vegetal, sendo a denominação constituída da expressão suco misto, seguida da relação de frutas ou vegetais utilizados, em ordem decrescente das quantidades presentes na mistura” (MAPA, 2009).

Desta forma, uma formulação que contenha hortaliças e condimentos (como a couve-manteiga e o gengibre) e frutas (laranja, água de coco) deve ser denominada de suco misto, bebida mista, ou ambos.

2.2 Couve-manteiga

A couve-manteiga (Figura 1), cujo nome científico é *Brassica oleracea* L. var. *acephala* é pertencente à família Brassicaceae (sinonímia: Crucíferas), sendo uma hortaliça arbustiva anual ou bienal (NOVO, 2010) que apresenta diversos outros nomes comuns, como couve-de-folha, couve-galega e couve-comum. Sua origem é da Costa do Mediterrâneo, Ásia Menor e Costa Ocidental Europeia (MARI, 2009). No Brasil, a cultura é predominantemente de outono/inverno, já que se desenvolve melhor a temperaturas amenas (16 a 22 °C) (NOVO, 2010; CALDEIRA et al., 2014).

Figura 1 - Couve-manteiga



Fonte: CALDEIRA et al., 2014.

Várias são as cultivares da couve, classificadas quanto à aparência, textura e cor das folhas, como a couve-manteiga verde lisa, couve-manteiga verde crespa, couve-manteiga roxa, couve crespa e gigante. A couve gigante apresenta folhas muito desenvolvidas, mas as cultivares de couve-manteiga são as mais consumidas no Brasil, por terem as folhas mais tenras (NOVO, 2010; OLIVEIRA, 2011).

Observam-se também diferentes padrões de altura. As cultivares com plantas de 40-80 cm de altura são classificadas de média a alta e, com pelo menos 90 cm, de altas. No Brasil, a maioria das cultivares comercializada é de altura média a alta. Em São Paulo, 90% das cultivares de couve são multiplicadas por mudas, possuindo como característica o porte alto (NOVO, 2010).

A colheita é realizada 90 dias após a semeadura e são coletadas de 3 a 4 folhas na porção inferior da planta, podendo-se efetuar até 17 coletas (NUNES, 2009).

Quando atingem de 60 a 100 cm e estão na fase de colheita, precisa-se estaqueá-las. Aquelas com altura inferior a 50 cm (compactas), híbridas e multiplicadas por sementes são pouco cultivadas, por não serem atrativas ao consumidor. Nestas observam-se folhas de cor mais escura, nervuras claras e proeminentes, que o consumidor associa a maior tempo de cocção (NOVO, 2010).

Na safra de 2011/2012, no estado do Paraná, a área plantada foi de 895 ha, com produção de 21.130 toneladas (SALVADOR, 2013). Em São Paulo, os dados encontrados são de 2006, sendo a área plantada da couve-manteiga de 200 ha, aumentando para 1424 ha em 2007, e apresentando produtividade de 26,7 e 28,8

toneladas por hectare, respectivamente. As maiores produções são obtidas de abril a novembro. Também em São Paulo, as cultivares mais comuns apresentam folhas com limbo verde claro, tenras, lisas ou pouco onduladas e com pecíolos e nervuras verdes bem claras. No entanto, pode ser plantada durante todo ano, em alguns locais (NOVO, 2010). O Quadro 1 demonstra as épocas de plantio em cada região do Brasil.

Quadro 1 - Período de plantio da couve-manteiga no Brasil

Época de plantio					Ciclo
Sul	Sudeste	Nordeste	Centro-Oeste	Norte	80-90 dias
Fev/Jul	Fev/Jul	Abr/Ago	Fev/Jul	Abr/Jul	

Fonte: NOVO, 2010.

Os vegetais crucíferos, nos quais a couve está incluída, são os vegetais mais consumidos na Europa e em todo o mundo, pois possuem muitos nutrientes, podendo se tornar uma ótima fonte de compostos com potencial bioativo na dieta diária (KAPUSTA-DUCH et al., 2014). Os consumidores de couve em diferentes países apresentam preferências distintas, sendo que no Brasil são apreciadas apenas cultivares de folhas lisas, enquanto na Europa a preferência é por couve de folhas crespas (NUNES, 2009).

O consumo desta folhosa, no Brasil, ocorre de diversas formas: as folhas são consumidas cruas, em forma de saladas ou cozidas. Aumentou-se seu consumo em sucos mistos com frutas, sendo também utilizada para alimentação animal. A composição nutricional e química da couve-manteiga está apresentada na Tabela 2. Quando comparada a outras hortaliças folhosas, a couve apresenta melhor valor nutricional, por possuir proteínas, carboidratos, fibras, cálcio, ferro (1,47 mg/100 g) e ácido fólico. Apresenta, também, vitamina K (704,8 µg/100 g), vitamina C (120 mg/100 g), vitamina A (9990 UI) e vitaminas do complexo B, como a niacina (vitamina B3) (NOVO, 2010; USDA, 2016).

Em relação aos outros vegetais, possui a maior concentração de carotenoides, como o beta-caroteno (44 µg/g) e a luteína (65,22 µg/g) (LEFSRUD et al., 2007). Dentre os compostos fenólicos, os polifenóis mais encontrados são o ácido clorogênico, seu isômero ácido neoclorogênico, seguido do ácido sináptico,

com concentração total, em média, de 30-60 mg/100 g de couve (KAULMANN et al., 2014).

Quadro 2 - Composição química e nutricional média da couve-manteiga

Composição	Teor
Umidade	92,77 g/100 g – folhas
Proteínas	0,32 g/100 g de polpa de couve 1,38 g/100 g - folhas e talos
Lipídeos	0,18 g/100 g de polpa de couve 0,05 g/100 g - talos e folhas
Carboidratos	4,18 g/100 g *- talos e folhas
Fibras Alimentares	3,1 g/100 g couve
Cinzas	0,16 g/100 g de polpa de couve 1,62 g/100 g - talos e folhas
Cálcio	26,43 mg/100 g de polpa de couve
Magnésio	35 mg/100 g de couve
Vitaminas	A, C, Complexo B, K, E.
Fitoquímicos	Carotenoides, Polifenóis

Fonte: CALDEIRA et al., 2014, com modificações.

* sem quantificação de fibras.

Os fitoquímicos da couve, como compostos fenólicos (ácido clorogênico, principalmente), beta-caroteno e vitamina C apresentam atividade antioxidante, podendo reduzir a inflamação e prevenindo o estresse oxidativo, por induzir as enzimas detoxificantes, como a superóxido dismutase, estimular o sistema imune e diminuir o risco de câncer, por inibir a transformação maligna e mutações carcinogênicas, reduzindo a proliferação de células cancerígenas (KAULMANN et al., 2014; KAPUSTA-DUCH et al., 2014). É sabido também que ela possui excelente efeito cicatrizante em úlceras gástricas intestinais, além de ser um famoso recurso da medicina popular como laxante, anti-anêmico, anti-inflamatório, antisséptico, vermífugo e cicatrizante (NUNES, 2009). Segundo estudos, pode reduzir o risco de câncer de pulmão e catarata (NOVO, 2010).

2.3 Gengibre

O gengibre, cujo nome científico é *Zingiber officinale* Roscoe foi primeiramente descrito pelo botânico William Roscoe, em 1807, sendo da família Zingiberaceae e gênero Zingiber, o qual inclui cerca de 85 espécies. Uma curiosidade é que o nome do gênero advém da palavra do dialeto sânscrito que significa “chifre”, já que o rizoma possui protuberâncias neste formato (SUMAN, 2012). É uma planta herbácea, composta por rizoma e parte aérea. Seu rizoma (parte comercial da planta) é formado por ramificações horizontais semelhantes a dedos, carnosas e fibrosas (LUCIO; FREITAS; WASZCZYNSKYJ, 2010).

Considerado uma planta aromática, o gengibre é usado como condimento e erva medicinal desde a antiguidade por asiáticos, sendo distribuído durante a era das grandes navegações e no comércio de especiarias (DABAGUE et al., 2011). É proveniente do sul da Ásia, mas atualmente está espalhado pelo mundo, sendo que sua difusão pode ser explicada tanto pelas suas propriedades medicinais como pelo seu uso em diversas preparações culinárias. Na culinária oriental, Europa e nos Estados Unidos o gengibre é incorporado a molhos para carnes, peixes, bebidas alcoólicas e alguns doces (LEMOIS JÚNIOR; LEMOS, 2010; LIM et al., 2014).

No Brasil o gengibre é especialmente lembrado pelo seu uso como ingrediente no quentão, bebida tradicional das festas juninas, além de outros pratos regionais.

Também é comercializado *in natura*, em conserva, cristalizado, seco e em pó (DABAGUE et al., 2011). Com relação à produção, no Brasil, o gengibre é comercializado principalmente no estado *in natura* e 70% a 80% é destinado à exportação para os Estados Unidos, Canadá, Holanda e Reino Unido. Também são comercializados os produtos derivados, como o óleo essencial (responsável pelo aroma) e o óleo-resina (responsável pelo aroma e pungência característica) (LORENZETTI, 2008; SUMAN, 2012).

Como o mercado internacional é altamente exigente quanto ao produto exportado, realiza-se uma seleção criteriosa para selecionar os rizomas com defeitos, ou pedaços destes, com cortes, muito pequenos ou amassados, por exemplo. Geralmente estes são descartados, representando perda de 20% ou mais da colheita. Quando não são descartados, podem servir como matéria-prima para a

produção de óleo de gengibre, por meio da técnica de destilação por arraste a vapor (LORENZETTI, 2008).

A produção brasileira é pequena e está concentrada em um pequeno número de agricultores, porém o Brasil é um grande exportador de gengibre. A produtividade média está em torno de 20 t/ha, valor muito abaixo se comparado aos principais produtores mundiais (60 t/ha) Em 2015, o estado do Espírito Santo era o maior produtor nacional de gengibre, principalmente nos municípios de Santa Maria de Jetibá e Santa Leopoldina (MATIAS, 2015). No Paraná, a cultura de gengibre foi introduzida por famílias de japoneses no litoral nos anos 1980 e, de acordo com dados de 2008, o Estado produziu 3.945 t/ano, em uma área de aproximadamente 201 ha, ao longo de 26 municípios. A produção concentra-se no litoral paranaense, nos municípios de Morretes, Guaraqueçaba, Paranaguá, Antonina e Guaratuba, pertencentes ao núcleo regional de Paranaguá (LORENZETTI, 2008). Tal produção atende ao mercado interno e externo, sendo que na safra de 2005/2006 a produção foi de 540 toneladas, sendo 300 toneladas de gengibre orgânico (DABAGUE et al., 2011).

O rizoma do gengibre é constituído quimicamente por carboidratos (até 50%) e lipídeos (6-8%), dentre os ácidos graxos, o ácido palmítico, ácido oleico e ácido linoleico. Além disso, possui óleos essenciais (zingibereno (principal), gigerona, falandreno, canfeno, cineol, broneol e citral) e óleo-resina (homólogos de gingerol e zingerona) (EMBRAPA, 2001; SUMAN, 2012). O uso dos rizomas do gengibre para a obtenção de óleos essenciais e extratos têm se tornado mais frequente na indústria farmacêutica e cosmética, exatamente por suas propriedades medicinais (DABAGUE et al., 2011).

Os componentes farmacologicamente mais ativos são as substâncias fenólicas e as cetonas aromáticas, conhecidas como gingeróis. Um dos principais componentes do gengibre, o [6]-gingerol (1,40-hidroxi-30-metioxfenil-5-hidroxi-3-decanona), possui efeitos diversos, incluindo atividade antioxidante e anti-inflamatória (BARRETO; TOSCANO; FORTES, 2011).

O gengibre é reconhecido como “geralmente seguro” na lista da FDA (*Food and Drug Administration*) (LEMOS JÚNIOR; LEMOS, 2010; BARRETO; TOSCANO; FORTES, 2011; LIM et al., 2014), sendo classificado como aditivo alimentar pelo mesmo órgão; no entanto, estudos têm sido realizados para seu uso no tratamento de náuseas e vômitos (BARRETO; TOSCANO; FORTES, 2011).

Com relação às suas propriedades medicinais, estudos indicam que extratos de gengibre podem apresentar diversos efeitos fisiológicos, reduzindo os níveis de glicose e lipídios sanguíneos, além da pressão arterial sanguínea (pequenas doses) (ALI et al., 2008; LIM et al., 2014). Por muito tempo, foi utilizado para tratar dores de estômago, reumatismo, demência, dor muscular, dor de dente, asma e muitas outras enfermidades. Estudos comprovam suas propriedades farmacológicas anti-inflamatórias, antioxidantes, anti-carcinogênicas, hipoglicêmicas, neuroprotetoras, espasmolíticas e anti-eméticas, além de estimulante da secreção e da motilidade gástrica. Também apresenta efeitos contra doenças do sistema nervoso, como, por exemplo, a insônia, desordens psiquiátricas, neuroses, depressão, tumores cerebrais e etc. Tudo isso torna o gengibre um potente agente protetor contra doenças degenerativas e do envelhecimento (BEAL, 2006; ALI et al., 2008; JUSTO et al., 2008; BARRETO; TOSCANO; FORTES, 2011; LIM et al., 2014).

2.4 Água de coco

O coqueiro, pertencente à família *Palmae*, cuja espécie é denominada *Cocos nucifera* L., tem como local de origem o sudeste asiático. É constituído de uma só espécie e duas variedades principais: *Typica* (Variedade Gigante) e *Nana* (Variedade Anã), sendo que a Anã se subdivide em cultivares: Verde, Vermelha e Amarela. Existem híbridos obtidos com o cruzamento entre a Gigante e Anã (EMBRAPA, 2016).

O litoral da região Nordeste é a maior responsável pela produção de coco no Brasil, onde foi introduzido pelos portugueses, no século XVI, sendo considerado um local propício para o desenvolvimento desta cultura, devido à temperatura, brisa marinha e ventos constantes, o que dificulta a ocorrência de pragas (SANTOS FILHA, 2006).

De acordo com o Sindicato dos Produtores de Coco (SINDCOCO), em torno de 70% dos plantios são formados pela variedade gigante, 20% pela anã e 10% pelas variedades híbridas (EMBRAPA, 2016).

O coqueiro gigante, uma variedade rústica, ainda é produzido no Brasil. Apresenta crescimento rápido, florescendo, entretanto, até com 10 anos após o plantio. Atinge de 20 a 30 metros de altura, produzindo até 80 frutos/ano durante 60-70 anos. O uso, no Brasil, é diverso, desde *in natura* para preparo de doces, até na

agroindústria de alimentos, como matéria-prima para o leite de coco, farinha de coco e outros. Já o coqueiro anão é o mais comercializado no Brasil, com o intuito de se produzir a água de coco de qualidade sensorial superior, se comparada com as demais variedades. Também possui utilidade na agroindústria de alimentos, ou como fruto seco *in natura*, sendo que a polpa do coco anão apresenta um teor de gordura em torno de 30%, sendo menos que a metade dos teores encontrados na variedade gigante (65 a 70%) e na híbrida (62 a 65%). Isso leva a um maior interesse no comércio, principalmente de produtos mais saudáveis, mercado em crescimento na atualidade (EMBRAPA, 2016).

A colheita dos frutos do coco anão deve ser realizada entre o sexto e sétimo mês após a abertura da inflorescência. É nesse período que o peso do fruto, o volume de água, os teores de frutose, glicose e grau Brix são os maiores e a qualidade sensorial é superior (EMBRAPA, 2016).

Aproximadamente 25% do peso do fruto do coco corresponde à água de coco. Apresenta em sua composição 93% de água, 5% de açúcares, além de proteínas, vitaminas e sais minerais. Durante o processo de maturação do fruto seu conteúdo mineral se altera. Nesta maturação, o eletrólito mais presente é o potássio, sendo que o sódio tem seus níveis aumentados, e o cálcio, magnésio, cloreto, ferro e o cobre permanecem em concentrações estáveis. Os teores destes minerais dependem da variedade do fruto, safra e idade. Conforme a idade do coco avança, os teores de potássio, sódio e cobre aumentam e os demais minerais diminuem (CARVALHO et al., 2006; LIMA et al., 2008).

O líquido começa a se formar no segundo mês após a abertura da inflorescência, com valores máximos entre o 5° e o 7° mês, sendo o período ideal para a colheita do fruto, quando a água se encontra mais doce e saborosa (SANTOS FILHA, 2006).

O fruto exige um armazenamento adequado após a colheita, em local ventilado, sem exposição ao sol e a temperaturas elevadas, estando também ainda nos cachos. Devem ser consumidos em até 10 dias após a colheita, quando armazenados acima de 20 °C. Pode-se estender este prazo em 15 a 20 dias se armazenado em câmara fria (12 °C). Após este período, pode haver o início do processo de deterioração que vai prejudicar a acidez da água (COSTA et al., 2005).

De acordo com o Decreto N° 6871, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, de 4 de junho de 2009, art. 20, água de coco é a bebida obtida da

parte líquida do fruto do coqueiro (*Cocus nucifera*) não diluída e não fermentada, extraída e conservada por processo tecnológico adequado (MAPA, 2009). Independente do processo, este deve preservar tanto quanto possível as características naturais da água de coco.

Em quaisquer das formas de conservação, deve-se otimizar o tempo do processo e minimizar a exposição ao ar. Dentre os métodos de conservação mais estudados, estão a esterilização térmica, filtração, pasteurização, ajuste de teor de açúcar, pH e sólidos totais, concentração por osmose reversa, adição de conservadores, carbonatação e outros, ou várias combinações destes métodos.

Pode-se fazer uso de tratamento térmico a médias e altas temperaturas, refrigeração ou congelamento. Um dos processos utilizados para a água de coco comercializada de forma envasada é o processo UHT, que garante uma condição de esterilidade comercial, possibilitando uma estocagem a temperatura ambiente. O sistema compreende dois estágios: a pasteurização prévia e a esterilização propriamente dita. Devido ao fato de que a água-de-coco é um meio extremamente susceptível ao crescimento microbiano, a pasteurização é uma etapa necessária a fim de se garantir a segurança do alimento. No entanto, as indústrias do setor vêm tentando otimizar o processo UHT, minimizando possíveis modificações no sabor. Esta água de coco esterilizada pode ser comercializada à temperatura ambiente (15 a 30 °C) (CARVALHO et al., 2006; MAPA, 2009).

Quando se utiliza o congelamento, a água de coco envasada e congelada pode ou não ser pasteurizada, devendo ser mantida à temperatura máxima de -10 °C, podendo ser armazenada por 3 a 6 meses.

Quando se utiliza a refrigeração, existem dois métodos: o método que utiliza somente a extração e o resfriamento, e a vida-de-prateleira do produto, mantido entre 6 a 10 °C é de apenas 3 dias. E outro método que faz uso dos tratamentos auxiliares (adição de aditivos), juntamente com a refrigeração, em que a vida-de-prateleira do produto pode se estender por até seis meses (CARVALHO et al., 2006).

De acordo com a idade do fruto, o pH da água de coco varia, chegando a valores acima de 5 até o final do crescimento do coco. O principal ácido presente na água-de-coco é o ácido málico e, caso haja a necessidade de correção de acidez quando submetida a um processo tecnológico de conservação, pode-se adicionar ácido cítrico, de acordo com a legislação brasileira (CARVALHO et al., 2006).

Açúcares dissolvidos também estão presentes na água de coco, sendo que, de acordo com a maturação do fruto, observa-se variação nas concentrações da sacarose e glicose. A determinação dos teores destes açúcares é importante, pois estão relacionados à idade do fruto, principalmente do coco verde, para que a colheita possa ser realizada no momento de maior doçura de sua água. Os teores lipídicos e proteicos vão se elevando conforme se aumenta a idade do coco, variando também com a safra e a variedade do fruto (CARVALHO et al., 2006).

Por ser uma bebida leve, refrescante e com poucas calorias, em média 20 Kcal/100 mL (CARVALHO et al., 2006; LIMA et al., 2008) seu consumo vem crescendo, em grande parte por suas propriedades repositoras de eletrólitos, após treinos físicos intensos. É considerada uma bebida isotônica, sem colesterol, rica nos minerais potássio e sódio, com concentrações de 320 mg/200 mL e 30 mg/200 mL, respectivamente, de acordo com a marca comercial SOCOCO®, além de fósforo, cálcio e magnésio, e com grande apelo no mercado de produtos naturais (SANTOS FILHA, 2006). A água de coco é um bom substituto da água natural na formulação de bebidas tipo néctares, por exemplo, sendo uma solução natural, ácida, rica em sais minerais, açúcares e aminoácidos essenciais (PEREIRA, 2009). Sua composição única é importante no tratamento da diarreia em regiões mais carentes do mundo, além de ser hidratante e proteger o trato gastrointestinal contra diversas infecções (PRADO et al., 2015).

Observa-se na água de coco a presença de ácido ascórbico (vitamina C), quando o fruto ainda está verde, e vitaminas do complexo B. Relata-se que o fruto com seis meses de maturação pode ser considerado uma boa fonte de vitamina C (CARVALHO et al., 2006).

De acordo com alguns estudos, pode ser fonte de compostos potencialmente bioativos, como os flavonoides (catequinas e epicatequinas), com propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-cancerígenas (PRADO et al., 2015).

2.5 Laranja

A laranja, de nome científico *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, é pertencente à família Rutacea, sendo de origem asiática. É uma árvore de porte médio, a qual pode chegar a 8 metros de altura. Seu tronco apresenta casca castanho-

acinzentada, com a copa densa e arredondada. Suas folhas têm textura firme e bordos arredondados, exalando um aroma característico quando são maceradas. As flores são pequenas, brancas e aromáticas. A laranja possui formato e coloração dependentes da variedade, mas geralmente a casca é de cor amarela, envolvendo uma polpa aquosa de coloração que pode variar de amarelo-claro a vermelha (VANDRESEN, 2007).

No Brasil, o período de frutificação concentra-se de abril a setembro. As partes que compõem a laranja são o flavedo, a porção mais externa e colorida da casca; o albedo, parte interna esbranquiçada e esponjosa; os gomos revestidos por membrana e preenchidos por pequenas vesículas de suco e, por fim, as sementes (VANDRESEN, 2007).

Com relação às características agrônômicas, existem diversas cultivares da laranja e, dependendo das características e das condições de solo e clima, estas apresentam um ciclo de desenvolvimento variando de 10 a 16 meses entre o florescimento (normalmente na primavera) e a maturação dos frutos. Podem ser agrupadas como precoces, de meia-estação ou tardias, conforme o período de maturação. As laranjas colhidas durante o período de maturação costumam ser mais doces e menos ácidas (VANDRESEN, 2007).

Em condições climáticas ideais, a árvore começa a produzir no terceiro ano de vida, tendendo ao aumento até o décimo ano, quando é considerada adulta. Produz frutos, em média, até os seus 20 anos de idade, com safra anual de duração entre 2 e 4 meses, de acordo com a variedade de copa e porta-enxerto. A laranja é uma das frutas mais consumidas no Brasil, possuindo grande aceitação e preço razoável (VANDRESEN, 2007).

As cultivares da laranja são: Westin, Rubi e Hamlin (precoces); Pera-Rio (meia-estação), Valência, Natal e Folha Murcha (tardias). A cultivar Pera-Rio, mais comum no mercado, é menor, mais alongada que as outras cultivares, e com casca lisa e fina, polpa succulenta e cor amarelo-avermelhada. A laranja Pera-Rio é muito consumida *in natura*, mas também utilizada para preparar geleias e sucos. Seu período de colheita é de julho a outubro (CITROSUCO, 2015).

A laranja (*in natura*) pode ser assim aproveitada: 49% suco, 46,5% farelo de polpa cítrica, 1,5% polpa, 1,5% óleo, 1% terpeno cítrico (D-limoneno) e 0,5% essências. É fonte de vitamina C (ácido ascórbico), além de beta-caroteno, folato (vitamina B9), tiamina (vitamina B1) e potássio (CITROSUCO, 2015). Com relação

ao ácido ascórbico, a Instrução Normativa nº 1, de 7 de janeiro de 2000, que regulamenta os padrões de identidade e qualidade para suco de laranja, fixa o valor mínimo de ácido ascórbico em 25mg/100mL (MAPA, 2000).

Para a safra 2013/14 a produção comercial foi estimada em 327,8 milhões de caixas de 40,8 kg no estado de São Paulo, não estando incluídos 16,2 milhões de caixas de 40,8 kg não expressivas economicamente e perdas (CONAB, 2013). Estima-se que, da produção comercial, 85% foi destinada às indústrias processadoras de suco e 15% tiveram como destino o mercado *in natura*. Estes percentuais são distintos dos obtidos nos levantamentos anteriores devido à dificuldade de comercializar a fruta de indústria e de muitos produtores destinarem suas frutas para o mercado *in natura*. A colheita é realizada entre os meses de maio a fevereiro do ano seguinte, sendo que até a avaliação, realizada em novembro, foram colhidos 84,0% dos frutos. Observa-se que os meses de maior colheita são setembro, outubro e novembro, totalizando 46,0% da colheita da dessa safra (CONAB, 2013).

O Ministério da Agricultura estima um crescimento de 0,89% na taxa anual de produção desta fruta, em 2018/2019, o equivalente a 20,5 milhões de toneladas. O subproduto mais vendido é o suco da laranja, mas o bagaço é negociado, assim como outros subprodutos. 43% dos negócios no setor são representados pela exportação de sucos prontos para o consumo. O Brasil é autossuficiente na produção de laranja e se tornou um dos maiores polos mundiais de produção de sucos de frutas. Do total destes sucos, 95,5% corresponde ao suco de laranja (MAPA, 2015). O Quadro 3 apresenta a composição química do suco de laranja da cultivar pera e o Quadro 4 apresenta a composição química média detalhada do suco de laranja *in natura*, segundo USDA (2016).

Quadro 3 - Composição do suco de laranja Pera por 100 grama de parte comestível

SUCO DE LARANJA PERA	COMPOSIÇÃO POR 100 GRAMA
Umidade (%)	91,3
Calorias (Kcal)	33
Proteínas (g)	0,7
Lipídios (g)	0,1
Colesterol (mg)	0
Carboidratos (g)	7,6
Fibra Alimentar (g)	Traços
Cinzas (g)	0,3
Cálcio (mg)	7
Magnésio (mg)	8

Fonte: TACO (2011), com modificações.

Quadro 4 - Composição química média do suco de laranja *in natura*

SUCO DE LARANJA FRESCO	VALORES POR 100 GRAMA
Água (g)	88,3
Calorias (Kcal)	45,0
Proteína (g)	0,70
Lipídios totais (g)	0,20
Carboidratos, por diferença (g)	10,40
Fibra total (g)	0,20
Açúcar total (g)	8,40
Minerais	
Cálcio (mg)	11,0
Ferro (mg)	0,20
Magnésio (mg)	11,0
Fósforo (mg)	17,0
Potássio (mg)	200
Sódio (mg)	1,0
Zinco (mg)	0,05
Vitaminas	
Vitamina C (mg)	50,0
Tiamina (mg)	0,090
Riboflavina (mg)	0,030
Niacina (mg)	0,400
Vitamina B6 (mg)	0,040
Folato (µg)	30,0
Vitamina B12 (µg)	0
Vitamina A (UI)	200
Vitamina E (mg)	0,04
Vitamina D (D2 + D3) (µg)	0
Vitamina K (µg)	0,1
Lipídios	
Ác. Graxos saturados (mg)	0,024
Ác. Graxos monoinsaturados (mg)	0,036
Ác. Graxos polinsaturados (mg)	0,04

Fonte: USDA (2016), com modificações.

Sabe-se também que esta fruta cítrica leva ao aumento da capacidade antioxidante plasmática, aumento das enzimas hepáticas antioxidantes e à redução da peroxidação lipídica em modelos animais e humanos (FOROUDI et al., 2014).

Não só a vitamina C e carotenoides presentes possuem atividade antioxidante, como também uma classe especial de flavonoides conhecidos como flavanonas, muito presentes na laranja (GUIMARÃES et al., 2010).

2.6 Degradação do ácido ascórbico (vitamina C)

As frutas, especialmente as cítricas, assim como vegetais de folhas verde-escuras, do tipo brócolis e couve, são grandes fontes naturais de vitamina C que podem ser encontradas (PHILLIPS et al., 2010). A vitamina C, na sua forma reduzida, é conhecida como ácido ascórbico, ou ácido L-ascórbico (AA). Já na sua forma oxidada (reação reversível), é chamada de ácido L-dehidroascórbico (DHAA) (TEIXEIRA; MONTEIRO, 2009). Nutricionalmente, a vitamina C é o somatório de AA e DHAA (ácido ascórbico total), sendo que o DHAA torna-se biologicamente ativo após sofrer redução nas células do trato gastrointestinal (TARRAGO-TRANI; PHILLIPS; COTTY, 2012).

É considerada uma vitamina hidrossolúvel e termolábil, sofrendo oxidação quando exposta ao ar (oxigênio molecular), ou seja, apresenta grande sensibilidade durante o processamento e armazenamento (TARRAGO-TRANI; PHILLIPS; COTTY, 2012; SPINOLA et al., 2013).

O ácido ascórbico (vitamina C), presente no suco de laranja, apresenta grande sensibilidade aos processamentos empregados para conservação, devido justamente a esta instabilidade ao calor, sendo ela, inclusive, utilizada como um indicador para se avaliar qual a retenção dos nutrientes nos produtos alimentícios fontes de vitamina C, após seu processamento industrial (TEIXEIRA; MONTEIRO, 2009).

Não só temperaturas elevadas e exposição ao ar, mas também o armazenamento em temperaturas de congelamento, com o intuito de se estender a vida-de-prateleira e manter as características sensoriais e nutritivas, pode levar a perdas nos teores de ácido ascórbico, assim como dos carotenoides presentes em sucos de frutas fontes destes componentes. Em adição a isso, outras características podem ser alteradas durante o congelamento, como modificação de sabor e cor, o que interfere na aceitação dos consumidores (CÓRTEZ et al., 2005).

Os sucos de frutas, ou bebidas mistas de frutas e vegetais podem ser fontes de ácido ascórbico, principalmente se contiverem frutas cítricas e vegetais, como a

couve, mas a possível degradação rápida desta vitamina pode causar alterações nutricionais e sensoriais nestes alimentos, o que merece uma atenção maior por parte de fabricantes de bebidas industrializadas, além do próprio consumidor (TEIXEIRA; MONTEIRO, 2009). Considerando-se que a ingestão diária recomendada (IDR) para adultos, de acordo com a ANVISA (BRASIL, 2004) é de 45 mg/ dia, faz-se necessário uma ingestão adequada deste micronutriente pela população, sendo consumo destas bebidas uma alternativa interessante.

2.7 Compostos fenólicos e a saúde

Diversas pesquisas indicam que metabólitos secundários (ou fitoquímicos) produzidos pelas plantas, com função de defesa contra insetos e animais herbívoros, trazem benefícios para saúde humana, sendo nutricionalmente requeridos na dieta (ASAMI et al., 2003). Frutas e vegetais, tanto na forma *in natura* como em seus produtos processados (café, chá, vinho tinto) contêm quantidades maiores ou menores destes fitoquímicos e que podem levar à redução do surgimento e evolução de doenças crônicas, se consumidos frequentemente (KAULMAN et al., 2014). Os alimentos vegetais são compostos por diversos compostos fenólicos, os quais apresentam amplo espectro de atividades funcionais. No entanto o interesse atual está voltado para os efeitos benéficos potenciais à saúde (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2008). Um interesse especial está nas evidências de sua potente atividade antioxidante e uma gama de propriedades farmacológicas, incluindo atividade anti-câncer, anti-mutagênica, antioxidante e inibição da agregação plaquetária (ASAMI et al., 2003; VIEIRA et al., 2011).

Com relação à sua característica antioxidante, os compostos fenólicos exibem grande atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e seus efeitos benéficos são extensivamente relatados em modelos envolvendo estresses oxidativos causados por dietas hipercolesterolêmicas e aterogênicas, por exemplo. Estes compostos são capazes de reagir tanto com radicais livres ($\text{HO}\cdot$, $\text{O}_2\cdot^-$ e $\text{RO}\cdot$), quanto com radicais peróxil, assim como sendo supressores de oxigênio *singlet* (EROs), predominantemente em compartimentos celulares aquosos, como citosol (KAULMANN et al., 2014), conseqüentemente reduzindo o dano oxidativo celular (OLIVEIRA et al., 2009; PEREIRA et al., 2014; KIM, 2015).

Dentre os compostos fenólicos, o grupo com mais constituintes biologicamente ativos presentes em frutas e vegetais é dos polifenóis. O conteúdo fenólico é geralmente maior em frutas do que em vegetais e é maior em frutas imaturas do que nas maduras. As frutas geralmente mostram um declínio em compostos fenólicos com amadurecimento, e um aumento na resposta ao estresse como injúrias e infecções fúngicas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2008). Estudos epidemiológicos correlacionam o aumento no consumo de vegetais contendo antioxidantes fenólicos, e a diminuição da incidência de doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer. Porém, o processamento e a preparação podem afetar estes fitoquímicos como, por exemplo, o tratamento térmico, geralmente necessário antes do consumo. Também apresentam a característica de serem solúveis em água, e o processamento neste solvente pode levar à lixiviação dos fenólicos dos tecidos vegetais (KORUS; LISIEWSKA, 2011).

Mas não somente os polifenóis são solúveis em água, como também o ácido ascórbico, sendo comumente reconhecidos como os nutrientes e antioxidantes naturais principais na dieta humana (KORUS; LISIEWSKA, 2011) e presentes em vários sucos. Eles também contribuem aos atributos de sabor e cor das frutas e vegetais e qualquer oxidação de polifenóis ou do ácido ascórbico pode levar ao escurecimento destes sucos (KHANDPUR; GOGATE, 2015).

2.8 Aspectos antioxidantes de sucos e bebidas mistas

Com uma frequência considerável e progressivamente maior, é possível encontrar no mercado diversos produtos com o apelo antioxidante, geralmente bebidas ou frutas exóticas. Também, a expansão do mercado global e a competição entre as indústrias alimentícias fazem com que estas propriedades antioxidantes presentes nestes alimentos e/ou bebidas, façam parte da rotulagem nutricional, inclusive (COSTA et al., 2012). Tais antioxidantes naturais, particularmente presentes nas frutas e vegetais ganharam, nos últimos anos, um maior interesse entre seus consumidores, assim como dentro da comunidade científica, já que diversos estudos epidemiológicos têm indicado que o consumo frequente destes compostos com potencial bioativo está associado a um menor risco de doença cardiovascular e câncer (THAIPONG et al., 2006).

Basicamente, os antioxidantes são aqueles compostos químicos auxiliares na redução e até prevenção dos danos oxidativos em moléculas orgânicas, como os lipídios, as proteínas e os ácidos nucleicos, causados por espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (COUTO; CANNIATTI-BRAZACA, 2010). Estas espécies reativas são os chamados radicais livres e têm origem durante os processos metabólicos, sejam eles normais ou patogênicos, ou então são provenientes de fontes exógenas físicas e químicas.

Estão envolvidas em mecanismos de transferência eletrônica e em vários processos bioquímicos, como a fagocitose, onde inibem o agente agressor por oxidação. Em excesso, os radicais livres podem causar danos celulares por ataque à membranas, proteínas, polissacarídeos e material genético, levando à alterações funcionais e prejuízo das funções vitais em tecidos e órgãos, o que pode progredir para doenças crônico-degenerativas como o câncer, além de doenças cardiovasculares, inflamações, disfunções cerebrais e envelhecimento precoce (OLIVEIRA et al., 2009; COUTO; CANNIATTI-BRAZACA, 2010).

O organismo humano tem a capacidade de inibir a ação dos radicais livres por meio de enzimas regulatórias, mas quando este sistema regulatório não é completamente efetivo, faz-se necessário uma ingestão de compostos antioxidantes exógenos para auxiliar no combate aos radicais livres (MARTINS et al., 2013).

Os efeitos de defesa dos antioxidantes exógenos presentes em frutas e produtos hortícolas estão relacionados a três grandes grupos: as vitaminas (C, E) os compostos fenólicos (flavonoides e outros polifenóis) e os carotenoides (THAIPONG et al., 2006).

Alguns estudos relatam que as vitaminas C e E, selênio, polifenóis e beta-caroteno podem prevenir alguns dos processos envolvidos na progressão do câncer e doença cardiovascular (COSTA et al., 2012). No entanto, a contribuição precisa destes componentes para manter a saúde e retardar o surgimento de doenças é incerta (PEREIRA, 2014).

Sucos verdes contendo frutas e vegetais como maçã, laranja e folhosas verde-escuras são considerados uma ótima fonte de vitaminas e minerais. Tais sucos são popularmente conhecidos por introduzir antioxidantes à dieta, melhorar a função intestinal e ganho de massa magra corporal. Embora não haja estudos mostrando o efeito destes sucos em sistemas biológicos, tem surgido grande interesse entre os pesquisadores devido aos seus componentes com diferentes

propriedades funcionais, como melhorar o sistema imune e reduzir a ação de espécies reativas (que levam ao estresse oxidativo) contribuintes na progressão de muitas doenças (KOŁODZIEJCZYK et al., 2012).

Na literatura há estudos que avaliam a capacidade antioxidante de frutas e sucos individualmente (ALMEIDA et al., 2011; WOOTTON-BEARD; MORAN; RYAN, 2011; KAULMANN et al., 2014; MIKOŁALMAJCZYK et al., 2015), entretanto, o consumo conjunto de frutas e vegetais, como em bebidas mistas, pode modificar esta capacidade antioxidante da mistura, via interações sinérgicas, aditivas ou antagônicas entre os componentes, o que pode alterar sua ação fisiológica. Tais efeitos sinérgicos ou antagônicos ainda são pouco explorados pela comunidade científica, merecendo maior atenção (WANG et al., 2011; PORTO, 2015).

Para a quantificação ou estimativa da capacidade antioxidante em frutas e vegetais, além de seus produtos e alimentos derivados, vários ensaios *in vitro* têm sido frequentemente utilizados, incluindo o ensaio do radical 2,2-azinobis (3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS⁺), o ensaio do 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e o ensaio do poder antioxidante redutor dos íons ferro (FRAP) (THAIPONG et al., 2006). Basicamente os ensaios antioxidantes medem três valores:

-Capacidade antioxidante: o número total de elétrons doados ou as moléculas-alvo convertidas por mol de antioxidante na reação completa, sob determinadas condições. Isto geralmente aproxima-se ao número de grupos hidroxila (OH) fenólicos, ou dois elétrons por grupo OH, embora nem sempre. A exigência por uma reação completa ignora a taxa de reação e cria uma espécie de situação "tartaruga e lebre" em que os antioxidantes da reação lenta com muitos grupos fenol recebem as maiores classificações enquanto os antioxidantes da reação rápida com poucos grupos fenol podem ser muito subestimados ou mesmo esquecidos.

-Atividade antioxidante: a concentração de antioxidantes necessária para fornecer uma taxa (razão) ou o "tamanho" da reação.

-Potencial antioxidante: um termo geral nebuloso usado para descrever a expectativa de que um antioxidante possa eliminar radicais sob condições específicas. Este termo pode ser facilmente confundido com potencial termodinâmico, ou seja, a aplicação deste termo em ensaios antioxidantes tem sido controversa (SCHAICH; TIAN; XIE, 2015).

O ensaio de ABTS é geralmente aplicável em sistemas antioxidantes hidrofílicos e lipofílicos, enquanto que o ensaio de DPPH é aplicável à sistemas hidrofóbicos, devido ao seu radical ser dissolvido em meio orgânico (KIM, 2015).

Já o ensaio de FRAP avalia a atividade antioxidante da amostra a partir da reação redox ocorrida entre um substrato (doador de elétrons) e íons Fe^{3+} , produzindo íons Fe^{2+} . Esta redução leva à mudança de cor do complexo Fe^{3+} - TPTZ (4,6-tripiridil-s-triazina), que se torna azul, absorvendo a radiação eletromagnética no comprimento de onda de 595 nm (MARTINS et al., 2013).

Essencialmente, não há muitas diferenças entre o ensaio de ABTS e o de FRAP, exceto que o primeiro é realizado sob pH neutro e o segundo, sob condições ácidas (pH = 3,6) para manter a solubilidade do ferro e necessita de tempo maior de reação. O FRAP se baseia na redução do ferro e não na captura de radicais livres, como ABTS e DPPH (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

Há diferenças entre os ensaios quanto ao mecanismo de reação, às espécies-alvo, às condições reacionais e na forma como se expressam os resultados. O fato de tamanha diversidade não permite que se tenha metodologias universais para todas as amostras, o que implica na necessidade em se mensurar a capacidade antioxidante por mais de um ensaio, de fundamentos e mecanismos de ação distintos (HUANG; OU; PRIOR, 2005; OLIVEIRA et al., 2009; COUTO; CANNIATTI-BRAZACA, 2010). Cada método possui sua própria escala de valores, o que não permite a comparação entre números absolutos (OLIVEIRA et al., 2009).

Um dos principais pontos questionáveis sobre os ensaios *in vitro* está no fato de que conhecer as propriedades antioxidantes dos alimentos não indica necessariamente sua capacidade antioxidante *in vivo*. Como já dito, o efeito sinérgico (cooperação) de um conjunto de antioxidantes pode ser maior que a soma da atividade de um antioxidante individual. A atividade antioxidante, nestes métodos, é considerada como uma característica global do alimento, não se levando em consideração a sua composição molecular (LÓPEZ-ALARCÓN; DENICOLA, 2013; SCHAICH; XIE, 2015).

Com o uso de ensaios *in vivo* estudam-se alguns aspectos de biodisponibilidade do antioxidante em potencial, como ingestão, metabolismo e seu transporte pelas membranas, importantes ao se avaliar a sua efetividade no meio biológico. O ensaio da atividade antioxidante celular (CAA), utilizado para extratos alimentares e suplementos, é um exemplo que pode ser aplicado, pois avalia-se o

poder regulador do antioxidante sobre enzimas detoxificantes, modulação da sinalização redox celular e expressão gênica, isto é, se o composto tem a capacidade de reduzir o estado oxidativo celular (LÓPEZ-ALARCÓN; DENICOLA, 2013). Estudar a atividade citoplasmática de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase, a catalase e a glutathione peroxidase é uma forma possível de se avaliar a atividade do composto antioxidante *in vivo* (PEREIRA et al., 2014). Outro modelo interessante de estudo da atividade antioxidante de compostos é com o uso de leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, avaliando-se a sobrevivência de células tratadas com os antioxidantes em presença e ausência de agentes estressores, como apomorfina e paraquat (SOARES, ANDREAZZA E SALVADOR, 2004).

2.9 Conservação de bebidas por congelamento e refrigeração

Frutas e vegetais, assim como bebidas mistas de frutas e vegetais, são alimentos muito perecíveis, o que explica a necessidade em se utilizar de métodos de conservação, como o congelamento e a refrigeração.

O congelamento é o modo mais comum em se manter a qualidade dos produtos. Tem-se por certo que as mudanças mais importantes em termos nutricionais nos alimentos são devido ao tempo em que são estocados a esta temperatura. Porém, o congelamento não previne o desenvolvimento de *off-flavour* e deterioração de cor e textura em vegetais congelados, porque os sistemas enzimáticos permanecem ativos mesmo em temperaturas abaixo de zero (CORTÉS et al., 2005). De acordo com Kaulmann et al. (2014) e Cortés et al. (2005) o suco de laranja também pode sofrer por diversas reações de deterioração durante a armazenagem, como degradação do ácido ascórbico, redução de sua turbidez característica, deterioração microbiana, desenvolvimento de “*off-flavour*”, mudanças na cor, textura e aparência. Tudo isso resulta na perda da qualidade do produto.

Basicamente o congelamento é caracterizado por uma redução da temperatura dos alimentos para abaixo do seu ponto de congelamento, com a formação de cristais de gelo, aumentando assim o tempo de conservação por reduzir a atividade da água (REQUE et al., 2014). Apesar de certas alterações ocorrerem em tempos de congelamento longos, o objetivo de se conservar pelo uso

do frio, não só para o suco de laranja, mas para qualquer bebida, é estender a vida-de-prateleira e retardar alterações em características sensoriais e nutritivas, como a vitamina C.

O teor de ácido ascórbico, além de ser um indicador de valor nutricional, pode ser usado, no caso de sucos congelados, como um índice confiável e representativo para se estimar a deterioração do produto, monitorando-se as quedas no teor da vitamina ao longo do tempo de armazenamento (CORTÉS et al., 2005).

Considerando-se estudos sobre o efeito da refrigeração em propriedades físico-químicas e no teor de vitamina C, alguns estudos são encontrados, como em Borges et al. (2011), com suco de abacaxi "Pérola", os quais avaliaram alterações em algumas propriedades físico-químicas e na vitamina C, ao longo de armazenamento sob temperatura ambiente e refrigeração, até 48 horas após preparo. Nele, percebe-se as diferenças entre armazenar a bebida sem e com refrigeração, conservando-se suas características iniciais por um tempo maior quando se usa o frio como método de conservação. Cunha et al. (2014) também analisaram a estabilidade físico-química e teor de vitamina C em sucos de frutas frescas sob diferentes formas de armazenamento, incluindo temperaturas abaixo de 10 °C, por até 24 horas, confirmando também que o uso da refrigeração permite uma maior conservação de suas propriedades em curto período de tempo.

Porém, quando se leva em consideração a capacidade antioxidante de sucos contendo frutas e/ou vegetais, pouca informação ainda está disponível sobre a perda desta propriedade devido ao processamento e à estocagem sob temperatura de refrigeração (± 4 °C), principalmente algumas horas após o preparo. Existem estudos sobre o decaimento do teor de vitamina C, em diversas bebidas, após algumas horas ou dias, mas o efeito desta queda sobre as propriedades antioxidantes destes produtos ainda não foi bem explorado cientificamente. Quanto aos compostos fenólicos totais, também poucos estudos existem, como o de Kim (2015), o qual relata que sucos de vegetais apresentam características flutuantes na concentração destes bioativos, ao longo de alguns dias armazenados a 4 °C, o que influenciaria na capacidade antioxidante dos sucos.

Dessa forma, merece mais atenção o estudo de tempos mais curtos de armazenamento com o uso do frio e seus efeitos na atividade de compostos potencialmente bioativos e com ação antioxidante em bebidas de frutas e/ou

vegetais, levando-se em conta a informação corrente de que necessitam serem consumidas imediatamente após o preparo.

2.10 Aspectos sensoriais de sucos e bebidas mistas

A indústria tem desenvolvido novas apresentações de sucos e bebidas mistas baseadas em frutas e vegetais, as quais atraem dia após dia, mais consumidores (CARMO; DANTAS; RIBEIRO, 2014).

No entanto, as características sensoriais de um produto novo exercem um grande impacto na determinação da sua aceitação e escolha dos consumidores e, em grande parte influenciam suas decisões de compra. A análise sensorial, dessa forma, é um dos métodos mais amplamente utilizados na avaliação de alimentos e para o desenvolvimento bem-sucedido de produtos novos.

A análise sensorial é uma disciplina científica muito utilizada na área de desenvolvimento de novos produtos, principalmente alimentos e, de acordo com *ABNT* (1993) tem o intuito de “evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais, como são percebidos pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição”. A caracterização sensorial é muito importante no acompanhamento de todas as etapas de processo de desenvolvimento de um novo produto alimentício, e também influencia a aceitação e intenção de compra pelo público consumidor (TUORILA; MONTELEONE, 2009).

As metodologias utilizadas para essa caracterização sensorial são classificadas, de acordo com Dutcosky (2013) em:

- Métodos discriminativos: testes de diferença (comparação pareada, comparação múltipla, triangular, teste “A” ou “não A”) ou os testes de sensibilidade (estímulo constante, teste de diluição e outros). Estes métodos servem para diferenciação qualitativa e/ou quantitativa entre as amostras.
- Métodos descritivos: testes de avaliação de atributos (com uso de escalas), perfil de textura, análise descritiva quantitativa (ADQ), tempo-intensidade e outras). Utilizados para descrever características qualitativas ou quantitativas da amostra.

- Métodos afetivos: testes de comparação pareada, ordenação, escala hedônica, escala de atitude. Permitem que o avaliador expresse qual a sua opinião pessoal sobre a amostra analisada.

Os testes afetivos são utilizados para se conhecer a opinião de um determinado grupo de consumidores sobre um produto específico (“população-alvo do produto”). Essa opinião pode ser dada com relação ao produto de uma forma global ou a características específicas, tais como aparência, aroma, sabor e textura (CHAVES; SPROSSER, 2001).

Dentre tais atributos, a aparência visual é geralmente o primeiro item a ser avaliado pelos consumidores, podendo indicar, inclusive, a qualidade e/ou frescor dos alimentos. A cor observada também pode afetar a percepção que o consumidor tem sobre o alimento e a expectativa de como será seu sabor ou aroma (KAIMAINEN et al., 2015).

Os métodos subjetivos ou afetivos são importantes para se determinar o quanto uma população gostou de um determinado produto, avaliando-se, assim, a preferência ou aceitabilidade (DUTCOSKY, 2013).

Buscam-se consumidores que se incluam como público-alvo ou consumidores em potencial do produto. Dessa forma, a seleção da equipe em testes afetivos não está associada à capacidade do julgador de discriminar amostras ou descrever atributos de um produto. Um dos critérios de escolha dos avaliadores que podem ser utilizados é a frequência de consumo do produto em questão (DELLA LUCIA; MINIM; CARDELLO, 2006).

Os testes afetivos podem ser classificados em testes qualitativos e testes quantitativos. Dentre as diversas técnicas, as mais utilizadas para os testes qualitativos são:

- grupos focais
- técnicas etnográficas – baseadas na observação

Já os testes quantitativos são divididos em duas classes principais:

- testes de preferência: pareado, ordenação, pareado ou ordenação múltiplos;

-testes de aceitação: aceitabilidade, avaliação hedônica, escala *just-about-right* (escala do ideal), avaliação dos atributos (diagnóstico), hedônica, intensidade (DUTCOSKY, 2013).

As escalas hedônicas são empregadas para avaliar o quanto o julgador gostou ou desgostou de uma determinada amostra, servindo para a análise de preferência e aceitabilidade dos consumidores (DUTCOSKY, 2013).

A escala hedônica tradicional foi desenvolvida por Jones, em 1955, e por Peryam e Pilgrim (1957) para análise de preferência e aceitabilidade dos consumidores. Ela consiste em uma escala de 9 pontos, sendo os extremos da escala: 1- desgostei muitíssimo e 9- gostei muitíssimo (DUTCOSKY, 2013).

A escala hedônica híbrida é uma escala linear resultante da combinação das escalas estruturadas e não estruturadas. A fim de ser mais favorável ao consumidor do que a escala não estruturada, é ancorada com rótulos afetivos verbais nas regiões média e nos extremos da escala (VILLANUEVA; PETENATE; SILVA, 2005). É uma escala linear que varia de 0 a 10 centímetros, ancorada com rótulos verbais nas regiões média (5 = não gostei nem desgostei) e extremos da escala (0 = desgostei muitíssimo; 10 = gostei muitíssimo). As porções restantes são marcadas com pontos equidistantes, de modo a melhor definir o grau e a orientação da continuidade hedônica (VILLANUEVA; PETENATE; SILVA, 2005).

A escala hedônica híbrida possui as seguintes vantagens sobre a escala hedônica tradicional: (i) não é limitada a um número restrito de categorias, isto é, o julgador pode usar qualquer parte da escala para atribuir os seus valores hedônicos. Isto possivelmente aumenta o poder discriminativo da escala, devido ao fato de os membros da equipe terem mais liberdade para escolher o grau de aceitabilidade, (ii) reduz o erro psicológico de habituação, incentiva o julgador para fazer a sua avaliação de forma criteriosa e consciente, (iii) reduz ou elimina os efeitos numéricos e contextuais, favorecendo a sua utilização em estudos transculturais, (iv) uma vez que esta escala gera dados contínuos, e é possível que os dados sejam utilizados de forma mais segura para uma variedade de análises estatísticas paramétricas e não-paramétricas (VILLANUEVA; PETENATE; SILVA, 2005).

Dada a importância da análise sensorial, inclusive para bebidas mistas diversos estudos, na literatura, tanto em dissertações e teses, quanto em artigos científicos, estão disponíveis. Seguem alguns exemplos: Pereira et al. (2009)

avaliou a aceitação sensorial com escala hedônica de nove pontos e intenção de compra com escala de cinco pontos em formulações de bebida mista à base de água de coco, polpa de abacaxi e acerola; Porto (2015) realizou testes de aceitação com uma bebida mista de laranja e beterraba, assim como Randazzo et al. (2016), o qual avaliou sensorialmente bebidas fermentadas com diversas frutas do mediterrâneo e kefir. Também, Biegańska-Marecik et al. (2017) avaliaram a qualidade sensorial de bebidas preparadas com suco de maçã e folhas de couve, (congeladas ou secas por atomização), avaliando-se os atributos cor, aroma, sabor e textura por meio de uma escala de 0 (altamente indesejável) a 10 cm (altamente desejável).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Elaborar uma formulação de bebida mista de frutas e outros vegetais que seja sensorialmente apreciada e determinar o efeito do armazenamento sob congelamento e refrigeração sobre as propriedades antioxidantes, físico-químicas, teor de ácido ascórbico e aceitação sensorial.

3.2 Objetivos específicos

- Elaborar uma formulação de bebida mista de frutas e outros vegetais.
- Verificar o efeito do armazenamento em temperatura de congelamento (-18 °C) e temperatura de refrigeração (4 °C) sobre as propriedades antioxidantes, físico-químicas (acidez total titulável, sólidos solúveis totais (°Brix), pH, cor, teor de ácido ascórbico, fenólicos totais), aceitação sensorial e intenção de compra.
- Verificar segurança microbiológica da bebida mista com contagem de coliformes termotolerantes (45 °C), além de bolores e leveduras.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Teste preliminar

Anteriormente à realização das análises definitivas, foram feitos testes preliminares para se ajustar a formulação da bebida mista. Também foram feitas análises com a bebida mista, para a avaliação do tempo necessário para a execução completa do projeto e qual o tempo de armazenamento sob baixas temperaturas, além de se verificar se as metodologias escolhidas para as análises foram compatíveis e factíveis nas condições da pesquisa e dos laboratórios.

4.2 Componentes da bebida mista

A escolha dos componentes da bebida teve como base formulações de sucos “verdes” descritos na mídia (produtos disponíveis no mercado, jornais, revistas e outros). A bebida mista foi preparada utilizando-se os seguintes componentes: couve-manteiga (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), laranja Pera Rio (*Citrus sinensis*) e água de coco (*Cocus nucifera*). A água de coco utilizada foi da marca comercial SOCOCO®, em embalagem UHT, de composição: água de coco natural, sacarose (menos de 1% para padronização do produto) e antioxidante INS 223 (metabissulfito de sódio). Todos os componentes foram obtidos na cidade de Arapongas-Paraná, e a bebida mista foi preparada e analisada nos laboratórios do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina. A cada novo preparo do suco, os componentes: couve e gengibre foram pesados, mantendo-se assim a uniformidade de proporção dos sucos. Os volumes de suco de laranja e água de coco foram os mesmos a cada novo preparo.

4.3 Formulação da bebida mista

O preparo da bebida seguiu as boas práticas de fabricação, cuja formulação está disposta no Quadro 5.

Quadro 5 – Formulação da bebida mista de frutas e vegetais

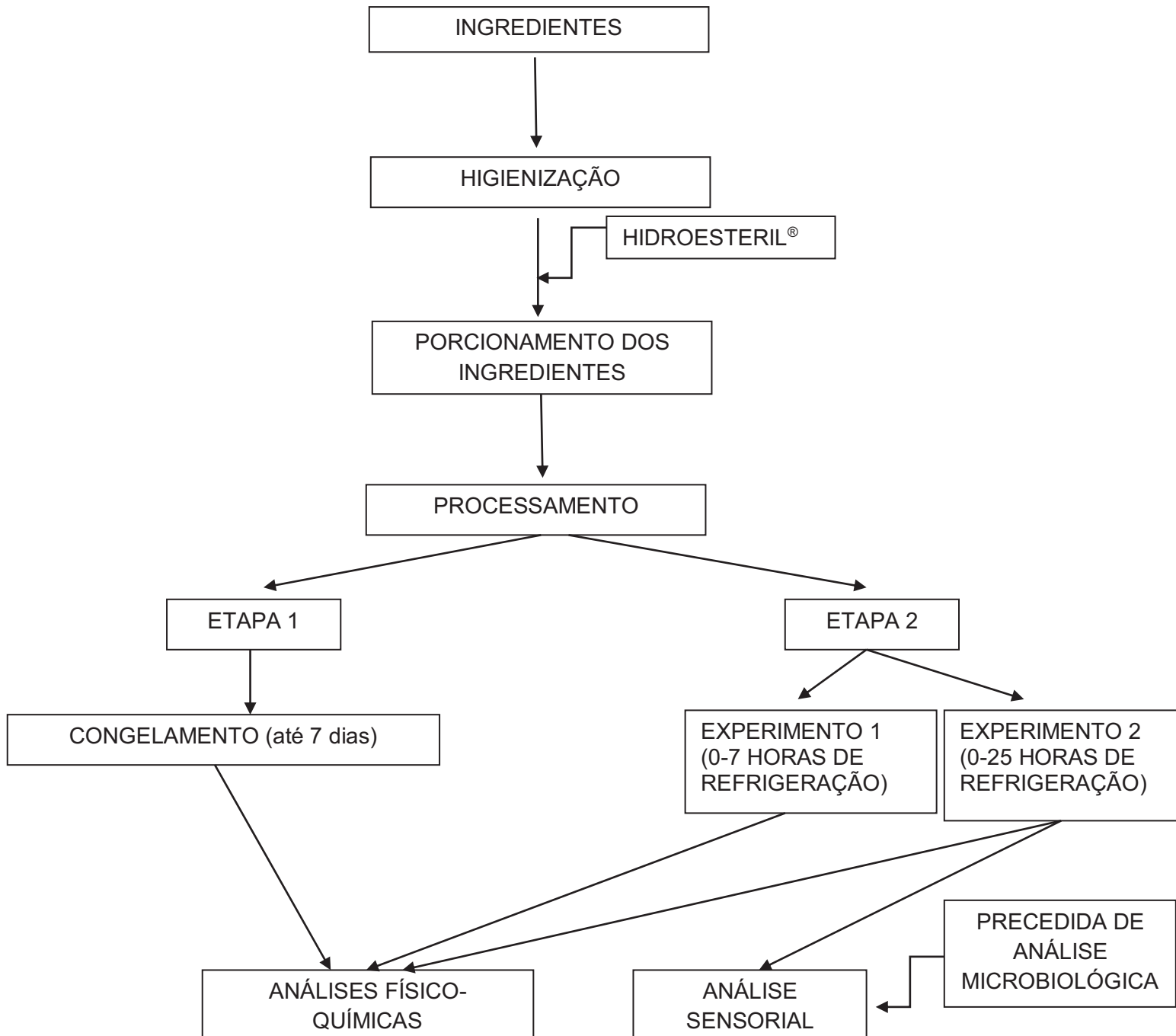
Componentes	Massa ou volume (para 300 mL de bebida)
Água de coco	200 mL
Suco de laranja	100 mL
Folhas de Couve – manteiga	10 grama
Gengibre	1,5 grama

Fonte: o próprio autor.

Inicialmente, as folhas da couve-manteiga passaram por seleção, descartando-se as folhas machucadas, amareladas, quebradiças etc. Então foram lavadas em água corrente e após foram sanitizadas com descontaminante para hortifrutícolas Hidrosteril® ficando imersas por 15 minutos. Posteriormente foram enxaguadas para retirar o excesso do sanificante. As laranjas e o gengibre também foram lavados e sanitizados.

Para o preparo da bebida mista, foram retirados os talos das folhas da couve-manteiga, aproveitando-se apenas o restante das folhas. A quantidade de folhas utilizadas foi padronizada a cada nova preparação da bebida, pesando-se sempre a mesma quantidade. O gengibre, descascado também foi adicionado. Foi obtido, por fim, o suco de laranja, espremendo-se as frutas com uso de espremedor manual. Todos os componentes foram misturados à água de coco em liquidificador, até que se obtivesse uma mistura homogênea (em torno de dois minutos de batimento moderado). O suco foi coado em tecido de *voil*, por fim, para retirada de partículas maiores que prejudicassem os ensaios e dificultassem a ingestão pelos avaliadores. A bebida mista foi acondicionada em frascos de vidro de 50 mL com tampa de rosca ou em frascos de plástico de 200 mL (para análise sensorial) e armazenada sob congelamento ou refrigeração (Figura 3).

Figura 3 - Etapas de preparo da bebida mista



4.4 Armazenamento

O estudo do efeito do armazenamento consistiu em duas etapas. Na primeira avaliou-se o efeito do congelamento por até sete dias, onde as amostras da bebida mista recém-preparada e após congelamento (-18 °C) foram caracterizadas quanto à atividade antioxidante e físico-quimicamente.

Na segunda avaliou-se o efeito da refrigeração e constou de dois experimentos, um com duração de sete horas e outro, de 25 horas. Para esta etapa, uma nova preparação de bebida mista foi feita, armazenando-se as amostras em refrigerador doméstico (± 4 °C) sob tempos diferentes: recém preparada ou tempo zero, 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 horas (Experimento 1). No Experimento 2, uma nova preparação da bebida mista foi armazenada por 0, 10, 13, 16, 19, 22 e 25 horas a ± 4 °C.

Após o período de refrigeração, as amostras foram armazenadas em congelador doméstico (-18 °C) até a realização das análises (período inferior a sete dias) das propriedades antioxidantes, físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. A bebida do tempo zero era preparada e logo em seguida, congelada. As amostras eram descongeladas em geladeira momentos antes das análises.

4.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Para as análises físico-químicas, exceto a análise de cor, as amostras de bebida mista foram centrifugadas a 4700 rpm por 20 minutos, em centrífuga refrigerada à 10 °C, utilizando-se o sobrenadante para as análises.

DETERMINAÇÃO DE COR

Os parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) CIELab[®] da bebida mista foram determinados em um colorímetro de reflectância Minolta[®] CR-300. Neste sistema, valores de a^* positivos indicam a cor vermelha e valores negativos, a cor verde (espectro vermelho-verde). Valores de b^* positivos indicam o componente amarelo, e negativos, o componente azul (espectro amarelo-azul). L^* é uma medida aproximada de luminosidade, onde o zero é o preto e 100 o branco (LEAHU et al., 2013). Para a Etapa 1 do estudo, calculou-se a tonalidade cromática (h°) = $180^\circ + \arctang(b^*/a^*)$, sendo 0° = vermelho puro, 90° = amarelo puro, 180° = verde puro e 270° = azul puro, para amostras de $a^* < 0$ e $b^* > 0$ (RANDAZZO et al., 2016).

DETERMINAÇÃO DE pH

O pH das bebidas mistas foi avaliado utilizando-se pHmetro digital Mettler Toledo® à temperatura ambiente, tendo sua calibração previamente verificada com o uso de tampões fosfato 4,0 e 7,0, conforme AOAC (1995).

TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS EM °BRIX

A determinação de sólidos solúveis foi estimada pela medida de seu índice de refração, com refratômetro digital portátil, marca Atago®, modelo PAL – BX/RI, de acordo com AOAC (1995).

ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL POR VOLUMETRIA POTENCIOMÉTRICA

A acidez total das amostras foi determinada por titulação, com soluções de hidróxido de sódio NaOH (0,01Mol/L) até pH 8,2 - 8,4, conforme metodologia descrita pela AOAC (1995). Os resultados foram expressos em grama de ácido cítrico/ mL de bebida.

TEOR DE ÁCIDO ASCÓRBICO

O teor de ácido ascórbico foi determinado titulometricamente pelo método de Tillmans, de acordo com a metodologia descrita pela AOAC (1995), o qual se baseia na redução do corante sal sódico DCFI (2,6-diclorofenol indofenol) na presença de ácido ascórbico.

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu, conforme descrito por Swain & Hills (1959), com algumas modificações. Neste método ocorre a redução do reagente de Folin pelos compostos fenólicos formando um complexo azul, que absorve no comprimento de 760 nm.

A amostra foi diluída a 20% com a mistura etanol : água 80%, anteriormente às análises. Uma alíquota de 0,5 mL de amostra foi adicionada a 2,5 mL de solução

aquosa de Folin-Ciocalteu a 10%. Adicionou-se à mistura 2 mL de carbonato de sódio a 7,5%, incubando-se em a 50 °C por 5 min. Após, esfriou-se em banho de gelo até temperatura ambiente. A absorbância foi lida a 760 nm em espectrofotômetro UV/VIS, utilizando-se etanol como branco. A partir da curva-padrão de ácido gálico, de concentrações de 20 a 70 µg de ácido gálico/mL, foi calculada a concentração total de fenóis, expressos em equivalentes de ácido gálico/mL de amostra (µg EAG/mL).

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Para a determinação da atividade antioxidante da bebida mista, por meio dos métodos de ABTS, DPPH e FRAP, utilizou-se do mesmo preparo das amostras já explicitado na metodologia de determinação de compostos fenólicos totais.

- **ENSAIO ABTS**

O ensaio ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Sanchez-Gonzales; Jiménez-Escrig; Saura-Calixto (2005). O radical ABTS foi gerado pela mistura de 7 mMol/L de ABTS com 2,45 mMol/L de persulfato de potássio, seguido de armazenamento no escuro à temperatura ambiente durante 16 h antes do emprego. O radical formado foi diluído com tampão fosfato a pH 7,4 até absorbância de $0,70 \pm 0,02$ a 730 nm em espectrofotômetro UV/VIS. A amostra diluída 1:5 (etanol 80%) (10 µL) foi misturada com a solução de ABTS (4 mL), e após seis minutos, depois a absorbância foi lida (730 nm). A curva-padrão foi construída com soluções-padrão de Trolox, de concentrações de 75 a 2000 µg/mL. Os resultados foram expressos em µMol de Trolox/mL.

- **ENSAIO DPPH**

O ensaio DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) foi conduzido de acordo com Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Em um tubo de ensaio foram misturados 1,0 mL de tampão acetato de sódio 100 mMol/L em pH 5,5; 1 mL de etanol absoluto, 0,5 mL de solução etanólica de DPPH 250 µmol/L e 50 µL da amostra diluída. Os

tubos de ensaio foram mantidos à temperatura ambiente durante 30 min, no escuro, e a absorbância da solução foi lida a 517 nm em espectrofotômetro UV/VIS. Um controle positivo contendo todas as soluções, exceto a amostra, foi utilizado. Para as análises da Etapa 1, os resultados foram expressos em μg de Trolox/mL. Para a Etapa 2, os resultados foram expressos em porcentagem de inibição, calculada em relação a um controle, conforme a Equação 1. Em ambas, construiu-se uma curva padrão de Trolox, de concentrações 25 a 200 μg Trolox/mL.

$$\text{Inibição (\%)} = \frac{\text{Absorbância do controle} - \text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância do controle}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

- **ENSAIO FRAP**

O ensaio FRAP (poder de redução dos íons ferro) foi realizado de acordo com Benzie e Strain, 1996. O reagente FRAP foi preparado misturando-se o tampão acetato (0,3 mol/L), TPTZ (10 mmol/L) e $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (20 mmol/L) na proporção 10:1:1. Para um volume de 30 μL da bebida diluída, foram adicionados 90 μL de água destilada e 900 μL do reagente FRAP a tubos de ensaio, que foram homogeneizados em agitador de tubo, sendo a mistura mantida no escuro durante 30 min a 37 °C. Um branco, sem amostra, foi preparado. A leitura da absorbância foi a 595 nm, em espectrofotômetro UV/VIS. Os resultados, expressos em μmol de Trolox/mL de amostra, foram calculados a partir da curva-padrão de Trolox, de concentrações 50 a 600 $\mu\text{mol/L}$.

4.6 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

As amostras da bebida mista de tempos 0, 13 e 25 horas de refrigeração (Experimento 2 da Etapa 2) foram avaliadas quanto ao seu número mais provável (NMP/mL) de coliformes a 45 °C e contagem de bolores e leveduras, de acordo com Brasil (2003).

4.7 ANÁLISE SENSORIAL

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina (UEL) (CAE: 50936015.5.0000.5231, parecer nº 1.356.412 de 08/12/2015). Amostras das bebidas refrigeradas por 0, 13 e 25 horas foram avaliadas quanto à aceitação de atributos e intenção de compra por uma equipe de avaliadores não-treinados (consumidores) que aceitaram participar do teste.

4.7.1 Perfil dos Avaliadores

Uma equipe de 95 indivíduos não-treinados, na sua maioria alunos de graduação e pós-graduação do Centro de Ciências Agrárias da UEL, foi recrutada por meio de convite pessoal para participar do teste, após a exposição e objetivos do projeto e por serem consumidores regulares de sucos em geral.

Aqueles que aceitaram participar do teste foram esclarecidos quanto ao produto e procedimentos do teste, conforme o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (Anexo A). Também foi solicitado aos participantes que respondessem a um questionário (Anexo B), com perguntas sobre os dados pessoais e de consumo de sucos de frutas e de bebidas preparadas com outros vegetais. No Quadro 6 está o perfil dos avaliadores que participaram do teste sensorial de aceitação.

Quadro 6 - Perfil dos avaliadores do teste sensorial de aceitação

Perfil dos avaliadores	Experimento
Sexo	64,2% do sexo feminino e 35,8% do sexo masculino.
Idade	19% com 16-20 anos; 44,2% com 21-25 anos; 27,3% com 26-30 anos; 10,5% com mais de 31 anos.
Escolaridade	1% ensino fundamental completo; 44,2% ensino médio completo; 54,7% pelo menos ensino superior completo.
Frequência de consumo de suco de frutas	34,7% consumo diário; 50,5% semanal; 3,15% mensal; 11,58% eventualmente.
Frequência de consumo de suco de frutas e hortaliças	20% consumo frequente; 45,2% consumo moderado; 30,5% ocasionalmente; 4,21% nunca consomem.
Apreciação de suco de laranja	97,9% gostam; 2,1% não gostam nem desgostam.
Apreciação de água de coco	76,8% gostam; 13,68% não gostam nem desgostam; 10,52% não gostam.
Apreciação de suco contendo couve	57,9% gostam; 31,58% não gostam nem desgostam; 4,21% não gostam; 6,31% nunca provaram.
Apreciação de bebidas contendo gengibre	50,5% gostam; 25,2% não gostam nem desgostam; 15,79% não gostam; 9,47% nunca provaram.
Frequência de consumo de couve sem ser em sucos	88,4% consomem; 10,52% não consomem.
Frequência de consumo de gengibre sem ser em sucos	69,47% consomem; 29,47% não consomem.

Fonte: o próprio autor

4.7.2 Condições da Análise Sensorial

O teste de aceitação da bebida mista foi realizado em cabines individuais, sob luz branca e temperatura ambiente no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (UEL).

Para o teste, 30 mL da bebida foram servidos em copos de acrílico de 50 mL, codificados com números de 3 dígitos aleatórios, de forma monádica e sequenciada, à temperatura aproximada de 4 °C e em única sessão. Água potável a temperatura ambiente foi utilizada para a limpeza da boca antes e após a avaliação da bebida.

4.7.3 Teste de Aceitação

A aceitação da bebida mista foi avaliada pelos testes de aceitação de atributos (aparência, aroma, sabor, textura e aceitação global) e de intenção de compra. A aceitação de cada atributo foi avaliada por meio da escala hedônica híbrida de 10 cm, onde 0 corresponde a desgostei extremamente e 10 gostei extremamente, proposta por Villanueva, Petenate e Silva (2005). A intenção de compra foi avaliada com uma escala de cinco pontos, em que 5 representa certamente compraria e 1 certamente não compraria (STONE; SIDEL, 2004) (Figura 4).

4.8 Delineamento Experimental e Análise Estatística

O delineamento experimental da Etapa 1 (experimento de congelamento da bebida mista) foi inteiramente casualizado, com três repetições, sendo que, em cada repetição do experimento, foram realizadas duas determinações de cada análise. Foram realizadas análise de variância, teste F e teste de Tukey. Para a Etapa 2 (Experimentos 1 e 2 de refrigeração ao longo de sete e de 25 horas), os dados ($n = 6$) foram tratados por análise de regressão. Para a análise sensorial, empregou-se o delineamento de blocos completos casualizados, e os dados tratados por ANOVA de (tratamentos = amostras refrigeradas em diferentes tempos e blocos = avaliadores) e teste de Tukey. O nível de significância considerado foi $p \leq 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ETAPA 1 - CARACTERIZAÇÃO DA BEBIDA MISTA DE FRUTAS E VEGETAIS E EFEITO DO CONGELAMENTO SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

As características físico-químicas, tais como teores de sólidos solúveis totais, acidez titulável, pH e cor, podem ser consideradas indicadoras das características sensoriais, importantes no consumo da bebida mista, assim como para a sua industrialização (DANIELI et al., 2005).

5.1.1 Cor da bebida mista

Os valores dos parâmetros de cor L^* , a^* , b^* e tonalidade cromática (h°) estão apresentados na Tabela 1. Os valores de luminosidade (L^*) da bebida mista mantiveram-se em torno de 33, indicando que a bebida possui uma baixa luminosidade, ou seja, está mais distante do branco (100). Neste caso, este valor pode ser explicado pela quantidade de pequenas partículas dispersas na bebida (provenientes dos ingredientes) que impedem a passagem de luz. Assim, o valor observado não indica uma luminosidade próxima do preto, mas também a turbidez devido à presença das partículas.

Os valores negativos do parâmetro a^* (próximos a -5) indicam coloração esverdeada clara originária, principalmente, do ingrediente couve-manteiga. Os valores positivos de b^* (próximos a 6,5) indicam a cor mais amarelada (DAMODARAN; PARKIN; FENEMMA, 2008). Os valores de tonalidade cromática (h°) estiveram em torno de 127° , indicando uma bebida de coloração verde-amarelada. Isso pode ser devido à utilização de folhas de couve mais jovens, de coloração verde-clara, somadas ao suco de laranja (amarelado).

Valores próximos a 115° foram encontrados em amostras de erva-mate, por Malheiros (2007), indicando coloração verde-clara. Bebidas fermentadas com suco de kiwi analisadas em Randazzo et al. (2016) apresentaram valores médios de 108° . Não se observou diferença ($p > 0,05$) em nenhum dos parâmetros de cor avaliados ao longo do armazenamento a -18°C , em período menor que sete dias, indicando que o armazenamento não interferiu na coloração da bebida mista. Outros vegetais, como polpas de manga congeladas a -18°C apresentam ligeiras alterações nos parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) ao longo de seis meses de congelamento, indicando

que este método de conservação leva a estabilidade aos produtos, mesmo em períodos longos de armazenamento (FARAONI et al., 2008).

Tabela 1 - Parâmetros de cor em amostras da bebida mista de frutas e vegetais recém-preparada e congelada

Bebidas	L*	a*	b*	h°
RP	33,163 ± 0,434 ^a	- 5,130 ± 0,277 ^a	6,638 ± 0,361 ^a	127,697 ± 0,303 ^a
C	33,018 ± 0,176 ^a	- 4,812 ± 0,470 ^a	6,290 ± 0,243 ^a	127,349 ± 1,658 ^a

* Média ± Desvio padrão na mesma coluna, acompanhadas de letras minúsculas iguais, não indicam diferenças a $p > 0,05$ entre a bebida recém-preparada e a mesma amostra congelada.

** RP = Bebida recém-preparada; C = Bebida congelada.

*** L* = 0 (preto), L* = 100 (branco); a* = -a* (verde), +a* (vermelho); b* = -b* (azul), +b* (amarelo), h° (tonalidade cromática): $180^\circ + \arctang(b^*/a^*)$, 0° = vermelho puro, 90° = amarelo puro, 180° = verde puro, 270° = azul puro.

5.1.2. Características físico-químicas e teor de ácido ascórbico

O teor de sólidos solúveis, acidez total titulável, pH e ácido ascórbico da bebida mista estão dispostos na Tabela 2. Os sólidos solúveis estiveram em torno de 6,5 °Brix. Esse valor representa, em média, os ingredientes da bebida mista. Cunha et al. (2014) encontraram valores médios de 8,5 °Brix em suco de laranja, e a água de coco esterilizada deve conter valores máximos de 6,7 °Brix (MAPA, 2009). Ademais, deve-se considerar a contribuição da couve e do gengibre. O teor de sólidos solúveis é influenciado pela maturação, local de colheita e clima, o que impacta no teor de açúcares presentes nas frutas e vegetais e, conseqüentemente, nas bebidas mistas preparadas com tais ingredientes.

A acidez total titulável situou-se próxima a 0,23 g de ácido cítrico/mL e o pH, próximo de 3,8, indicando uma bebida ácida, resultante da mistura dos ingredientes empregados. O pH da água de coco esterilizada deve estar entre 4,6 a 5,4 (MAPA, 2009), o suco de laranja pera Rio pasteurizado mostrou pH de 3,88 em estudo de Porto (2015) e Kim (2012) observou pH próximo de 6,05 em suco de couve em água. Em formulação de bebida mista de acerola e água de coco, Lima et al. (2008) observaram pH de 3,38 e acidez de 0,45 g de ácido cítrico/mL.

O teor de ácido ascórbico da bebida mista foi de aproximadamente 12,7 mg por 100 mL. Em uma porção de 200 mL da bebida mista, tem-se em média 25,4 mg de ácido ascórbico, o correspondente a cerca de 56,4% da Ingestão Diária Recomendada (IDR) para adultos (45mg/dia), segundo a ANVISA (BRASIL, 2004). Dois exemplos encontrados no mercado de bebidas mistas verdes em embalagem

UHT e com apelo “detox” declaram teor de 21 mg e 30 mg (na porção de 200 mL) de vitamina C, estando próximos ao desta bebida mista, quando recém-preparada.

Tabela 2 - Sólidos solúveis, acidez total titulável, pH e ácido ascórbico da bebida mista de frutas de vegetais recém-preparada e congelada

Bebidas	SST	ATT	pH	AA
RP	6,53 ± 0,057 ^a	0,2350 ± 0,0043 ^a	3,85 ± 0,005 ^a	12,799 ± 0,030 ^a
C	6,48 ± 0,130 ^a	0,2372 ± 0,0031 ^a	3,87 ± 0,007 ^a	12,747 ± 0,030 ^a

* Médias ± Desvios padrão na mesma coluna, acompanhadas de letras minúsculas iguais, não indicam diferenças a $p > 0,05$ entre a bebida recém-preparada e a mesma amostra, congelada.

** RP = Bebida recém-preparada; C = Bebida congelada.

***SST: Sólidos Solúveis Totais (°Brix); ATT: Acidez Total Titulável (g de ácido cítrico/mL); AA: ácido ascórbico (mg de ácido ascórbico/100mL).

Durante o congelamento não houve mudança do teor de sólidos solúveis e acidez da bebida mista ($p > 0,05$), indicando não ter ocorrido degradação por reações químicas, enzimáticas ou consumo de açúcares por microrganismos durante o congelamento.

O conteúdo de ácido ascórbico também não se alterou após o congelamento ($p > 0,05$). Phillips et al. (2016) observaram estabilidade do ácido ascórbico (mensurada pela técnica de *HPLC*) em alguns homogeneizados de frutas e vegetais crus durante o congelamento em freezer convencional (-10 °C a -20 °C), por período aproximado de sete dias. Períodos mais longos (meses) de congelamento podem levar a diminuições do teor de ácido ascórbico, que apesar de não serem expressivas, são quantificáveis quando se utilizam métodos e equipamentos mais precisos, como o *HPLC*, ao contrário do método titulométrico tradicional (CORTÉS et al., 2005; CORTE-ELEUTÉRIO; SALGADO, 2007).

Os resultados indicam que o armazenamento a temperaturas de congelamento em período menor que sete dias não altera de forma significativa as características físico-químicas, como o teor de sólidos solúveis totais, a acidez total titulável, pH e ácido ascórbico do produto, permitindo a manutenção de sua qualidade (CORTÉS et al., 2005).

5.1.3 Compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante

Os valores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante da bebida estão descritos na Tabela 3. O conteúdo de compostos fenólicos totais na bebida

recém-preparada foi de 254 µg de ácido gálico/mL, próximo ao observado por Costa et al. (2012) (222 µg de ácido gálico/mL) em suco misto comercial de abacaxi e uva.

A atividade antioxidante da bebida mista recém-preparada avaliada pelo ensaio de ABTS foi de 2,4 µmol de Trolox/mL, valor cerca de cinco vezes (11,1 µmol de Trolox/mL) inferior observado por Reque et al. (2014) em suco integral de blueberry, uma fruta que apresenta alta atividade antioxidante, principalmente devido ao seu conteúdo de antocianinas e fenóis (PRIOR et al., 2008; SEERAM, 2008; REQUE et al., 2014). Em outro estudo, uma formulação de suco misto de maçã e couve apresentou valor médio de 6,63 µmol de Trolox/mL (BEIGAŃSKA-MARECIK, 2017).

Quando avaliou-se a atividade antioxidante pelo método de FRAP, o resultado foi de 1,29 µmol de Trolox/mL. Moreno-Montoro et al. (2015) encontraram, em suco comercial de uva branca, valores médios de 2,8 µmol de Trolox/mL, cerca de duas vezes maiores que a bebida mista. Já pelo método de DPPH, a atividade antioxidante foi de 298,5 µg de Trolox/mL, valor próximo (294 µg de Trolox/mL) ao de uma bebida mista comercial composta por laranja, maracujá e limão (COSTA et al., 2012).

Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre a amostra de bebida recém-preparada e após seu congelamento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, em relação ao conteúdo de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, avaliada pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP. A ausência de alterações nas propriedades redutoras e antioxidantes demonstra que o armazenamento a temperaturas de congelamento atrasa a ocorrência de reações químicas e enzimáticas degradativas dos compostos com atividade biológica em potencial (compostos fenólicos em geral, vitaminas C e E, além dos carotenoides). A atividade destes compostos potencialmente bioativos é importante na inibição das reações oxidativas danosas às células (REQUE et al., 2014).

Tabela 3 - Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante da bebida mista de frutas e vegetais recém-preparada e congelada

Bebidas	Fenólicos Totais	ABTS	FRAP	DPPH
RP	253,9 ± 9,83 ^a	2,99 ± 0,11 ^a	1,284 ± 0,104 ^a	310,58 ± 20,10 ^a
C	251,7 ± 2,55 ^a	2,501 ± 0,03 ^a	1,309 ± 0,036 ^a	286,47 ± 18,13 ^a

* Média ± Desvio padrão na mesma coluna, acompanhadas de letras minúsculas iguais, não indicam diferenças a $p > 0,05$ entre a bebida recém-preparada e a mesma amostra congelada.

** RP = Bebida recém-preparada; C = Bebida congelada. *** Fenólicos Totais: expressos em μg de ácido gálico/mL; ABTS: expressos em μmol de Trolox/mL; FRAP: expressos em μmol de Trolox/mL; DPPH: expressos em μg de Trolox/mL.

Conclui-se, nesta primeira etapa da pesquisa, que o congelamento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, por período de até sete dias ofereceu estabilidade físico-química (cor, sólidos solúveis, acidez, pH), teor de ácido ascórbico e da capacidade antioxidante.

Uma vez que ficou comprovada a estabilidade da bebida mista congelada, na segunda etapa da pesquisa, onde avaliou-se o efeito da refrigeração sobre os mesmos parâmetros, pode-se armazenar a bebida sob congelamento, após atingir os tempos de refrigeração do estudo, até o momento das análises.

5.2 ETAPA 2 - EFEITO DO ARMAZENAMENTO A $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ACEITAÇÃO DA BEBIDA MISTA DE FRUTAS E VEGETAIS

Os Experimentos 1 e 2 foram conduzidos em épocas diferentes, com o preparo da formulação da bebida com os ingredientes obtidos em cada época. Assim, houve diferença entre os valores dos parâmetros avaliados no tempo zero em cada experimento.

5.2.1 Cor da bebida mista

A Figura 5 demonstra o comportamento dos parâmetros de cor da bebida durante a estocagem refrigerada. Não foi observada variação ($p > 0,05$) da luminosidade (L^*) no período de sete ou 25 horas (Figura 5A e 5B) sendo que no período de sete horas o valor médio foi de 27,42 e no de 25 horas foi de 30,73, indicando que a bebida era escura. A presença de pequenas partículas suspensas nas amostras da bebida pode ter influenciado nos baixos valores de luminosidade.

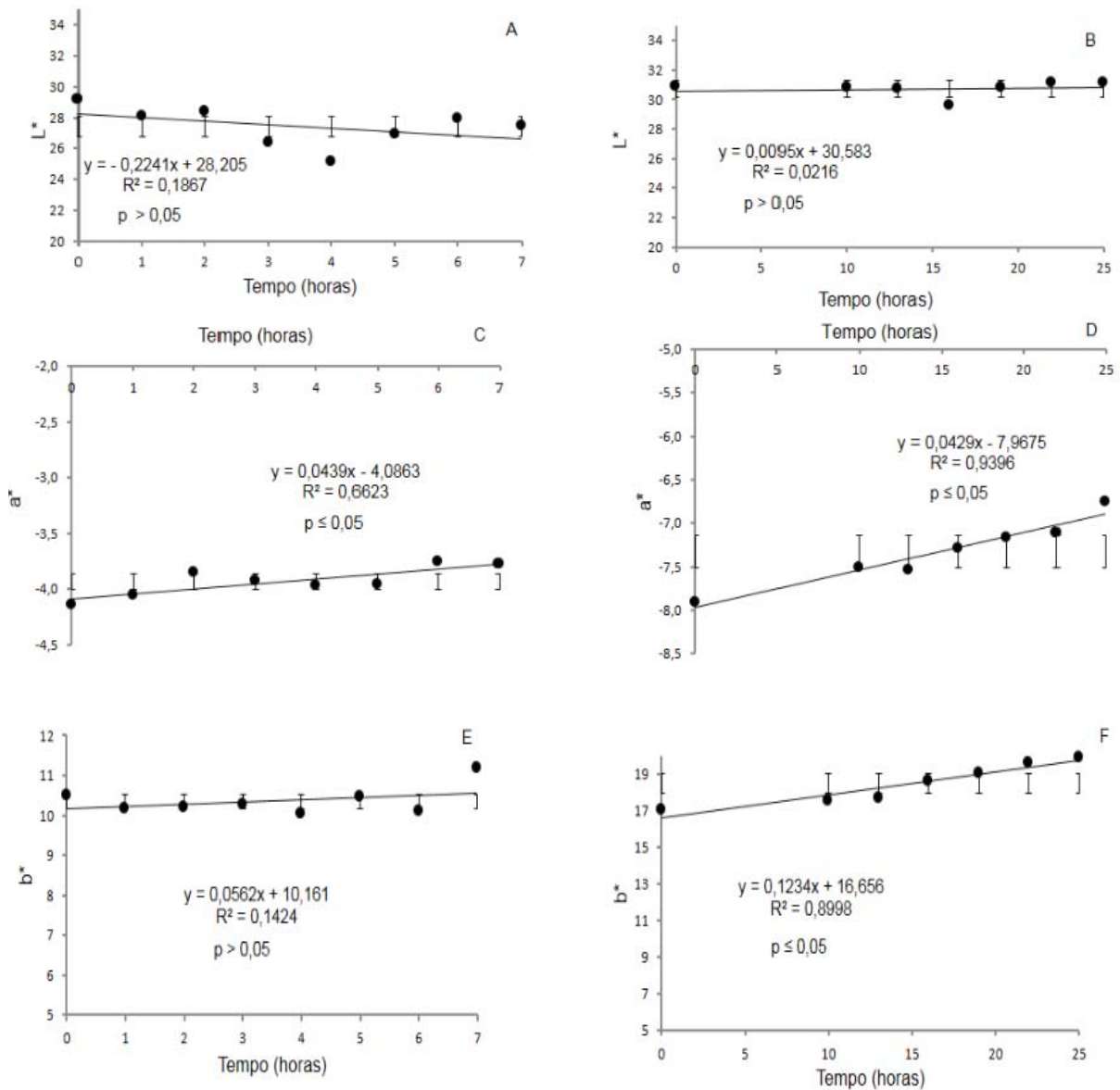
Os valores negativos de a^* indicam a cor verde da bebida, que decresceram negativamente de - 4,12 para - 3,78 no período de armazenamento de sete horas ($p \leq 0,05$) (Figura 5C). O comportamento é evidenciado pela equação da reta: $y = 0,0439x - 4,0863$, que explicou (R^2) 66,23% dos dados. No período mais longo de armazenamento (25 horas) (Figura 5D), o comportamento de redução da cor verde (de - 7,91 para - 6,75) manteve-se, sendo descrito pela equação da reta $y = 0,0429x - 7,9675$, cujo modelo explicou 93,96% dos dados ($p \leq 0,05$).

Já para a coordenada b^* , não houve diferença ($p > 0,05$) durante o armazenamento de sete horas (Figura 5E). Mas ao longo das 25 horas, houve aumento no valor de 17,08 para 19,88 ($p \leq 0,05$), indicando a intensificação da cor amarela (Figura 5F). O coeficiente de determinação (R^2) da regressão ($y = 0,1234x + 16,656$) explicou aproximadamente 90% dos dados. A variação de cor da bebida mista estudada para menos esverdeada e mais amarelada, tanto no período de sete horas, como no de 25 horas (variação mais intensa) indicam que a mesma perdeu a aparência de recém-preparada e fresca.

A degradação do pigmento clorofila, de coloração verde brilhante, devido à couve-manteiga, pode ser devido a diversos fatores, como o pH ácido característico da bebida mista, ao dano celular causado durante o processamento e à reações enzimáticas e oxidativas ao longo do armazenamento. O pH ácido ocasiona o efeito de feofitinação, com a substituição do íon Mg^{+2} da molécula de clorofila por íons H^+ , convertendo-a em feofitina (verde-oliva), que torna a bebida mais amarelada/amarronzada (MALHEIROS, 2007).

O processamento da bebida também leva à ruptura das moléculas de clorofila, as quais estão associadas a carotenoides, presentes na bebida, e em condições normais mascaram a coloração destes. Com a injúria celular após processamento, a coloração mais amarelada, advinda dos carotenoides (presentes na couve e na laranja), se sobressai. Por fim, a mudança para tons mais amarelados (aumento de b^*) e diminuição da característica verde (a^* menos negativo) pode ter sido decorrente também de reações degradativas com produção de compostos mais amarronzados (reações oxidativas e enzimáticas) (MALHEIROS, 2007; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2008).

Figura 5 – Variação dos parâmetros de cor da bebida mista durante tempo de armazenamento refrigerado (4 °C)



Barras indicam o desvio-padrão (n = 6). A e B = Valores de luminosidade (L^*) durante sete e 25 horas, respectivamente. C e D = Valores de a^* durante sete e 25 horas, respectivamente. E e F = Valores de b^* durante sete e 25 horas, respectivamente. $L^* = 0$ (preto), $L^* = 100$ (branco); $a^* = -a^*$ (verde), $+a^*$ (vermelho); $b^* = -b^*$ (azul), $+b^*$ (amarelo).

5.2.2. Propriedades físico-químicas e teor de ácido ascórbico

O comportamento dos sólidos solúveis (°Brix), da acidez total titulável e do pH das bebidas mistas durante o período de sete e de 25 horas de refrigeração estão apresentados nas Figuras 6 a 8.

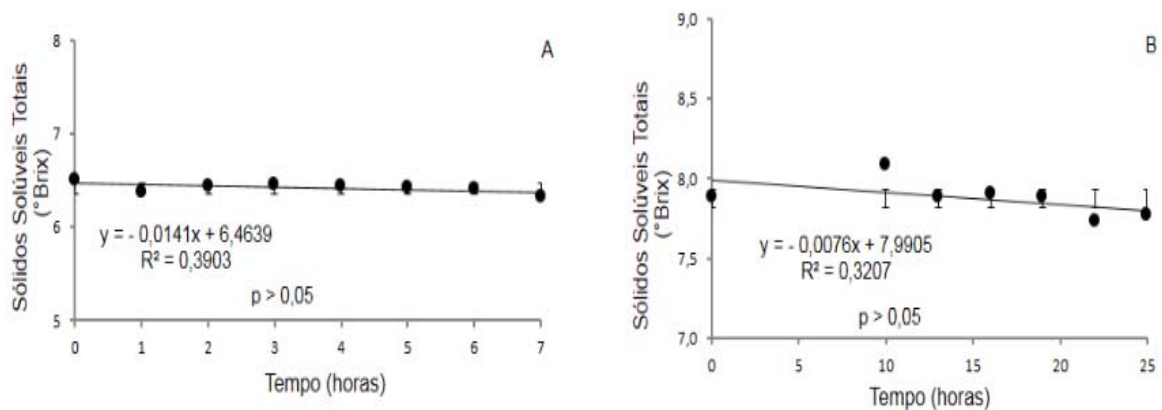
Os sólidos solúveis não variaram em ambos períodos de armazenamento ($p > 0,05$). No Experimento 1 (sete horas) a média foi de 6,41 °Brix e, no Experimento 2

(25 horas), foi de 7,88 °Brix (Figuras 6A e 6B). A acidez total titulável, em gramas de ácido cítrico/mL, também não mostrou alteração no armazenamento de sete horas e de 25 horas ($p > 0,05$) (Figuras 7A e 7B).

Os resultados indicam que não houve reações químicas, enzimáticas ou atividade microbiana que alterassem substancialmente o teor de açúcares totais e a acidez da bebida mista, com o decorrer do tempo de armazenamento (LIMA et al., 2008). A presença do conservador metabissulfito de sódio na água de coco por ter contribuído para a maior estabilidade da bebida, além do armazenamento sob refrigeração, que retarda o desenvolvimento de microrganismos.

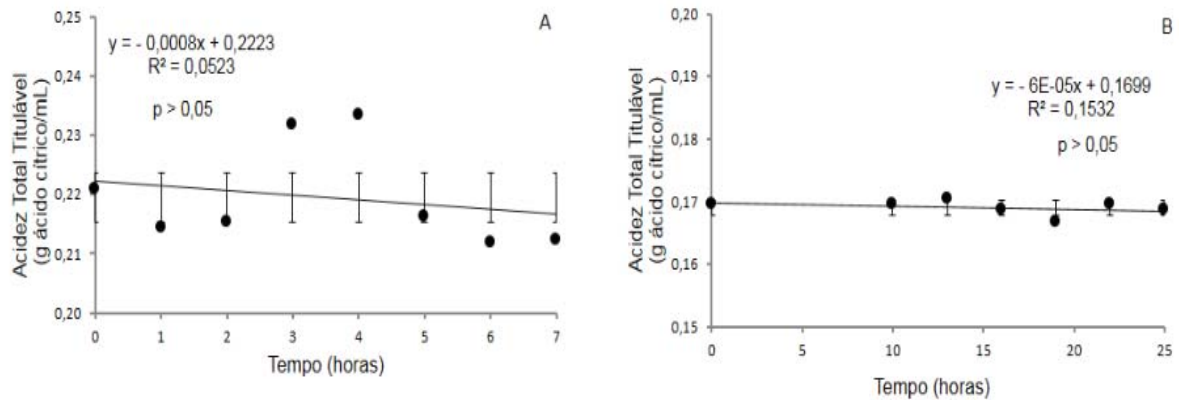
Cunha et al. (2014) também não encontraram alterações na acidez de amostras de suco de laranja, ao longo de 27 horas sob refrigeração, sendo uma justificativa a acidez característica da bebida, que leva à inibição do desenvolvimento microbiano, e à presença de terpenos próprios do suco de laranja, como o limoneno, com reconhecida atividade microbiana (TAJKARIMI; IBRAHIM; CLIVER, 2010).

Figura 6 – Variação dos sólidos solúveis totais da bebida mista de frutas e vegetais durante armazenamento refrigerado (4 °C)



As barras indicam o desvio-padrão (n = 6). A = Refrigeração por até sete horas. B = Refrigeração por até 25 horas.

Figura 7 – Variação da acidez total titulável da bebida mista de frutas e vegetais durante armazenamento refrigerado (4 °C)

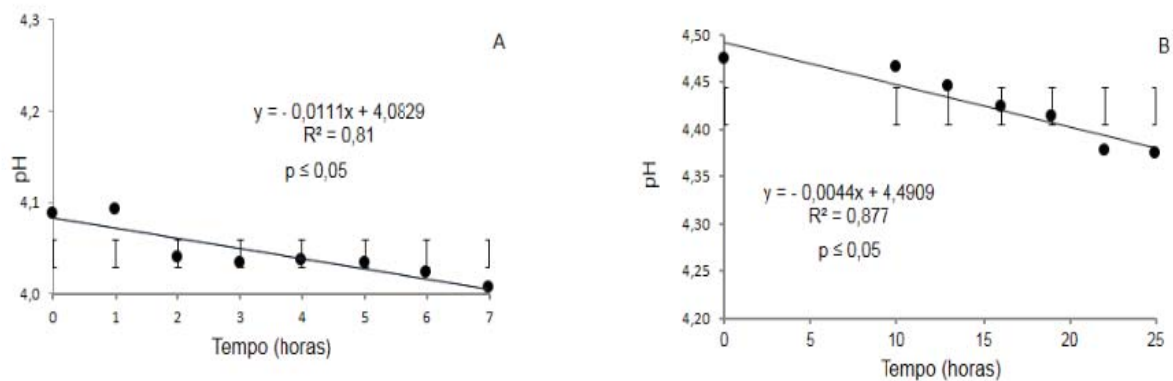


As barras indicam o desvio-padrão (n = 6). A = Refrigeração por até sete horas. B = Refrigeração por até 25 horas.

Observou-se um declínio pequeno, mas significativo dos valores de pH ($p \leq 0,05$) com o decorrer da refrigeração por sete (de 4,09 para 4,01) ou 25 horas (de 4,47 para 4,39). No primeiro caso (sete horas), a relação é demonstrada pela equação da reta $y = -0,0111x + 4,0829$, que explicou 81% dos dados e, no segundo (25 horas), pela equação da reta $y = -0,0044x + 4,4909$, e valor de $R^2 = 0,877$. A significância da diferença pode ser explicada pelos baixos valores de desvio-padrão entre as repetições e determinações e também pelo armazenamento sob refrigeração ser eficiente em manter os valores de pH relativamente estáveis ao longo do tempo, principalmente considerando-se um tempo curto de armazenamento. O comportamento do pH da bebida mista é semelhante ao estudado por Borges et al. (2011) em suco de abacaxi "Pérola" armazenado com e sem refrigeração por até 48 horas, no qual as amostras sob refrigeração demonstraram maior estabilidade de valores de pH, comparando-se com as amostras sem refrigeração.

A pequena redução do pH indica que reações degradativas (químicas e/ ou enzimáticas) estão se iniciando, levando a formação de produtos ácidos, ainda em baixas concentrações, mas que estas alterações necessitam de um tempo maior do que algumas horas para se tornarem mais substanciais, principalmente sob armazenamento a temperaturas mais baixas.

Figura 8 – Variação do pH da bebida mista de frutas e vegetais durante armazenamento refrigerado (4 °C)



As barras indicam o desvio-padrão (n = 6). A = Refrigeração por até sete horas. B = Refrigeração por até 25 horas.

Houve redução de 11,68 para 9,51 mg de ácido ascórbico/100mL da bebida ($p \leq 0,05$) ao longo de sete horas de armazenamento (Figura 9A). O comportamento é explicado pela equação $y = -0,2189x + 10,762$ ($R^2 = 0,5807$). Ao longo de 25 horas de refrigeração a redução foi de 32,85% do teor de ácido ascórbico (11,27 a 7,53 mg/100 mL) ($p \leq 0,05$) e explicado pela equação $y = -0,1397x + 10,785$, com R^2 de 91,42%.

A diminuição do teor de ácido ascórbico já era esperada, pois em alimentos este comportamento com o aumento do tempo de armazenamento refrigerado é conhecido sendo que, dentre os compostos fenólicos e carotenoides, o ácido ascórbico é o mais propenso à redução dos teores nestas condições de armazenamento (WOOTTON-BEARD; RYAN, 2011). As alterações podem ser devido a reações químicas oxidativas e/ou processos enzimáticos. Devido à sua natureza química, o ácido ascórbico é instável em soluções aquosas, prontamente se oxidando para ácido dehidroascórbico (DHAA), sendo a ascorbato oxidase uma das enzimas catalisadoras desta reação.

O DHAA ainda apresenta atividade vitamínica (75-80%), mas a sua instabilidade leva a oxidações sucessivas, para ácido dicetogulônico, e então ácido oxálico, ácido xilônico e xilose. A presença de oxigênio (favorece reações aeróbias), íons metálicos (Cu^{2+} , Ag^+ e Fe^{3+}) e ruptura da integridade celular (o que ocorreu no processamento da bebida mista, com a homogeneização dos componentes em liquidificador), favorecem a redução do conteúdo de ácido ascórbico (TARRAGO-TRANI; PHILLIPS; COTTY, 2012; SPINOLA et al, 2013). A destruição da estrutura

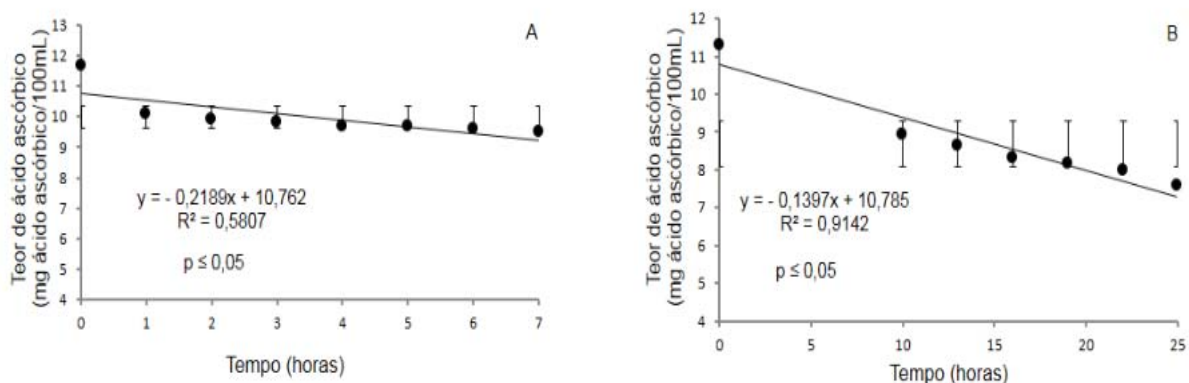
celular leva a diferentes e simultâneas rotas de deterioração, com enzimas (como a ascorbato oxidase) e substratos permanecendo no mesmo meio, além da exposição ao ar, levando a um comportamento linear de degradação do ácido ascórbico. Como não houve utilização de alta temperatura no preparo da bebida mista, as enzimas podem ter continuado ativas, favorecendo a diminuição no teor de ácido ascórbico (vitamina C).

No entanto, alimentos mais ácidos (pH < 4,5), como esta bebida mista, apresentam perdas menores de ácido ascórbico ao longo do tempo, pois em baixo pH o ácido ascórbico está completamente protonado e relativamente estável, com máxima estabilidade entre 4-6; já em pH > 6,0, o ácido ascórbico é reversivelmente oxidado a DHAA e, posteriormente, de forma irreversível em outros produtos, sem atividade vitamínica (TARRAGO-TRANI; PHILLIPS; COTTY, 2012).

É importante a escolha correta dos equipamentos e métodos de processamento que serão utilizados, para que se mantenha o máximo possível as características iniciais do suco (BORGES et al., 2011).

Diversos produtos com apelo antioxidante, disponíveis no mercado, são adicionados de ácido ascórbico pela indústria alimentícia, indicado como aditivo de código INS 300 e classificado como antioxidante (BRASIL, 2001). Adicionando-se este aditivo aos produtos, como em bebidas prontas para consumo, estas tornam-se maiores fontes de vitamina C, do que um produto processado e sem esta adição, além do que aumenta-se a vida-de-prateleira, por inibição de reações oxidativas.

Figura 9 – Variação do teor de ácido ascórbico da bebida mista de frutas e vegetais durante armazenamento refrigerado (4 °C)



As barras indicam o desvio-padrão (n = 6). A = Refrigeração por até sete horas. B = Refrigeração por até 25 horas.

5.2.3. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante

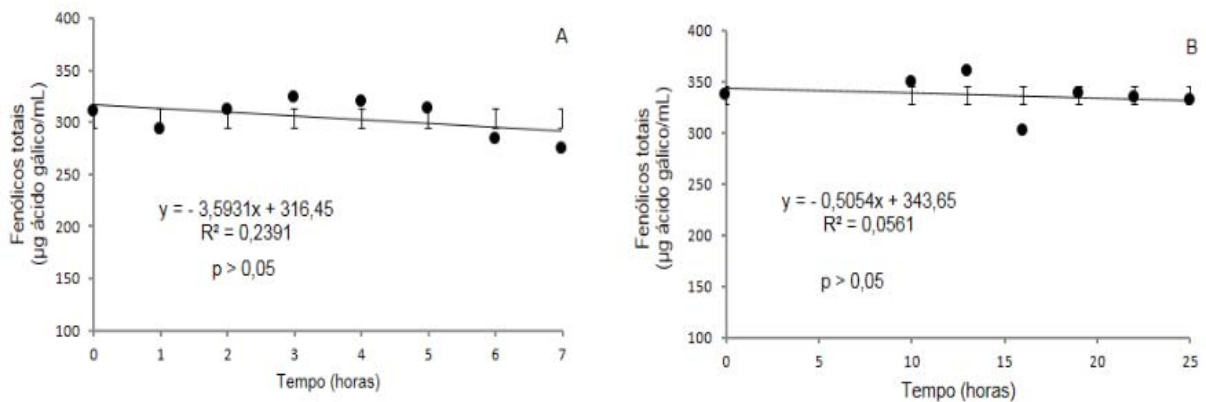
O comportamento dos compostos fenólicos totais, mensurados pelo ensaio com reagente de Folin-Ciocalteu, ao longo do armazenamento, está mostrado na Figura 10. A bebida mista de frutas e vegetais é fonte de compostos fenólicos, sendo as médias encontradas de 303,8 μg ácido gálico/mL no Experimento 1 e 336 μg ácido gálico/mL, no Experimento 2. Observou-se flutuações nos valores, ao longo das sete horas de refrigeração (Figura 10A) e também no período de 25 horas (Figura 10B), mas não foram significativas ($p > 0,05$).

Uma das explicações para a flutuação do teor de compostos fenólicos totais ao longo do armazenamento é de que o ensaio de Folin-Ciocalteu pode superestimar o conteúdo de polifenóis presentes na amostra, já que este reagente não apresenta especificidade aos fenóis, reagindo também com outras substâncias redutoras, como a vitamina C, açúcar e aminoácidos; também devido à temperatura mais baixa de armazenamento (4 °C) (KAR et al., 2011).

Os principais polifenóis presentes na couve são o ácido clorogênico e o ácido sináptico, e, no suco da laranja encontra-se a classe dos ácidos hidroxinâmicos e dos flavonoides, como as flavanonas glicosiladas hesperidina, naringina e narinrutina (GUIMARÃES et al., 2010); estes podendo ter contribuído para as maiores médias de fenólicos totais da bebida mista, comparando-se apenas com o suco de couve do estudo citado.

Por fim, as discrepâncias entre a média dos valores de fenólicos totais comparando-se com os encontrados na primeira etapa (efeito do congelamento) e entre os Experimentos 1 e 2, podem ser devidas à diferentes estágios de maturação dos componentes da bebida, condições de colheita, época de plantio e outros, como citam Vieira et al. (2011) ao analisarem compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante em polpa de frutas tropicais.

Figura 10 – Variação do teor de compostos fenólicos totais da bebida mista de frutas e vegetais durante armazenamento refrigerado (4 °C)



As barras indicam o desvio-padrão (n = 6). A = Refrigeração por até sete horas. B = Refrigeração por até 25 horas.

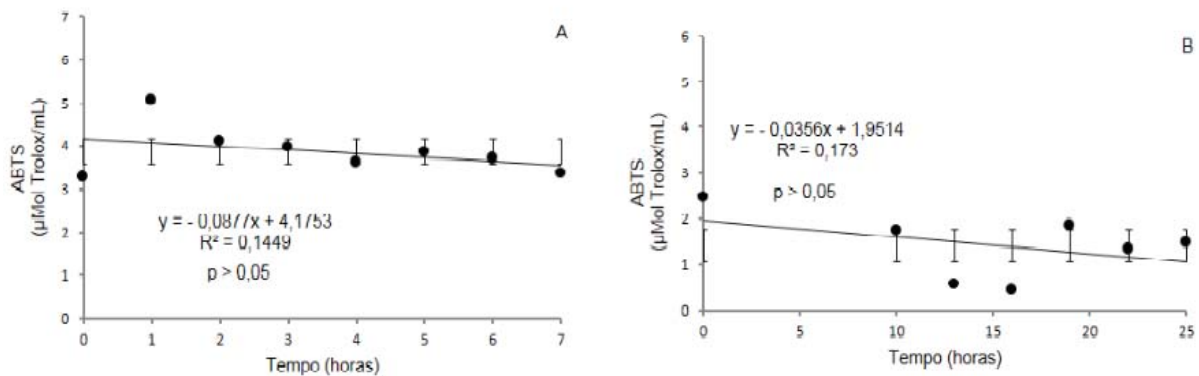
Apesar dos possíveis vieses, a observação de que uma das principais classes de compostos com potencial bioativo e atividade redutora (e antioxidante) presentes na bebida mista se mantiveram estáveis ao final do tempo estudado é muito interessante e satisfatória. Isso indica que manter a bebida armazenada sob refrigeração doméstica, por até 25 horas, não reduz os fenólicos em geral, preservando seus potenciais benefícios à saúde. Tal observação pode ser devido, não só a temperatura mais baixa (4 °C), mas também pela inibição de oxidações dos compostos fenólicos presentes devido a presença do ácido ascórbico (atividade antioxidante) e ácido cítrico (PORTO, 2015).

As mudanças na atividade antioxidante da bebida mista de frutas e vegetais, avaliadas pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP nos dois Experimentos estão mostradas nas Figuras de 11 a 13.

Os valores de ABTS variaram, de forma não significativa, no período de sete horas e até as 25 horas ($p > 0,05$), com médias próximas a uma formulação de suco verde (composto de laranja, maçã, alface, repolho e pepino), o qual apresentou 3,5 µMol Trolox/mL em estudo de Oliveira et al. (2013). Tal comportamento flutuante é descrito por outros estudos, em condições relativamente semelhantes, como em Kim (2015), em seu estudo utilizando-se sucos de folhas e caule de couve. Suco de *blueberry*, estocado a 4 °C, em estudo de Reque et al., 2014, também apresentou flutuações nos valores ao longo dos seis primeiros dias, decaindo após o oitavo dia, determinada pelos ensaios de DPPH e ABTS. No entanto, uma formulação de suco

de beterraba e limão apresentou valores médios iniciais (tempo 0) de 5,22 $\mu\text{Mol Trolox/mL}$ e, após armazenamento a 4 °C reduziu a 2,75 $\mu\text{Mol Trolox/mL}$ (uma semana) e, após 15 dias, estiveram na média de 2,71 $\mu\text{Mol Trolox/mL}$ (MIKOŁAJCZYK et al., 2015).

Figura 11 – Variação da atividade antioxidante por ABTS da bebida mista de frutas e vegetais durante armazenamento refrigerado (4 °C)

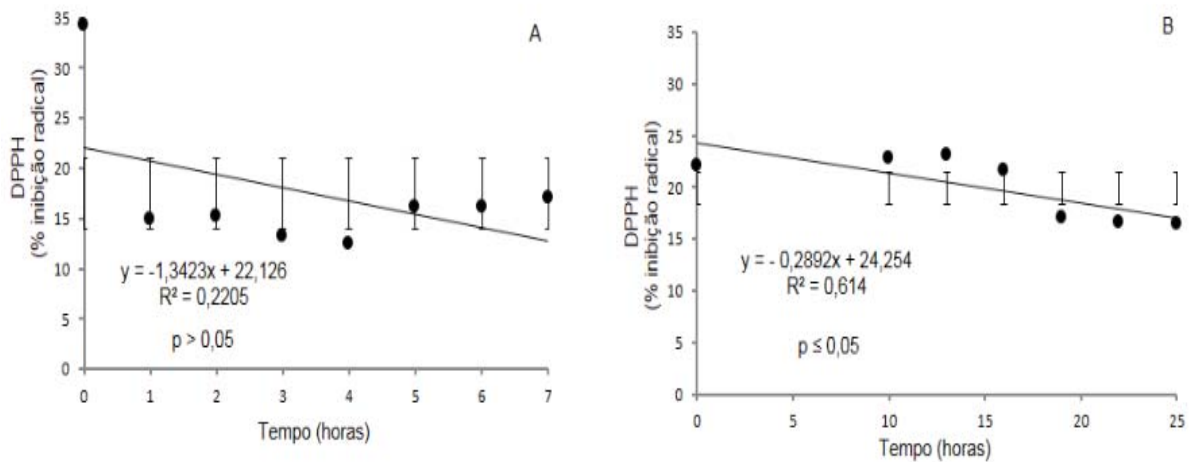


As barras indicam o desvio-padrão (n = 6). A = Refrigeração por até sete horas. B = Refrigeração por até 25 horas.

A avaliação por meio do ensaio de DPPH não mostrou redução significativa dos valores de inibição do radical DPPH· ($p > 0,05$) no Experimento 1 (até sete horas), estando em torno de 17,43% (Figura 12A), mas no Experimento 2 a queda da atividade inibitória se tornou significativa ($p \leq 0,05$), conforme Figura 12B. Esta redução ocorreu principalmente após as 20 horas de armazenamento a 4 °C, sendo o comportamento expresso pela equação da reta $y = -0,2892x + 24,25$, que explicou em 61,4% dos dados, indicando haver uma maior relação entre os dois parâmetros (atividade antioxidante e tempo de refrigeração). No Experimento 2 (25 horas), os valores estiveram na faixa entre 22 a 16,4% de inibição, próximos aos encontrados para o suco verde em Oliveira et al. (2013), com 22,8% de inibição do radical DPPH· (em diluição 1:10).

Observou-se uma diferença no comportamento da atividade antioxidante da bebida mista avaliados pelos ensaios de ABTS e DPPH, sendo que pelo primeiro método não foi encontrada diferença significativa e pelo segundo, sim (Experimento 2). Estudos anteriores relatam que ensaios em alimentos, o DPPH pode ser mais afetado pelo aumento do tempo de refrigeração do que o ABTS (KIM, 2015; WU et al., 2004).

Figura 12 – Variação da atividade antioxidante por DPPH da bebida mista de frutas e vegetais durante armazenamento refrigerado (4 °C)



As barras indicam o desvio-padrão (n = 6). A = Refrigeração por até sete horas. B = Refrigeração por até 25 horas.

Considerando-se os valores obtidos pelo método de FRAP, não foi observada variação significativa na atividade antioxidante no período de sete horas (Experimento 1) (Figura 13A), mas no período de 25 horas de armazenamento (Experimento 2) houve redução dos valores, sendo descritos pela equação da reta $y = -0,0231x + 3,09$ ($p \leq 0,05$), com R^2 explicando 64,9% dos dados (Figura 13B). A média no Experimento 1 foi de 2,69 $\mu\text{Mol Trolox/mL}$, e no Experimento 2 variaram de 2,95 a 2,28 $\mu\text{Mol Trolox/mL}$ de bebida, havendo uma redução em 29,4% de atividade antioxidante até 25 horas de refrigeração.

Wootton-Beard, Moran, Ryan (2011) analisaram a atividade antioxidante de 23 sucos comerciais de frutas e/ou vegetais, e encontraram valores de 2,06 $\mu\text{Mol/mL}$, no ensaio de FRAP, em suco comercial tropical de frutas e vegetal (maçã, cenoura, além de laranja, pera, abacaxi, maracujá, uva branca e banana). Neste mesmo estudo, o suco de beterraba comercial apresentou concentração de 9,5 $\mu\text{Mol/mL}$, sendo considerado o de maior atividade redutora/antioxidante pelo método de FRAP dentre todos os sucos estudados. Comparando-se os valores da bebida mista de frutas e vegetais, com o suco de beterraba, observa-se que a atividade antioxidante do primeiro é bem menor mas, ainda sim, significativa.

O comportamento de redução da atividade antioxidante no experimento com duração de 25 horas foi semelhante quando avaliado pelos ensaios de DPPH e FRAP, sendo indicativo do início, na bebida mista, da degradação de compostos redutores, com reconhecidas propriedades antioxidantes, como o ácido ascórbico

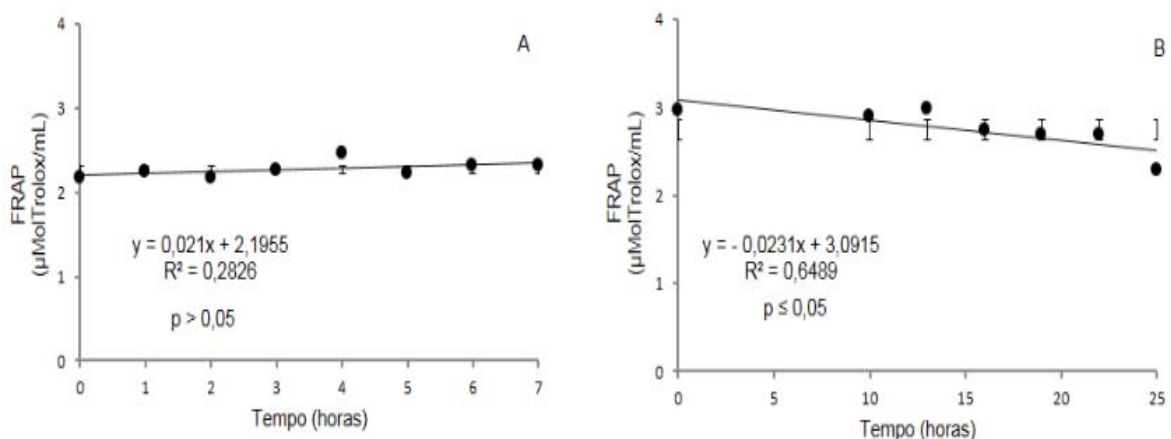
após um período de tempo mais extenso (25 horas) de armazenamento. Reque et al. (2014) observaram reduções nos valores pelos métodos de DPPH e ABTS em suco de blueberry, a partir do sexto dia de armazenamento a 4 °C.

Observa-se que os métodos para se mensurar a atividade antioxidante e o poder redutor de compostos potencialmente bioativos *in vitro* são diversos, sendo frequentemente problemático comparar seus resultados, além do fato de cada análise possuir suas especificidades, meios de reação e interferentes, conforme mencionado em diversos artigos (BORGES et al., 2011; LÓPEZ-ALARCON; DENICOLA, 2013; SCHAICH; TIAN; XIE, 2015;) portanto, a mesma amostra pode não ter sua atividade antioxidante corretamente detectada por uma ou outra análise (HUANG; OU; PRIOR, 2005; COUTO; CANNIATTI-BRAZACA, 2010). O método de ABTS, por exemplo, apresenta limitações que podem ter levado ao comportamento divergente neste estudo, quando comparado com os métodos de DPPH e FRAP, sendo uma possível causa o fato de alguns compostos fenólicos e outros antioxidantes reagirem com o radical ABTS⁺ mais lentamente do que o tempo de incubação padronizado na metodologia (seis minutos) (BORGES et al., 2011).

Não menos importante é o fato de que outros componentes presentes na bebida mista de frutas e vegetais podem interferir na capacidade antioxidante total mensurada além dos compostos fenólicos e a vitamina C, como a vitamina E presente na couve-manteiga e os carotenoides presentes na couve-manteiga e laranja (LEFSRUD et al., 2007; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2008; GUIMARÃES et al., 2010).

Figura 13 - Variação da atividade antioxidante por FRAP da bebida mista de frutas e vegetais durante armazenamento refrigerado (4 °C)

continua



conclusão

As barras indicam o desvio-padrão (n = 6). A = Refrigeração por até sete horas. B = Refrigeração por até 25 horas.

5.3 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Realizou-se a pesquisa para coliformes totais e contagem de bolores e leveduras para se garantir as boas condições higiênico-sanitárias nas amostras de bebida mista de frutas e vegetais a serem avaliadas sensorialmente, além do fato de que desenvolvimento e multiplicação de micro-organismos pode alterar a cor e as propriedades físico-químicas da bebida.

As contagens de bolores e leveduras da bebida mista no estudo foram menores que 10 UFC/mL, e coliformes a 45 °C não foram detectados. Estes resultados comprovam que as etapas de lavagem e sanitização anteriormente ao preparo da bebida mista se mostraram adequadas, permitindo-se que fossem armazenados congelados, mantendo-se estáveis até o consumo pelos provadores do teste sensorial. Além disso, o fato de haver o conservador metabissulfito de sódio na água de coco comercial utilizada também foi um fator importante em se aumentar a conservação da bebida mista, por ser um agente inibidor de bolores, leveduras e bactérias, além de sua ação anti-escurecimento.

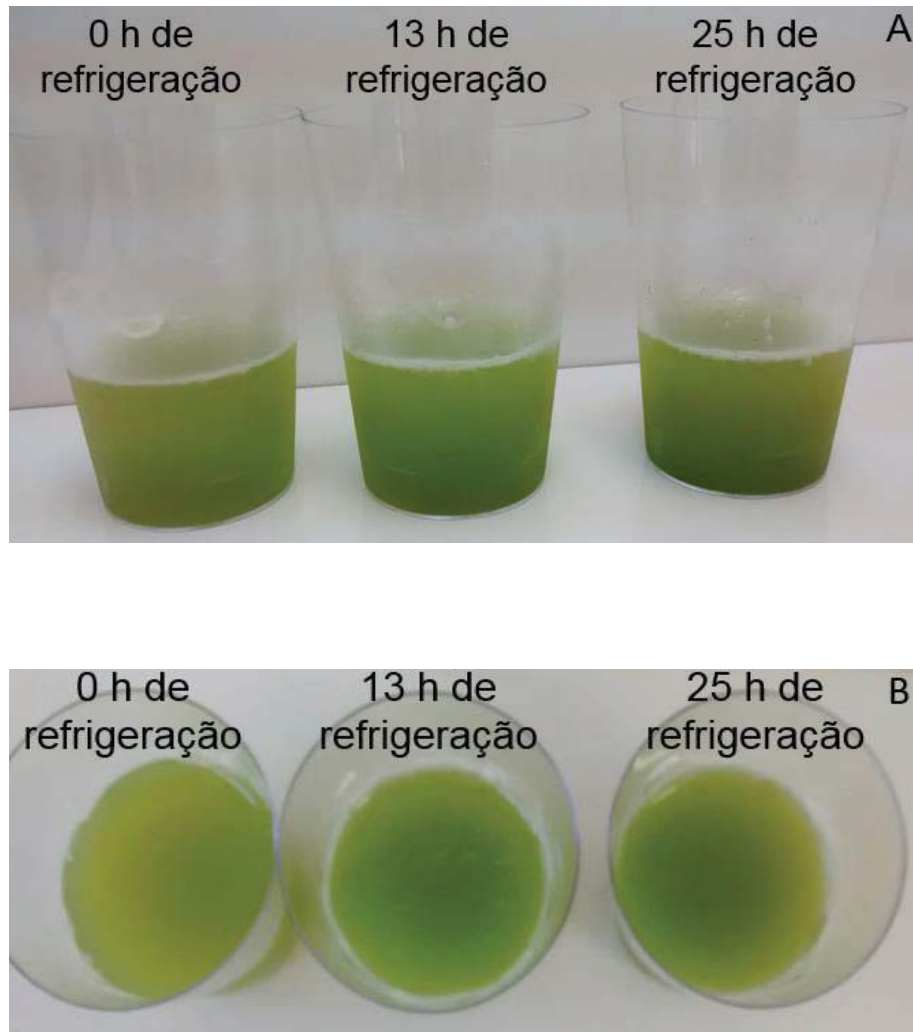
Possíveis alterações microbiológicas em sucos de frutas estão limitadas aos microrganismos que toleram pH ácidos, principalmente as bactérias lácticas e leveduras. No entanto, são as leveduras as maiores causadoras de deterioração de sucos de frutas, sendo tolerantes aos ácidos naturais e, muitas delas se desenvolvendo em meio anaeróbio. Levam à produção de CO₂ e etanol, e muitas vezes é observada a formação de uma película e de floculação, reduzindo a turvação natural dos sucos. O acetaldeído também pode ser produzido por estes microrganismos, levando a alterações no odor (SANTOS et al., 2007).

5.4 AVALIAÇÃO SENSORIAL

5.4.1 Teste de Aceitação

A aparência da bebida mista de frutas e vegetais, nos tempos de refrigeração de 0,13 e 25 horas pode ser visualizada na Figura 14 (A e B).

Figura 14 - Amostras de bebida mista.



A = Vista Frontal. B = Vista Superior.

A aceitabilidade e a intenção de compra da bebida mista estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Aceitabilidade e intenção de compra da bebida mista em diferentes tempos de refrigeração (4 °C)

Parâmetros	Bebida		
	0 hora	13 horas	25 horas
¹ Aparência	7,66 ± 1,83 ^a	7,42 ± 1,94 ^{a,b}	7,38 ± 2,03 ^b
¹ Aroma	7,92 ± 1,70 ^a	7,74 ± 1,66 ^a	7,58 ± 1,88 ^a
¹ Sabor	7,17 ± 2,15 ^a	7,13 ± 2,24 ^a	6,81 ± 2,54 ^a
¹ Textura	8,14 ± 1,68 ^a	8,06 ± 1,75 ^a	8,05 ± 1,73 ^a
¹ Aceitação Global	7,46 ± 1,97 ^a	7,32 ± 2,02 ^a	7,23 ± 2,06 ^a
² Intenção de Compra	3,78 ± 1,09 ^a	3,70 ± 0,99 ^a	3,64 ± 1,02 ^a

*Médias ± desvio-padrão na mesma linha, acompanhadas de letras iguais, não diferem a $p > 0,05$ ($n = 95$).

¹ Escala hedônica de 0 a 10 pontos; ² Escala de 0 a 5 pontos.

A bebida mista analisada nos três tempos de refrigeração apresentou notas hedônicas entre 6,81 e 8,14, em escala de 0 a 10, para todos os atributos avaliados, indicando que foi bem aceita independentemente do tempo de armazenamento. Segundo Dutcosky (2013), para que um produto seja aceito quanto às suas características sensoriais, é necessário que seu índice de aceitabilidade seja no mínimo 70%, ou seja, em escala de 1 a 10, que obtenha uma média de sete. Assim, pode-se concluir que a bebida mista foi aceita pelo grupo de avaliadores, de acordo com os valores médios dispostos na Tabela 4, para todos os atributos, sendo que apenas o sabor no tempo de 25 horas esteve um pouco abaixo de sete.

Não houve diferenças significativas na aceitabilidade ($p > 0,05$) entre as amostras oferecidas aos avaliadores quanto aos atributos aroma, sabor, textura e aceitação global. Apenas o atributo aparência da bebida com 13 e 25 horas de refrigeração foi menos aceita que a amostra 0 horas, possivelmente devido ao início do amarelamento da bebida, tornando-a com aspecto de menor frescor.

A aceitação da bebida refrigerada, independentemente do tempo de armazenamento, foi confirmada pela intenção de compra, que mostrou valores entre 3,64 e 3,78 em escala de 5 pontos e não se diferenciou ($p > 0,05$), mostrando que os consumidores provavelmente comprariam a bebida.

A primeira impressão na qualidade de qualquer bebida a ser adquirida por um consumidor é a aparência visual, como a sua cor, sendo inclusive um índice de qualidade no mercado. O fato de possíveis alterações na cor poderem ocorrer durante o processamento e, principalmente durante o armazenamento do produto, podem prejudicar a aceitação pelo consumidor. As alterações sensoriais podem ser advindas de reações bioquímicas de escurecimento, as quais geram pigmentos de

coloração marrom, além de perda de nutrientes e formação de “flavours” indesejáveis (EVANGELISTA, 2001).

6. CONCLUSÃO

Em relação à conservação em baixas temperaturas da bebida mista elaborada com couve-manteiga, gengibre, água de coco e laranja, é possível concluir que:

- o congelamento em freezer convencional (-18 °C), por período inferior a sete dias preserva a atividade antioxidante, conteúdo de compostos fenólicos, ácido ascórbico, sólidos solúveis, acidez titulável, pH e cor da bebida mista;

- a atividade antioxidante, compostos fenólicos, sólidos solúveis e acidez titulável são mantidos inalterados na bebida mista durante o armazenamento refrigerado (4 °C) por sete horas. Enquanto que, somente a intensidade da cor verde, pH e conteúdo de ácido ascórbico são reduzidos;

- a atividade antioxidante (avaliada pelos métodos DPPH e FRAP), cor, pH e conteúdo de ácido ascórbico não são preservados durante o armazenamento refrigerado (4 °C) da bebida mista por 25 horas. Porém, são mantidos apenas os sólidos solúveis, acidez titulável e compostos fenólicos;

- a bebida mista elaborada mantém-se segura microbiologicamente quanto a coliformes termotolerantes, bolores e leveduras durante o armazenamento refrigerado (4 °C) por 25 horas.

- a bebida mista é aceita e apresenta intenção de compra pelos consumidores quando refrigerada por até 25 horas.

- a bebida mista pode ser consumida no período de até sete horas de refrigeração e até sete dias sob congelamento, tendo preservadas suas propriedades antioxidantes, teor de compostos fenólicos e características sensoriais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Análise sensorial dos alimentos e bebidas - Terminologia – NBR 12806**. São Paulo: ABNT, 1993.

ABREU, C.R.A.; PINHEIRO, A.M.; MAIA, G.A.; CARVALHO, J.M.; SOUSA, P.H.M. Avaliação química e físico-química de bebidas de soja com frutas tropicais. **Alimentos e Nutrição**, v.18, n.3, p. 291-296, 2007.

ALI, B.H.; BLUNDEN, G.; TANIRA, M.O.; NEMMAR, A. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A review of recent research. **Food and Chemical Toxicology**, EUA, v.46, p. 409–420, 2008.

ALMEIDA, M. M. B. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2155-2159, 2011.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16th ed. Maryland, United States: Association of Official Analytical Chemists, 1995.

ASAMI, D. K.; HONG, Y.J.; BARRET, D.M.; MITCHELL, A.E. Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 1237-1241, 2003.

BARRETO, A.M.C.; TOSCANO, B.A.F.; FORTES, R.C. Efeitos do gengibre (*Zingiber officinale*) em pacientes oncológicos tratados com quimioterapia. **Comunicação em Ciências da Saúde**, v. 22, n. 3, p. 257-270, 2011.

BEAL, B. H. **Atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos do gengibre (*Zingiber officinale* ROSCOE)**. 2006. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v.239, p. 70-76, 1996.

BIEGAŃSKA-MARECIK, R.; KUBZDELA, E. R.; MARECIK, R. Characterization of phenolics, glucosinolates and antioxidant activity of beverages based on apple juice with addition of frozen and freeze-dried curly kale leaves (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* L.). **Food Chemistry**, v. 230, p. 271-280, 2017.

BORGES, P. R. S.; CARVALHO, E. E. N.; VILAS BOAS, E. V. B.; LIMA, J. P.; RODRIGUES, L. F. Estudo da instabilidade físico-química de suco de abacaxi “Pérola”. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 4, p. 742-750, 2011.

BORGES, L. L.; LUCIO, T.C.; GIL, E.S.; BARBOSA, E.F. **Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos**

naturais. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.7, n.12, p.1, 2011.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, Zurich, v.28, n.1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Sistema Internacional de Numeração de Aditivos Alimentares.** Brasília, 2001. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/aditivo.htm>>. Acesso em 17 nov. 2016.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Consultoria Pública nº 80**, de 13 de dezembro de 2004. Brasília, 2004. Disponível em: <<http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B8989-1-0%5D.PDF>>. Acesso em 20 out. 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e da Reforma Agrária, Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Anexo I - **Métodos Analíticos Oficiais para análises microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e água.**

BROWN, T.; HIPPS, N.A.; EASTEAL, S.; PARRY, A.; EVANS, J.A. Reducing domestic food waste by freezing at home. **International Journal of Refrigeration**. v. 40, p. 362-369, 2014.

CALDEIRA, J.; M.T.C., FERNANDES; BIANCHIN, M.; DESTRO, T. M. **Estudo de caso:** Elaboração de suco verde e pão a partir de subproduto do processamento de couve-manteiga. Disciplina: Valorização de subprodutos na indústria de alimentos. Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Estadual de Londrina. Londrina - PR. 2014, 27p.

CARMO, M.C.L.; DANTAS, M.I.S.; RIBEIRO, S.M.R. Caracterização do mercado consumidor de sucos prontos para o consumo. **Brazilian Journal of Food Technology**. v.17, n.4, p.305-309, 2014.

CARVALHO, J.M.; MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M.; MAIA JUNIOR, G.A. **Água-de-coco:** Propriedades nutricionais, funcionais e processamento. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v.27. n.3, p.437-452, 2006.

CHAVES, J. P. B.; SPROSSER, R. L. **Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas.** Viçosa: UFV, 2001. 81p.

CITROSUCO. **Colheita.** Fazenda. Disponível em <<http://www.citrosuco.com.br/pt/fazenda.php#colheita>>. Acesso em 20 jul. 2015.

CITROSUCO. **Rico em alimento.** Produtos. Disponível em <<http://www.citrosuco.com.br/pt/produtos.php#rico-em-alimento>>. Acesso em 20 jul. 2015.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de laranja.** Terceiro Levantamento, Brasília, p.1-11, 2013.

CORTE-ELEUTÉRIO, R.M.; SALGADO, J.M. Estabilidade do ácido ascórbico em suco congelado de acerola (*Malpighia glabra* L. - sinônimo *M. puniceifolia* L.) durante o armazenamento. **B.CEPPA**, v. 15, n. 2, 1997.

CÓRTEZ, C; ESTEVE, M.J.; FRÍGOLA, A.; TORREGROSA, F. Changes in carotenoids including geometrical isomers and ascorbic acid content in orange–carrot juice during frozen storage. **European Food Research Technology**, Berlin, v. 221, p.125–131, 2005.

COSTA, A.S.G.; NUNES, M.A.; ALMEIDA, I.M.C.; CARVALHO, M.R.; BARROSO, M.F.; ALVES, R.C.; OLIVEIRA, M.B.P.P. Teas, dietary supplements and fruit juices: A comparative study regarding antioxidant activity and bioactive compounds. **LWT - Food Science and Technology**, v.49, p.324-328, 2012.

COSTA, R.S.C.; NASCENTE, A.S.; RIBEIRO, G.R.; FERREIRA, M.G.R. Cultivo do coqueiro em Rondônia. Sistemas de Produção, v. 6. **Embrapa Rondônia**. Versão Eletrônica. 2005. Disponível em <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Coco/CultivodoCoqueiroRO/autores.htm>>. Acesso em: 28 jul. 2015.

COUTO, M.A.L.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30(Supl.1), p. 15-19, 2010.

CUNHA, K.M.; SILVA, P.R.; COSTA, A.L.F.S.F.; TEODORO, A.J. Estabilidade de ácido ascórbico em sucos de frutas frescos sob diferentes formas de armazenamento. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.17, n. 2, p.139-145, 2014.

DABAGUE, I.C.M.; DESCHAMPS, C.; MÓGOR, A.F.; SCHEER, A.P.; CÔCCO, L. Teor e composição de óleo essencial de rizomas de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) após diferentes períodos de secagem. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, n.1, p.79-84, 2011.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Fennema's food chemistry**. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2008, 1144 p.

DANIELI, F.; COSTA, L.R.L.G.; SILVA, L.C.; HARA, A.S.S.; SILVA, A.A. Determinação de vitamina C em amostras de suco de laranja *in natura* e amostras comerciais de suco de laranja pasteurizado e envasado em embalagem Tetra Pak. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**, v.27, n. 4, p.361-5, 2005.

DELLA LUCIA, S. M.; MINIM, V. P. R.; CARNEIRO, J. D. S. Análise sensorial de alimentos. In. **Análise sensorial: Estudo com consumidores/ Valéria Paula Rodrigues Minim – Viçosa: Ed. UFV, Cap. 1, p. 13-50, 225p., 2006.**

DUTCOSKY, S. B. **Análise sensorial de alimentos**. 4 ed. Curitiba: Champagnat, 2013. 531 p.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Sistemas de Produção. **A cultura do coqueiro**. 2. ed. 2016. Disponível em <https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeprod6_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-2&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=7703&p_r_p_-996514994_topicId=7829>. Acesso em 05 mar. 2017.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Gengibre**. Centro de Pesquisa Agroflorestal de Rondônia. Série “Plantas Medicinais”. Rondônia. 2009. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/100657/1/Folder-gengibre.pdf>>. Acesso em 20 jul. 2015.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2001. 652 p.

FARAONI, A. S.; RAMOS, A. M.; STRINGUETA, O. C.; LAUREANO, J. Efeito dos métodos de conservação, tipos de embalagem e tempo de estocagem na coloração de polpa de manga “Ubá” produzida em sistema orgânico. **Ceres**, v. 55, n. 6, p. 504-511, 2008.

FOROUDI, S.; POTTER, A.S.; STAMATIKOS, A.; PATIL, B.S.; DEYHIM, F. Drinking Orange juice increases total antioxidant status and decreases lipid peroxidation in adults. **Journal of Medicinal Food**, v.17, n.5, p. 612-7, 2014.

FREITAS, D.G.C., MATTIETTO, R. A. Ideal sweetness of mixed juices from Amazon fruits. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 33, n.1, p.148-154, 2013.

GUIMARÃES, R.; BARROS, L.; BARREIRA, J.C.M.; SOUSA, M.J.; CARVALHO, A.M.; FERREIRA, I.C.F.R. Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: grapefruit, lemon, lime and orange. **Food and Chemical Toxicology**. v. 48, n.1, p.99-106, 2010.

GUNATHILAKE, K. D. P. P.; YU, L. J.; RUPASINGHE H. P. V. Reverse osmosis as a potential technique to improve antioxidant properties of fruit juices used for functional beverages. **Food Chemistry**. v.148, p. 335–341, 2014.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 53, p.1841-1856, 2005.

JUSTO, O. R.; MORAES, A. M.; BARRETO, G. P. M.; MERCADANTE, A. Z.; ROSA, P. T. V. Avaliação do potencial antioxidante de extratos ativos de plantas obtidos por extração com fluido supercrítico. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1699-1705, 2008.

KAIMAINEN, M.; LAAKSONEN, O.; JÄRVENPÄÄ, E.; SANDELL, M.; HUOPALAHTI, R. Consumer acceptance and stability of spray dried betanin in model juices. **Food Chemistry**. v.187, p. 398–406, 2015.

KAPUSTA-DUCH, J.; BORCZAK, B.; KOPEĆ, A.; FILIPIAK-FLORKIEWICZ, A.; LESZCZYŃSKA, T. The influence of packaging type and time of frozen storage on

antioxidative properties of *Brussels sprouts*. **Journal of Food and Processing Preservation**. v.38, p. 1089–1096, 2014.

KAR, C.E.; FERCHICHI, A.; ATTIA, F.; BOUAJILA, J. Pomegranate (*Punica granatum*) juices: chemical composition, micronutrient cations, and antioxidant capacity. **Journal of Food Science**. v. 76, n.6, p. 795-800, 2011.

KAULMANN, A.; JONVILLE, M.C.; SCHNEIDER, Y.J.; HOFFMANN, L.; BOHN, T. Carotenoids, polyphenols and micronutrient profiles of *Brassica oleraceae* and plum varieties and their contribution to measures of total antioxidant capacity. **Food Chemistry**. v.155, p. 240-250, 2014.

KHANDPUR, P.; GOGATE, P. R. Effect of novel ultrasound based processing on the nutrition quality of different fruit and vegetable juices. **Ultrasonics Sonochemistry**. v. 27, p. 125–136, 2015.

KIM, S.Y. Comparison of nutritional compositions and antioxidant activities of building blocks in shinseoncho and kale green vegetable juices. **Preventive Nutrition and Food Science**. v. 17, p. 269-273, 2012.

KIM, S.Y. Fluctuations in phenolic content and antioxidant capacity of green vegetables juices during refrigerated storage. **Preventive Nutrition and Food Science**. v. 20, n. 3, p. 169-175, 2015

KOŁODZIEJCZYK, J. K.; FLATT, S. W.; NATARAJAN, L.; PATTERSON, R.; PIERCE, J. P; NORMAN, G. J. Associations of soluble fiber, whole fruit/vegetables, and juice with plasma beta-carotene concentrations in a free-living population of breast cancer survivors. **Women Health**. v.52, n.8, p.731–743, 2012.

KORUS, A.; LISIEWSKA, Z. Effect of preliminary processing and method of preservation on the content of selected antioxidative compounds in kale (*Brassica oleracea* L.var. *acephala*) leaves. **Food Chemistry**. v. 129, p. 149 - 154, 2011.

LEAHU, A.; DAMIAN, C.; CARPIUC, N.; OROIAN, M.; AVRAMIUC, M. Change in colour and physicochemical quality of carrot juice mixed with other fruits. **Journal of Agroalimentary Processes and Technologies**, v.19, 2013.

LEFSRUD, M.; KOPSELL, D.; WENZEL, A.; SHEERAN, J. Changes in kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) carotenoid and chlorophyll pigment concentrations during leaf ontogeny. **Scientia Horticulturae**, v. 112, p. 136–141, 2007.

LEMOS JÚNIOR, H. P.; LEMOS, A. L. A. **Gengibre**. Disciplina de Medicina de Urgência e Medicina Baseada em Evidências da Universidade Federal de São Paulo — Escola Paulista de Medicina (Unifesp-EPM), Centro Cochrane do Brasil. v.15, n.4, p.174-178, 2010.

LIM, S.; MOON, M.; OH, H.; KIM, H. G.; KIM, S. Y.; OH, M. S. Ginger improves cognitive function via NGF-induced ERK/CREB activation in the hippocampus of the mouse. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.25, n.10, p. 1058-1065, 2014.

LIMA, A. S.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; SILVA, F. V. G.; FIGUEIREDO, E. A. T. Desenvolvimento de bebida mista à base de água de coco e suco de acerola. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.3, p. 683-690, 2008.

LÓPEZ-ALARCÓN, C.; DENICOLA, A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. **Analytica Chimica Acta**. v. 763, p. 1-10, 2013.

LORENZETTI, E. R. **Cultivo de gengibre**. Portal da Horticultura. 2008. Disponível em <<http://portaldahorticultura.xpg.uol.com.br/Cultivogengibre.pdf>>. Acesso em 9 jul. 2015.

LUCIO, I. B.; FREITAS, R. J. S.; WASZCZYNSKYJ, N. Composição físico-química e aceitação sensorial da inflorescência de gengibre orgânico (*Zingiber officinale* Roscoe). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n.3, p.652-656, 2010.

MALHEIROS, G. C. **Estudo da alteração da cor e degradação da clorofila durante armazenagem de erva-mate tipo chimarrão**. 2007. 104 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria, RS.

MARI, A. **Couve-manteiga**. Associação dos produtores e distribuidores de horti-fruti do estado de São Paulo, 2009. Disponível em <<http://www.aphortesp.com.br/couve-manteiga.html>>. Acesso em: 20 jul. 2015

MARTINS, A. C.; BUKMAN, L.; VARGAS, A.M.; BARIZÃO, É.O.; MORAES, J.C.; VISENTAINER, J.V.; ALMEIDA, V.C. The antioxidant activity of teas measured by the frap method adapted to the FIA system: Optimising the conditions using the response surface methodology. **Food Chemistry**, v.138, p. 574–580, 2013.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Citrus**. Brasília-DF. 2015. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/citrus>>. Acesso em 10 jul. 2015.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 01, de 07 de janeiro de 2000. Anexo XXVII - **Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para suco de laranja**. 2000.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. DECRETO nº 6.871, de 4 de junho de 2009. **Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas**. 2009.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 27, de 22 de julho de 2009. **Estabelece os procedimentos mínimos de controle higiênico-sanitário, padrões de identidade e características mínimas de qualidade gerais para a água de coco**. 2009.

MATIAS, I. **É tempo de colher gengibre na região serrana do Espírito Santo.** Globo Rural. <Disponível em <http://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2015/09/e-tempo-de-colher-gengibre-na-regiao-serrana-do-espírito-santo.html>> Acesso em 05 mar.2017.

MIKOŁAJCZYK, I. K.; KUSZNIEREWICZ, B.; NAMIÉŚNIK, J.; BARTOSZEK, A. Juices from non-typical edible fruits as health-promoting acidity regulators for food industry. **LWT- Food Science and Technology**. v. 64, p. 845-852, 2015.

MOO-HUCHIN, V. M.; ESTRADA-MOTA, I.; ESTRADA-LEÓN, R.; CUEVAS-GLORY, L.; ORTIZ-VÁZQUEZ, E.; VARGAS, M.L.V.; BETANCUR-ANCONA, D.; SAURIDUCH, E. Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food Chemistry**. v.152, p. 508–515, 2013.

MORENO-MONTORO, M.; OLALLA-HERRERA, M.; GIMENEZ-MARTINEZ, R.; NAVARRO-ALARCON, M.; RUFÍAN-HENARES, J. A. Phenolic compounds and antioxidant activity of Spanish commercial grape juices. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 38, p. 19-26, 2015.

NOVO, M. C. S. S.; PRELA-PANTANO, A.; TRANI, P.E.; BLAT, S.F. Desenvolvimento e produção de genótipos de couve manteiga. **Horticultura Brasileira**. v. 28, p. 321-325, 2010.

NUNES, T. C. F. **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA EM VEGETAIS DA ESPÉCIE *Brassica oleracea* MINIMAMENTE PROCESSADOS.** Dissertação. IPEN. Autarquia associada à Universidade de São Paulo. São Paulo, 2009. 102 p.

OLIVEIRA, A.C. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n.3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, A. C. **Cultura: Couve-Folha.** Jornal Agrícola. 2011. Disponível em <<https://jornalagricola.wordpress.com/2011/12/18/couve-folha/>>. Acesso em 10 jul. 2015.

OLIVEIRA, P. S.; SACCON, T.D; DA SILVA ,T.M; COSTA, M.Z; DUTRA, F.S; DE VASCONCELOS, A.; LENCINA, C.L; STEFANELLO, F.M.; BARSCHAK, A.G. Green juice as a protector against reactive species in rats. **Nutrición Hospitalaria**, v.28, n.5, p.1407-1412, 2013.

PEREIRA, A. C. S; DIONÍSIO, A.P.; WURLITZER, N.J.; ALVES, R.E.; DE BRITO, E.S.; SILVA, A.M.O.; BRASIL, I.M.; MANCINI FILHO, J. Effect of antioxidant potential of tropical fruit juices on antioxidant enzyme profiles and lipid peroxidation in rats. **Food Chemistry**, v.157, p.179–185, 2014.

PEREIRA, A. C. S.; SIQUEIRA, A. M. A.; FARIAS, J. M.; MAIA, G. A.; FIGUEIREDO, R. W.; SOUSA, P. H. M. Desenvolvimento de bebida mista à base de água de coco, polpa de abacaxi e acerola. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 59, 2009.

PEREIRA, M.J.V. **Contribuição ao estudo de polifenoloxidase e ascorbate oxidase de polpa de *Passiflora edulis* (maracujá-amarelo) visando ao processamento industrial de suco**. 2012. 109p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- Campus Araraquara. Araraquara – SP.

PHILLIPS, K. M.; TARRAGÓ-TRANI, M.T.; GEBHARDT, S.E.; EXLER, J; K.Y., PATTERSON; HAYTOWITZ, D.B.; PEHRSSON, P.R.; HOLDEN, J.M. Stability of vitamin C in frozen raw fruit and vegetable homogenates. **Journal of Food Composition and Analysis**. v.23, p. 253–259, 2010.

PHILLIPS, K.M.; COUNCIL-TROCHE, M.; MCGINT, R.C.; RASOR, A.S.; TARRAGO-TRANI, M.T. Stability of vitamin C in fruit and vegetable homogenates stored at different temperatures. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.45, p.147-162, 2016.

PIMENTEL, T. C.; MADRONA, G.S.; GARCIA, S.; PRUDENCIO, S.H. Probiotic viability, physicochemical characteristics and acceptability during refrigerated storage of clarified apple juice supplemented with *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* and oligofructose in different package type. **LWT – Food Science and Technology**. v. 63, p.415-422, 2015.

PORTO, M.R.A. **Estabilidade de suco misto de beterraba e laranja puro e com *Lactobacillus acidophilus***. 2015. 127p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina – Londrina -PR.

PRADO, F. C.; LINDNER, J.D.; INABA, J.; THOMAZ-SOCCOL, V.; KAUR BRAR, S.; SOCCOL, C.R. Development and evaluation of a fermented coconut water beverage with potential health benefits. **Journal of Functional Foods**, v. 12, p. 489 – 497, 2015.

PRIOR, R.L.; CAO, G.; MARTIN, A.; SOFIC, E.; MCEWEN, J.; O'BRIEN, C.; LISCHNER, N.; EHLENFELDT, M.; KALT, W.; KREWER, G.; MAINLAND, C.M. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 46, p. 2686–2693, 1998.

PRIOR, R.L.; WU, X.; SCHAICH, A. Standardized Methods for the Determination of antioxidant capacity and the phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.53, p.4290-4302, 2005.

RANDAZZO, W.; CORONA, O.; GUARCELLO, R.; FRANCESCA, N.; GERMANÁ, M. A.; ERTEN, H.; MOSCHETTI, G.; SETTANNI, L. Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. **Food Microbiology**, v.54, p. 40-51, 2016.

REQUE, P.M.; STEFFENS, R.S.; JABLONSKI, A.; FLORES, S.H.; RIOS, A.O.; JONG, E.V. Cold storage of blueberry (*Vaccinium* spp.) fruits and juice: Anthocyanin stability and antioxidant activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.33, p.111-116, 2014.

SALVADOR, C.A. **Olericultura - Análise da Conjuntura Agropecuária**. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. DERAL- Departamento de Economia Rural. 27 p. 2013. Disponível em <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/olericultura_2013_14.pdf>. Acesso em 05 mar. 2017.

SANCHEZ-GONZALES, I; JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; SAURA-CALIXTO, F. *In vitro* antioxidant activity of coffee brewed using different procedures (Italian, Espresso and Filter). **Food Chemistry**, v.90, p. 133-9, 2005.

SANTOS, M.S.; PETKOWICZ, C.L.O.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A.; CARNEIRO, E.B.B. Caracterização do suco de araçá-vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) extraído mecanicamente e tratado enzimaticamente. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.29, p. 617-621, 2007.

SANTOS FILHA, M. E. C. dos. **Qualidade e conservação pós-colheita de frutos de seis cultivares de coqueiro anão**. 2006.126 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró- RN.

SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Consumo**. 2015. Disponível em <<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/segmento-de-alimentacao-saudavel-apresenta-oportunidades-de-negocio,f48da82a39bbe410VgnVCM1000003b74010aRCRD>>. Acesso em 12 jan. 2017.

SEERAM, N.P. Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 627–629, 2008.

SHAICH, K. M.; TIAN, X.; XIE, J. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. **Journal of functional foods**, v.14, p. 111-125, 2015.

SHI, J.; WANG, J.; LI, R.; LI, D.; XU, F.; SUN, Q.; ZHAO, B.; MAO, A.J.; GUO, Y.D. Expression patterns of genes encoding plasma membrane aquaporins during fruit development in cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v.96, p. 329-336, 2015.

SOARES, D. G.; ANDREAZZA, A. C.; SALVADOR, M. *Saccharomyces cerevisiae* como modelo biológico para avaliação da capacidade antioxidante de compostos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 85, n. 2, p. 45-47, 2004.

SPINOLA, V.; BERTA, B.; CAMARA, J.S.; CASTILHO, P.C. Effect of time and temperature on vitamin C stability in horticultural extracts. UHPLC-PDA vs. iodometric titration as analytical methods. **LWT – Food Science and Technology**. v.50, n.2, p.489-495, 2013.

STONE, H.; SIDEL, J. **Sensory evaluation practices**.3 ed. New York: Academic Press., 2004.

SUMAN, P. A. **Processo de obtenção de vinagre de gengibre**. 2012. 97 p. Tese. (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Agronômicas. Campus de Botucatu. Botucatu.

SWAIN, T.; HILLS, W.E. The phenolic constituents of *Punnus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.19, p. 63-68, 1959.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 4. ed. Ed. NEPA-UNICAMP: Campinas, 2011, 161p. Disponível em <http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada>. Acesso em 16 jan. 2017.

TAJKARIMI, M.M.; IBRAHIM, S.A.; CLIVER, D.O. Antimicrobial herb and spice compounds in food. **Food Control**, v. 21, p. 1199-1218, 2010.

TARRAGO-TRANI, M.T.; PHILLIPS, K.M.; COTTY, M. Matrix-specific method validation for quantitative analysis of vitamin C in diverse foods. **Journal of Food Composition and Analysis**. v.26, n.2, p.12-25, 2012.

TEIXEIRA, M.; MONTEIRO, M. Degradação da vitamina C em suco de fruta. **Alimentos e Nutrição**. v.17, n.2, p.219-227, 2006.

TEIXEIRA, R.M. **Uma abordagem do cenário geral de sucos industrializados no contexto da alimentação saudável**. 2007. 50 p. Monografia (Especialização em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Excelência em Turismo – Universidade de Brasília, Brasília – DF.

THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BYRNE, D.H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**. v.19, p.669–675, 2006.

TUORILA, H; MONTELEONE, E. Sensory food Science in the changing society: Opportunities, needs and challenges. **Trends in Foods, Science and Technology**, Oxford, v.20, n. 2, p. 54-62, 2009.

USDA. **Orange juice, raw**. National Nutrient Database for Standard Reference Release 27 Basic Report 09206, com modificações. 2016. Disponível em <<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2289?fgcd=&manu=&facet=&format=&count=&max=35&offset=&sort=&qlookup=orange+juice>>. Acesso em 20 jul. 2016.

VANDRESEN, S. **Caracterização físico-química e comportamento reológico de sucos de cenoura e laranja e suas misturas**. 2007. 134 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC.

VANHANEM, L.; SAVAGE, G. Comparison of oxalate contents and recovery from two green juices prepared using a masticating juicer or a high speed blender. **NFS Journal**, v. 1, p. 20-23, 2015.

- VIEIRA, L. M.; SOUSA, M.S.B.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de polpas de frutos tropicais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 888-897, 2011.
- VILLANUEVA, N.D.M.; PETENATE, A.J.; DA SILVA, M.A.A.P. Performance of the hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. **Food Quality and Preference**. v.16, p. 691–703, 2005.
- ZHENG, H.; JIANG, L.; LOU, H.; HU, Y.; KONG, X.; LU, H. Application of artificial neural network (ANN) and partial least-squares regression (PLSR) to predict the changes of anthocyanins, ascorbic acid, total phenols, flavonoids, and antioxidant activity during storage of red bayberry juice based on fractal analysis and red, green, and blue (RGB) intensity values. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, p.592–600, 2011.
- WANG, S.; MECKLING, K.A.; MARCONE, M.F.; KAKUDA, Y.; TSAO, R. Synergistic, additive, and antagonistic effects of food mixtures on total antioxidant capacities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 59, n. 3, p. 960-968, 2011.
- WOOTTON-BEARD, P.C.; MORAN, A.; RYAN, L. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after *in vitro* digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. **Food Research International**, v. 44, p. 217-224, 2011.
- WU, X.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; S. E., GEBHARDT, 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.

Anexo A – Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

Projeto: “Capacidade antioxidante e aceitação de bebida mista de frutas e vegetais”

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo (a) para participar da pesquisa “Efeito do armazenamento em baixas temperaturas sobre a capacidade antioxidante e aceitação de bebida mista de frutas e vegetais”, a ser realizada no “Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos”. O objetivo da pesquisa é “formular uma bebida mista de frutas e vegetais, semelhante às encontradas no comércio, a partir de receitas veiculadas na mídia informal; avaliar as propriedades físico-químicas e antioxidantes; e avaliar a aceitação sensorial”. Os ingredientes da bebida mista serão couve-manteiga, gengibre, laranja Pera Rio e água de coco. Sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma: o (a) senhor (a) faria parte da equipe de avaliadores da avaliação da aceitação sensorial da bebida mista recém preparada, que irá avaliar o quanto gostou ou desgostou da amostra da bebida apresentada durante a sessão de avaliação previamente agendada.

Esclarecemos que sua participação é totalmente voluntária, podendo o (a) senhor (a): recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos, também, que suas informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade.

Esclarecemos ainda, que o(a) senhor(a) não pagará e nem será remunerado(a) por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação.

Os benefícios esperados são formular uma bebida mista de fruta e vegetal, com reconhecida atividade antioxidante, trazendo benefícios à saúde de seus potenciais consumidores. Além disso, a pesquisa faz parte de uma dissertação de mestrado e o seu desenvolvimento contribuirá com a formação de recursos humanos qualificados.

Os riscos associados à ingestão de bebida mista de frutas e hortaliças são mínimos, pois se trata de bebida preparada de forma segura e com ingredientes seguros e encontrados comumente na alimentação humana. Poderá haver fadiga durante os testes, nesse caso, o julgador será dispensado. Caso ocorra qualquer tipo de desconforto, o julgador será prontamente atendido e amparado pelo pesquisador responsável.

Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá nos contatar (Sandra Helena Prudencio, Av. São Paulo, 672 – Apto 91 – Londrina – PR, (43) 3371-4080), ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone 3371-5455, e-mail: cep268@uel.br.

Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas devidamente preenchida, assinada e entregue ao (à) senhor(a).

Londrina, ___ de _____ de 201_.

Pesquisador Responsável

RG: _____

_____ (NOME POR EXTENSO DO SUJEITO DE PESQUISA), tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

Data: _____

ANEXO B – Ficha de Recrutamento dos Avaliadores para Teste de Aceitação

QUESTIONÁRIO DE RECRUTAMENTO DE AVALIADORES PARA TESTE DE ACEITAÇÃO

Desejamos formar uma equipe de avaliadores para avaliar a aceitação de bebida mista de frutas e vegetais. A amostra será produzida a partir de folhas de couve-manteiga, gengibre, suco de laranja e água de coco, e sem a adição de açúcar. Ser um julgador não tomará muito seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. A prova será realizada no Laboratório de Análise Sensorial do DCTA, leva em torno de 10 minutos e você poderá fazê-la no horário em que tiver maior disponibilidade.

Se você deseja participar do teste, por favor, preencha este formulário.

Se você tiver alguma dúvida, ou necessitar de informações adicionais, não hesite em entrar em contato com Milena (tel: 16 98158-7709, e-mail: milenacrifi@hotmail.com) ou Profa. Sandra Helena (tel: 3371-4080, e-mail: sandrah@uel.br)

Nome _____
 Telefone trabalho _____ Telefone casa _____
 E-mail _____

1. Faixa etária: () 16-20 anos () 21-25 anos () 26-30 anos () 31-35 anos....
 () 36-40 anos () > 40 anos

2. Sexo: () Feminino () Masculino

3. Escolaridade

() fundamental completo () médio completo () superior completo () Pós
 Graduação: () Especialização () Mestrado () Doutorado.
 () outro: especifique: _____

4. Ocupação

() aluno: _____ () funcionário () professor () outro: _____

5. Gosta de suco de fruta?

() Sim () Não

6. Qual a frequência que você consome suco de fruta?

() diário () semanal () mensal () eventualmente () nunca

7. Gosta de sucos mistos de frutas e vegetais?

() Sim () Não

8. Indique a frequência de consumo de sucos contendo frutas e vegetais

() Nunca	() Ocasionalmente (algumas vezes ao ano)	() Moderadamente (algumas vezes por mês)	() Frequentemente (algumas vezes por semana)
-----------	--	--	--

9. Indique o quanto você aprecia cada um desses produtos:

	Gosto	Nem gosto/Nem desgosto	Não gosto	Nunca provei
Suco de laranja				
Água de coco				
Suco contendo couve				
Bebidas contendo gengibre				

10) Você consome as seguintes hortaliças em uma outra forma que não seja suco:

- couve: () Sim () Não
- gengibre: () Sim () Não

11. Indique se você apresenta alergia a cada um desses produtos:

- suco de laranja: () Sim () Não
- couve: () Sim () Não
- gengibre: () Sim () Não
- água de coco: () Sim () Não