

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADES DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO HUMANA

JULIANA DA SILVA QUINTILIANO RODRIGUES

INFUSÕES À BASE DE FOLHAS DE PASSIFLORAS DO CERRADO: COMPOSTOS  
FENÓLICOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* E PERFIL SENSORIAL.

Brasília  
2012

JULIANA DA SILVA QUINTILIANO RODRIGUES

INFUSÕES À BASE DE FOLHAS DE PASSIFLORAS DO CERRADO: COMPOSTOS FENÓLICOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* E PERFIL SENSORIAL.

**Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Nutrição Humana.**

**Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Lívia de Lacerda de Oliveira Pineli**

Brasília

2012

**JULIANA DA SILVA QUINTILIANO RODRIGUES**

INFUSÕES À BASE DE FOLHAS DE PASSIFLORAS DO CERRADO: COMPOSTOS FENÓLICOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* E PERFIL SENSORIAL.

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Nutrição Humana.

Aprovada em:

**MEMBROS DA BANCA**

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Lívia de Lacerda de Oliveira Pineli  
(Presidente da Banca – Universidade de Brasília)

---

Professora Doutora Wilma Maria Coelho Araújo  
(Membro Interno – Universidade de Brasília)

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Ana Maria Costa  
(Membro Externo – Embrapa Cerrados)

---

Prof. Dr. Lauro Luís Martins Medeiros de Melo  
(Membro Externo – Universidade Federal do Rio de Janeiro)

Brasília

2012

Rodrigues, Juliana da Silva Quintiliano.

Infusões à base de folhas de passifloras do Cerrado: compostos fenólicos, atividade antioxidante *in vitro* e perfil sensorial /Juliana da Silva Quintiliano Rodrigues  
Dissertação de mestrado/ Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.  
Brasília, 2012.

Área de Concentração: Nutrição Humana

Orientadora: Dra. Livia de Oliveira de Lacerda Pineli

1. Passiflora 2. Compostos fenólicos 4. Atividade antioxidante *in vitro* 5. Perfil Livre 6.  
Mapa de Preferência.

Dedico este trabalho.....

À Creusa, Ricardo e Rodrigo, por  
fazerem parte da família que eu escolhi ter.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, que, soube me orientar e mostrar o melhor caminho não só durante a realização de mais essa etapa, como em toda minha trajetória .

Aos meus pais, Creusa e Ricardo, a meu irmão Rodrigo Quintiliano, e em especial ao meu namorado Rodrigo Rabadan, pelo auxílio na formatação do trabalho, carinho e paciência e por sempre me escutarem e me acalmarem nos momentos mais difíceis.

À Prof. Lívia, pela orientação, por toda a atenção dispensada ao longo desses anos de amizade, pela paciência, pelos conselhos sempre tranquilizantes, e pela confiança em mim depositada.

À Prof. Marileusa e Prof. Wilma, pela co-orientação e sugestões valiosas na etapa de qualificação, além da amizade e disponibilidade sempre que precisei.

Aos Pesquisadores da Embrapa Cerrados, Dra. Ana Maria e Dr. Herbert pela oportunidade de trabalhar nesse projeto (PASSITEC) com tamanha relevância, além da ajuda e orientação durante o trabalho.

Às amigas Pollana e Izabel pela ajuda na execução das atividades no laboratório de análise sensorial.

Ao técnico Marcos Sodré por toda calma e paciência de explicar os métodos de análises no laboratório da UCB, além da amizade sempre carinhosa e atenção dispensada.

Aos voluntários, funcionários da Universidade Católica de Brasília, que participaram, pacientemente, para a formação do grupo de provadores para as análises sensoriais.

Ao produtor de maracujá, Sr. Landin, pelo fornecimento das folhas de maracujá.

Ao pesquisador Rogério Oliveira. Impossível descrever tamanha disponibilidade e carinho verdadeiro que me foi dispensado na realização desse trabalho, e que seja por toda a caminhada.

À Universidade Católica de Brasília, por ceder o laboratório de Análise Sensorial para a execução das análises.

Ao CNPq e à Embrapa Cerrados, pelo apoio financeiro.

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desse trabalho.

**“E ainda bem que sempre existe outro dia.  
E outros sonhos.  
E outros risos.  
E outras pessoas.  
E outras coisas”.**

**Clarisse Lispector**

## RESUMO

Os compostos bioativos naturalmente presentes, em pequenas quantidades, em alimentos de origem vegetal são considerados constituintes extranutricionais. Avaliados como de grande importância na alimentação humana por possuírem a capacidade de quelar metais, inibir a ação da lipoxigenase e combater radicais livres, esses compostos fazem parte dos alimentos considerados pela legislação brasileira como *alimentos com alegação de propriedade funcional ou de saúde*. O crescente consumo dos chás já faz da bebida a segunda mais consumida em todo o mundo. Associar a composição de um alimento a uma aceitação sensorial satisfatória potencializa as chances de sucesso no mercado consumidor. O objetivo deste trabalho foi caracterizar as propriedades antioxidantes e sensoriais de chás de passifloras do Cerrado, em comparação com as do chá verde (*Camellia sinensis*). As folhas foram colhidas, tanto na área experimental da Embrapa Cerrados, como na propriedade de um agricultor conveniado da Embrapa Cerrados. As caracterizações química e sensorial foram realizadas, ambas, na Universidade Católica de Brasília. A caracterização química foi realizada por dois tipos de extração: aquosa (infusão) e hidroalcoólica, e a sensorial somente com as infusões. Foi verificado na caracterização química que o chá verde apresentou os maiores valores, em todas as análises, de propriedades antioxidantes. Dentre os chás analisados, o chá da *Passiflora nitida* foi a bebida que se destacou com relação aos fenólicos e potencial antioxidante, já a *Passiflora ssp*, disponibilizada na farmácia popular para o consumo e usada nesse trabalho também para comparação, foi a que apresentou menor quantidade desses compostos. Na análise sensorial, o grupo focal decidiu por uma proporção de 5 gramas/L de água e a temperatura de 10°C. No levantamento descritivo por Perfil Livre, foram levantados de 8 a 13 atributos para os 9 chás avaliados. A Análise de Componentes Principais (ACP) explicou 72,44% nas duas primeiras dimensões: D1 e D2. O consenso dos provadores foi bastante alto quando avaliados o gosto amargo, aroma adocicado, cor amarela e translucidez, além dos atributos correlacionados com a amostra de chá verde. Já para o gosto doce não foi possível verificar o mesmo grau de consenso. Na análise de aceitação, 100 provadores foram recrutados e avaliaram individualmente as 9 amostras de chás. O mapa de preferência interno indicou uma rejeição pelo chá verde e chá da *P. alata*, que pode ser confirmada pela ANOVA e teste de comparação de médias ( $p < 0.05$ ). De acordo com a dissimilaridade das notas atribuídas às amostras, os provadores foram divididos em 3 *clusters*. O mapa de preferência estendido e mapa de preferência externo permitiram correlacionar a baixa aceitabilidade com as maiores quantidades de componentes químicos, por influência das características do chá verde. Porém, *P. nitida* apresentou maiores quantidades de compostos antioxidantes entre as passifloras e melhor aceitabilidade entre as amostras de chás. Com isso, levantou-se a importância de detalhamento dos compostos fenólicos presentes nessa amostra.

**Termos de indexação:** Passiflora, Compostos fenólicos, Atividade antioxidante *in vitro*, Perfil Livre, Mapa de Preferência.

## ABSTRACT

The bioactive compounds naturally present, in small amounts, in plant foods are considered constituents extra nutritional. They are measured as great importance compounds in food, by having the ability to chelate metals, inhibit lipoxygenase action and combat free radicals and, because of this, these compounds are among the foods considered to Brazilian law claim as *foods with functional property or for health*. Tea is the second beverage most consumed in the world and its intake has been increased. Join the food composition to sensory acceptance satisfactory enhances the chances of success in the consumer market. The aim of this research was to characterize the antioxidant and sensory properties of passifloras teas from Cerrado, comparing them with green tea (*Camellia sinensis*). Leaves were harvested on the experimental field of Embrapa Cerrados and on the property of a farmer associated to Embrapa Cerrados. Chemical and sensory characterizations were performed at Catholic University of Brasilia. Chemical characterization was done by two kinds of extraction: aqueous (infusion) and hydroalcoholic. The sensory characterization was only performed with the infusions. Green tea presented the highest values to antioxidant properties in all analysis. Among the infusions analyzed, *Passiflora nitida* tea stood out in relation to phenolic and antioxidant potential. However, *Passiflora ssp*, available for consumption at popular pharmacy and also used in this research to comparing with the other infusions, showed the least amount of antioxidant compounds. The focus group of sensory analysis decided a ratio of 5 grams of leaf/L of water in at 10°C. The Descriptive Free Choice Profile defined from 8 to 13 attributes for 9 teas evaluated. Principal Component Analysis explained 72.44% on two first dimensions: D1 and D2. The panelists consensus was quite high when they evaluated bitter taste, yellow color and translucency, besides the attributes related to sample of green tea. As for the sweet taste it wasn't possible to verify the same degree of consensus. In the acceptance analysis, 100 panelists were recruited and they evaluated, individually, the 9 samples of teas. Internal Preference Map generated a PCA where we can notice a rejection for green tea and *P. alata* tea, which was be confirmed by ANOVA and Tukey's mean comparison tests. According to dissimilarity of the grades given to samples, the panelists were grouped into three clusters. Extended Preference Map and Extern Preference Map allowed correlating the low acceptability to higher amounts of chemical components. *P. nitida* revealed higher amounts of antioxidant compounds and better acceptability among samples of teas, showing the importance to have a more detailed survey about phenolic compounds present in this sample.

**Indexing terms:** Passiflora, Phenolic Compounds, Antioxidant Activity *in vitro*, Free Choice Profile, Preference Map.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 MAPA DOS ECOSSISTEMAS BRASILEIROS, MOSTRANDO O BIOMA CERRADO .....	19
FIGURA 2 SUBDIVISÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES EM ALIMENTOS DE ORIGEM VEGETAL.....	29
FIGURA 3 ESTRUTURA QUÍMICA DE TANINO CONDENSADO .....	37
FIGURA 4 ESTRUTURA QUÍMICA DE TANINO HIDROLISÁVEL .....	37
FIGURA 5 COLHEITA DAS FOLHAS DE PASSIFLORAS DO CERRADO. PLANALTINA –DF, DEZEMBRO DE 2010. ....	54
FIGURA 6 PROCESSAMENTO DAS FOLHAS DE PASSIFLORA: (A) SANITIZAÇÃO; (B) DESIDRATAÇÃO; (C) TAMISAÇÃO; (D) ARMAZENAMENTO .....	55
FIGURA 7 LEVANTAMENTO DOS ATRIBUTOS.....	65
FIGURA 8 AVALIAÇÃO SENSORIAL EM CABINE INDIVIDUAL.....	66
FIGURA 9 FICHA DE AVALIAÇÃO UTILIZADA NO TESTE DE ACEITAÇÃO .....	67
FIGURA 10 AÇÚCARES SOLÚVEIS TOTAIS EM INFUSÕES (CHÁS) DE FOLHAS DE PASSIFLORAS E DE CHÁ VERDE ( <i>CAMELLIA SINENSIS</i> ).....	77
FIGURA 11 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DOS 7 PARTICIPANTES DAS SESSÕES DE GRUPO FOCAL.....	78
FIGURA 12 IMAGEM DAS 3 CONCENTRAÇÕES DE CHÁS DE <i>PASSIFLORA EDULIS</i> . (1) 3 GRAMAS DE FOLHAS/L; (2) 5 GRAMAS DE FOLHAS/L; (3) 7 GRAMAS DE FOLHAS/L. ....	79
FIGURA 13 VARIÂNCIAS RESIDUAIS DOS PROVADORES.....	84
FIGURA 14 SOBREPOSIÇÃO DE CADA ATRIBUTO E O CONSENSO.....	88
FIGURA 15 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS (ACP) DOS DADOS DE PERFIL LIVRE GERADA PELO PLANO FATORIAL (D1XD2). ....	90
FIGURA 16 MAPA DE PREFERÊNCIA INTERNO: D1XD2 .....	92
FIGURA 17 DENDROGRAMA MOSTRANDO A SEGMENTAÇÃO DOS CONSUMIDORES. ...	94
FIGURA 18 COMPORTAMENTO DOS CLUSTERS RELACIONADO AO INTERESSE GERAL EM SAÚDE.....	97
FIGURA 19 MAPA DE PREFERÊNCIA EXTENDIDO PARA AS DIMENSÕES (INDIVIDUAL): D1 E D2 .....	99
FIGURA 20 MAPA DE PREFERÊNCIA EXTENDIDO PARA AS DIMENSÕES (INDIVIDUAL): D1 E D3 .....	100
FIGURA 21 MAPA DE PREFERÊNCIA EXTENDIDO PARA AS DIMENSÕES (CLUSTERS): D1 E D2.....	102
FIGURA 22 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (ACP) DOS COMPONENTES QUÍMICOS (A,B), GRÁFICO DE CONTOURNO (C) E MAPA DE PREFERÊNCIA EXTERNO (D). ....	103

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 TEOR DE TANINOS TOTAIS EM ALGUMAS ESPÉCIES VEGETAIS.....	37
TABELA 2 ROTEIRO APLICADO COM O GRUPO FOCAL.....	62
TABELA 3 DESCRIÇÃO DOS PRODUTOS UTILIZADOS NESSE ESTUDO.....	62
TABELA 4 QUESTIONÁRIO ATITUDINAL ADAPTADO DA VERSÃO EM PORTUGUÊS DAS SUBESCALAS DE SAÚDE DO HTAS (HEALTH AND TASTE ATTITUDE SCALES) .....	69
TABELA 5 ANTIOXIDANTES DE EXTRATOS E CHÁS DE FOLHAS DE PASSIFLORAS E DE <i>CAMELLIA SINENSIS</i> (CHÁ VERDE).....	71
TABELA 6 POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS E CHÁS DE FOLHAS DE PASSIFLORAS E DE <i>CAMELLIA SINENSIS</i> ( CHÁ VERDE).....	75
TABELA 7 RESUMO DAS RESPOSTAS MAIS FREQUENTES PARA A CONCENTRAÇÃO DO CHÁ DE PASSIFLORA. ....	79
TABELA 8 RESUMOS DAS RESPOSTAS MAIS FREQUENTES PARA A TEMPERATURA DOS CHÁS DE PASSIFLORA.....	80
TABELA 9 RESUMO DAS RESPOSTAS MAIS FREQUENTES SOBRE A ADIÇÃO OU NÃO DE AÇÚCAR.....	80
TABELA 10 ATRIBUTOS LEVANTADOS PELOS PROVADORES, A DESCRIÇÃO E IDENTIFICAÇÕES DOS PROVADORES QUE CITARAM CADA ATRIBUTO.....	82
TABELA 11 ATRIBUTOS COM MAIOR CORRELAÇÃO ( $R < -0,50$ OU $R > 0,50$ ) PARA CADA PROVADOR NAS AVALIAÇÕES DAS AMOSTRAS. ....	86
TABELA 12 SEGMENTAÇÃO EM CLUSTERS DOS PROVADORES DE CHÁS. ....	94
TABELA 13 PERFIL DEMOGRÁFICO DOS PARTICIPANTES SEGMENTADOS EM TRÊS CLUSTERS .....	95
TABELA 14 CONHECIMENTO, ACEITAÇÃO E FREQUÊNCIA DE CONSUMOS DE CHÁS GELADOS SEGMENTADOS EM TRÊS CLUSTERS.....	96
TABELA 15 NOTAS MÉDIAS DE ACEITAÇÃO DAS AMOSTRAS DE CHÁS CONSIDERANDO CADA CLUSTER E A MÉDIA GERAL.....	98

## LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 MODO DE PREPARO DO CHÁ DE FOLHA DE PASSIFLORA POR INFUSÃO .....	125
ANEXO 2 PREPARO DOS EXTRATOS HIDROALCOÓLICO DE FOLHA DE PASSIFLORA .	126
ANEXO 3 ANÁLISE DE FENÓLICOS TOTAIS.....	127
ANEXO 4 ANÁLISE DE TANINOS CONDENSADOS .....	128
ANEXO 5 ANÁLISE DE FLAVONOIDES .....	130
ANEXO 6 DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES TOTAIS: MÉTODO DO FENOL-SULFÚRICO .	132
ANEXO 7 ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL POR DPPH.....	133
ANEXO 8 ANÁLISE DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL POR FRAP .....	136
ANEXO 9 APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA.....	139
ANEXO 10 FICHA DE RECRUTAMENTO PARA ANÁLISE DESCRITIVA.....	140
ANEXO 11 FICHA DE AVALIAÇÃO DE TESTE TRIANGULAR .....	143
ANEXO 12 FICHA REPERTORY GRID.....	144
ANEXO 13 AVALIAÇÃO DOS ATRIBUTOS LEVANTADOS INDIVIDUALMENTE PARA CHÁS DE FOLHAS DE PASSIFLORAS. ....	145
ANEXO 14 QUESTIONÁRIO DE RECRUTAMENTO PARA O TESTE DE ACEITAÇÃO DOS CHÁS DE FOLHAS DE PASSIFLORAS. ....	146
ANEXO 15 DELINEAMENTO PARA O TESTE DE ACEITABILIDADE.....	148
ANEXO 16 QUESTIONÁRIO ATITUDINAL SOBRE SAÚDE .....	154

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE TABELAS.....	XI
LISTA DE ANEXOS.....	XII
INTRODUÇÃO.....	16
<b>CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>19</b>
1.2 PASSIFLORAS.....	20
<b>1.2.1 Espécies de Passifloras silvestres do Cerrado</b> .....	<b>22</b>
1.3 ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	25
<b>1.3.1 Conceito, histórico e legislação</b> .....	<b>25</b>
<b>1.3.2 Chá de Passiflora</b> .....	<b>28</b>
<b>1.3.3 Classes de compostos fenólicos presentes em alimentos funcionais</b> .....	<b>29</b>
1.4 COMPOSTOS FENÓLICOS.....	30
<b>1.4.1 Fatores que influenciam os teores de compostos fenólicos nas plantas</b> .....	<b>31</b>
<b>1.4.2 Métodos para determinação de compostos fenólicos totais</b> .....	<b>32</b>
<b>1.4.3 Flavonoides</b> .....	<b>34</b>
1.4.3.1 Métodos para a quantificação de Flavonoides.....	35
1.4.3.2 Taninos.....	36
1.4.3.3 Métodos para a quantificação de Taninos.....	38
<b>1.4.4 Açúcares solúveis totais</b> .....	<b>39</b>
1.5 POTENCIAL ANTIOXIDANTE.....	40
<b>1.5.1 Potencial antioxidante dos compostos fenólicos</b> .....	<b>40</b>
<b>1.5.2 Métodos para avaliação do potencial antioxidante dos alimentos <i>in vitro</i></b> .....	<b>41</b>
1.5.2.1 DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).....	42
1.5.2.2 FRAP (Ferric-reducing Antioxidant Power).....	42
1.6 ANÁLISE SENSORIAL.....	43
<b>1.6.1 Grupo focal</b> .....	<b>44</b>
<b>1.6.2 Análise Descritiva (Perfil Livre)</b> .....	<b>45</b>
<b>1.6.3 Testes afetivos (Análise de Aceitação)</b> .....	<b>46</b>
<b>1.6.4 Análises estatísticas de dados sensoriais</b> .....	<b>47</b>
1.6.4.1 Análise Procrustes Generalizada.....	47
1.6.4.2 Análise de Variância (ANOVA).....	49
1.6.4.3 Mapa de preferência.....	49
<b>CAPITULO 2 – HIPÓTESES, OBJETIVOS, MATERIAL E MÉTODOS DE PESQUISA</b> .....	<b>52</b>
2.1 HIPÓTESE DA PESQUISA.....	52
2.2 OBJETIVOS.....	52
<b>2.2.1 Objetivo geral</b> .....	<b>52</b>
<b>2.2.2 Objetivos específicos</b> .....	<b>52</b>
2.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	53
<b>2.3.1 Matéria Prima</b> .....	<b>53</b>
<b>2.3.2 Métodos</b> .....	<b>53</b>

2.3.2.1 Obtenção das folhas, higienização e desidratação .....	53
<b>2.3.3 Amostra .....</b>	<b>55</b>
2.3.3.1 Preparo das infusões .....	55
2.3.3.2 Preparo dos extratos .....	56
<b>2.3.4 Determinações analíticas .....</b>	<b>56</b>
2.3.4.1 Determinações químicas .....	57
2.3.4.1.1 Análise de fenólicos totais.....	57
2.3.4.1.2 Análise de taninos totais.....	57
2.3.4.1.3 Análise de flavonoides totais .....	58
2.3.4.1.4 Análise da quantidade de açúcares totais.....	59
2.3.4.1.5 Análise do potencial antioxidante in vitro por DPPH.....	59
2.3.4.1.6 Análise do potencial antioxidante in vitro por FRAP .....	60
2.3.4.2 Determinações Sensoriais.....	61
2.3.4.2.1 Método do Grupo Focal.....	61
2.3.4.2.2 Método Perfil Livre.....	64
<b>2.3.4.2.2.1 Seleção dos provadores.....</b>	<b>64</b>
<b>2.3.4.2.2.2 Levantamento de atributos.....</b>	<b>64</b>
<b>2.3.4.2.2.3 Avaliação das amostras .....</b>	<b>65</b>
2.3.4.2.3 Análise de aceitação .....	66
<b>2.3.4.2.3.1 Seleção dos provadores para análise de aceitação .....</b>	<b>66</b>
<b>2.3.4.2.3.2 Avaliação das amostras .....</b>	<b>67</b>
<b>2.3.4.2.3.3 Aplicação do questionário atitudinal.....</b>	<b>68</b>
<b>CAPÍTULO 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>70</b>
3.1 Determinações químicas .....	70
3.2 Determinações sensoriais .....	78
<b>3.2.1 – Grupo focal.....</b>	<b>78</b>
<b>3.2.2 Perfil Livre .....</b>	<b>81</b>
3.2.2.1 Seleção dos provadores .....	81
3.2.2.2 Levantamento de atributos.....	82
3.2.2.3 Avaliação das amostras.....	84
3.2.2.3.1 Desempenho dos provadores.....	84
3.2.2.3.2 Análise das infusões .....	85
3.2.2.3.3 Análise de Componentes Principais (ACP) da configuração de consenso....	89
<b>3.2.3 Análise de aceitação.....</b>	<b>91</b>
3.2.3.1 Mapa de preferência interno .....	91
3.2.3.2 Divisão e identificação dos clusters .....	93
3.2.3.3 Aplicação do questionário atitudinal .....	97
3.2.3.4 Notas médias de aceitação global .....	97
3.2.3.5 Mapa de preferência estendido (individual).....	99
3.2.3.6 Mapa de preferência estendido (clusters).....	101
3.2.3.7 Mapa de preferência externo .....	102

<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>106</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>108</b>

## INTRODUÇÃO

O estresse é crescente na vida do ser humano. Associado ao sedentarismo e à má alimentação, o estresse aumenta a ansiedade e potencializa o risco do acometimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). Definido como o desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, a favor dos primeiros, o estresse leva a danos celulares. Além do envelhecimento, fatores externos também podem diminuir a capacidade antioxidante, resultando em distúrbios do equilíbrio estabelecido em condições saudáveis.

Visando à proteção da saúde da população, a sociedade tem-se voltado, cada vez mais, para uma alimentação saudável e, nesse aspecto, os compostos antioxidantes, naturalmente presentes nos alimentos, tornaram-se objetos de inúmeras pesquisas e caracterizações químicas e nutricionais.

Em consequência da preocupação com a longevidade e qualidade de vida da sua população, o governo japonês, por exemplo, estimulou o consumo de alimentos fontes desses componentes químicos. Surgiu, assim, o conceito de *alimentos funcionais* que, posteriormente, também foi adotado por outros países, apesar das muitas controvérsias sobre a questão. As substâncias ou compostos bioativos são constituintes extranutricionais que ocorrem, tipicamente, em pequenas quantidades, especialmente em frutas e hortaliças. Os compostos fenólicos, que englobam mais de oito mil substâncias diferentes, compõem um dos maiores grupos dessas substâncias não essenciais à dieta, encontrados em alimentos de origem vegetal.

Esses componentes vêm sendo considerados de grande importância na alimentação humana, pois possuem a capacidade de quelar metais, inibir a ação da lipoxigenase e combater radicais livres. Porém, tradicionalmente, são considerados compostos antinutricionais, por causa do efeito adverso dos taninos, principais compostos desta classe, na digestibilidade de proteínas. A partir dessas constatações, o interesse dos pesquisadores aumentou e estudos para conhecer os efeitos dos compostos bioativos no organismo humano vêm recebendo destaque na literatura científica.

Ao longo dos séculos, e em proporções importantes, as pesquisas com plantas dotadas de propriedades antioxidantes continuam contribuindo para os cuidados com a saúde.

O incentivo para o desenvolvimento desses trabalhos possibilita o desenvolvimento de novos produtos, como os chás, que, cada vez mais, são aceitos e apreciados e que, simultaneamente, são fontes dessas propriedades tão almejadas pela população. De acordo com a Associação Brasileira de Refrigerantes e de Bebidas não Alcoólicas (ABIR), os diferentes tipos de chás fazem dessa bebida a segunda mais consumida em todo o mundo, ficando atrás somente da água. No Brasil, não há estatísticas para estimar o gosto popular pelo chá, mas sabe-se que a bebida, trazida pelos imigrantes chineses, tem conquistado cada vez mais adeptos, graças aos variados e atraentes aromas e sabores.

O Cerrado brasileiro, localizado principalmente no planalto central, está entre as cinco áreas nacionais de maior abundância de plantas nativas. Porém, os estudos voltados para a identificação de plantas úteis do Cerrado, entre elas as que ofereçam recursos funcionais, ainda são escassos, apesar de a literatura relatar o alto potencial de compostos bioativos produzidos pelas espécies do Cerrado.

Algumas espécies de maracujá, fruto nativo da região central do Brasil, incluindo o Cerrado, possuem propriedades que estão sendo pesquisadas. Os estudos visam a trazer novas tecnologias, facilitar o cultivo e aumentar a produtividade da planta e, principalmente, investigar e explorar o seu potencial funcional.

A Embrapa Cerrados possui uma coleção de aproximadamente 200 acessos de passifloras (maracujás) do Cerrado, com acessos que incluem espécies e variedades com potencial antioxidante.

Os chás de folhas das passifloras já são conhecidos e utilizados por diversas comunidades. Em países americanos e europeus, os chás de maracujá são usados, em larga escala, como sedativos ou tranquilizantes, e, também, nas doenças inflamatórias, doenças de pele e no tratamento da hipertensão, ação medicinal que vem sendo cientificamente comprovada.

Estudos relativos, basicamente, às espécies *Passiflora edullis*, *P. alata*, *P. incarnata* e *P. caerulea* têm revelado a presença significativa de antioxidantes, além da vitamina C, da vitamina E e dos carotenoides. São substâncias identificadas como polifenóis, flavonoides e de alguns ácidos fenólicos. Esses componentes também participam ativamente do perfil sensorial do produto, sendo responsáveis pela cor, aroma e sabor.

Contudo, para que essas espécies passifloráceas possam ser exploradas por suas propriedades funcionais e, conseqüentemente, tenham boa aceitação do consumidor, faz-se necessário aprofundar estudos das características sensoriais dos produtos, pois, para desenvolver alimentos funcionais à base de passiflora, deve-se determinar os parâmetros relacionados com a sua descrição e aceitação.

Nesse sentido, a análise sensorial tem-se mostrado uma ferramenta básica nas indústrias de alimentos. A análise sensorial é capaz de gerar informações precisas e reproduzíveis, mostrando-se bastante eficiente no que diz respeito a prover informações até então não possíveis de se obterem por qualquer outro instrumento.

Para a descrição completa de um produto, são usados métodos sensoriais analíticos. Os resultados podem ser úteis para o estabelecimento do controle de qualidade, eficientes para formulação ou aperfeiçoamento de produtos, assim como para avaliação de potenciais oportunidades de mercado. Os testes de aceitação, geralmente em seqüência aos testes descritivos, são usados com o objetivo de avaliar se os consumidores gostam ou desgostam do produto.

## CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 CERRADO BRASILEIRO

O Cerrado possui uma área de aproximadamente 203 milhões de hectares, ocupando porção central do Brasil. É o segundo maior bioma da América do Sul, ocupando cerca de 25% do território nacional (Figura 1). O clima dessa região é considerado tropical estacional, com um período chuvoso, que dura de outubro a março, seguido por um período seco, de abril a setembro (KLINK & MACHADO, 2005).



do

Fonte: Parron *et al.*, 2008.

O Distrito Federal (DF), localizado na área nuclear do Bioma Cerrado, tem sofrido acelerada ação depredatória de seus recursos naturais. Em um período 44 anos, desde o início de sua ocupação até o ano de 2000, 73,8% da cobertura original de Cerrado já foram perdidos (FELFILI, 2001).

A biodiversidade do Cerrado é elevada, porém, geralmente menosprezada. O número de plantas vasculares é superior àquele encontrado na maioria das regiões do mundo. As plantas e frutos nativos ocupam lugar de destaque no ecossistema do

Cerrado, pois muitos deles são comercializados e consumidos “*in natura*” ou beneficiados pelas indústrias alimentícias e farmacêuticas (SILVA *et al.*, 1994). Mais de 10 anos após o estudo de Silva *et al.* (1994), Fakim (2006) ainda aponta a baixa valorização, cerca de 1%, das espécies estudadas para o uso funcional.

No Cerrado há várias espécies de maracujazeiros em estado silvestre. Em levantamento realizado pela Embrapa Cerrados, constatou-se, até o momento, a existência de mais de 40 espécies de passifloras, vegetando em estado silvestre no Cerrado. Dessas, as mais conhecidas são a *Passiflora cincinnata*, *P. alata*, *P. setacea*, *P. nitida*, *P. serrato-digitata* e *P. quadrangularis* (FALEIRO *et al.*, 2005).

## 1.2 PASSIFLORAS

O termo maracujazeiro compreende várias espécies do gênero *Passiflora L.*, da família *Passifloraceae*. O gênero *Passiflora* é constituído por aproximadamente 400 espécies, com mais de 150 delas nativas do Brasil, onde se encontra o maior centro de diversidade genética, com cerca de 70 espécies utilizadas na alimentação humana (VAZ, 2008; BRUCKNER & PIKANÇO, 2001). Botanicamente é definido como uma planta trepadeira sub-lenhosa, que apresenta grande vigor vegetativo (GONÇALVES & SOUZA, 2006).

A principal espécie comercialmente cultivada no Brasil é o maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*), também conhecido como “maracujá azedo. Esse maracujá é originário do Brasil (CÓRDOVA *et al.*, 2005) e representa 95% dos pomares do país, graças à qualidade dos seus frutos, vigor, produtividade e rendimento em suco concentrado, principal produto de exportação (MELETTI *et al.*, 2005). Entre as principais frutas produzidas, o maracujá se destaca, pois o país é o maior produtor e consumidor mundial (LIMA *et al.*, 2006).

Em 2009, a produção nacional de frutos de maracujazeiro-azedo girou em torno de 713.515 toneladas, em 50.795 hectares (rendimento médio de 14,046 t/ha), 4,4% superior às 684.376 toneladas obtidas em 2008. Em área, o valor obtido foi 3,3% superior a área de maracujá colhida no ano de 2008 (49.112 ha), 7,6% superior à de 2007 (46.886 ha) e 11,4% superior à do ano de 2006, quando se produziram em

45.000 hectares de plantação do fruto (IBGE, 2012). Atualmente, quase toda produção de frutas frescas é destinada ao mercado interno, enquanto menos da metade do volume de frutas processadas, principalmente na forma de suco concentrado, é destinada ao mercado brasileiro (LIMA *et al.*, 2006).

Apesar da larga escala de produção, a cultura tem enfrentado vários problemas, refletindo-se em pequeno rendimento e baixa qualidade dos frutos. Com o crescimento expansivo da cultura de maracujá, observou-se o surgimento de novas áreas de cultivo, juntamente o crescimento de diversos problemas fitossanitários. Isso acarretou a redução da vida útil do maracujazeiro, tornando essa cultura itinerante, ou seja, a cultura passou a diminuir seu tempo de permanência numa determinada área. No princípio, a vida útil da cultura era de aproximadamente cinco a dez anos; atualmente, os pomares são renovados a cada dois anos, ou mesmo anualmente (RONCATTO *et al.*, 2004).

Além disso, existe ainda a pressão do mercado contra as doenças parasitárias, causadas normalmente por fungos, bactérias e vírus, em especial o PWV (*Passion fruit Woodness Virus*). Conhecido popularmente como “vírus do endurecimento dos frutos”, normalmente é transmitido por pulgões e causa reduções quantitativa e qualitativa na produção do maracujá (GIORIA *et al.*, 2002).

Entre os vários fatores responsáveis para o aumento da vida útil do maracujazeiro, podemos citar a escolha de bons genótipos, o manejo cultural e fitossanitário e a adubação, partindo-se, inicialmente, da obtenção de mudas de boa qualidade genética, fisiológica e sanitária (SILVA *et al.*, 2001).

Na tentativa de reduzir os ataques patogênicos e aumentar a vida útil da cultura, vários estudos têm se voltado para a técnica de enxertia. No Brasil, ainda são escassas as informações sobre o comportamento de maracujazeiros comerciais, enxertados em espécies de passifloras silvestres, porém, vários autores (RONCATTO *et al.*, 2004; RUGGERIO, 2000; MENEZES *et al.*, 1994; MALDONADO, 1991) relatam a necessidade de se usarem porta-enxertos resistentes para controlar as doenças e a morte prematura das plantações comerciais. Várias espécies de passifloras silvestres, como *P. caerulea*, *P. nítida*, *P. laurifólia*, e alguns acessos de *P. suberosa*, *P. alata*, *P.*

*coccinea*, *P. gibertii* e *P. setacea*, vêm sendo reconhecidas por apresentarem maior resistência à morte precoce e a outros fungos do solo (MENEZES *et al.*, 1994; FISCHER *et al.*, 2005; JUNQUEIRA *et al.*, 2006).

Em vista disso, vários estudos têm sido propostos para a utilização dessas espécies silvestres em programas de melhoramento genético de espécies comerciais. Pesquisas objetivam à exploração, conservação e caracterização das espécies silvestres e comerciais de maracujazeiros nativos, pois, como enfatizam Faleiro e Junqueira (2009): “O gênero *Passiflora* merece destaque por possuir plantas com poder de diversificação fantástico, sendo utilizado por suas propriedades agrícolas, alimentares, passando pela medicinal, cosmética até na área ornamental, devido a exuberância e singularidade das formas de suas flores”.

Deve-se, ainda, aprofundarem-se os estudos voltados para o reconhecimento de suas propriedades funcionais e de sua utilização como fitoterápicos, pois, segundo Costa & Tupinambá (2005), a grande maioria das espécies do gênero *Passiflora* ainda não foi estudada quanto às propriedades medicinais e funcionais.

### **1.2.1 Espécies de *Passifloras* silvestres do Cerrado**

Ao investigar o perfil de utilização de fitoterápicos pela população brasileira, alguns autores evidenciaram que a *passiflora* está entre os mais utilizados (MARLIÉRE *et al.*, 2008; ZRAIK *et al.*, 2010). Os medicamentos fitoterápicos à base de maracujá também são elaborados a partir de espécies nativas e devem ser preparados de espécies oficiais da farmacopéia brasileira (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1977) e européia (EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 1996), que são as *P. alata* e *P. incarnata*, respectivamente. (MARLIÉRE *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2006; RIBEIRO *et al.*, 2005; DHAWAN *et al.*, 2004).

O maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis), também conhecido popularmente como maracujá-doce, maracujá-grande, maracujá-guaçu, maracujá-alado, maracujá-de-refresco e maracujá-de-comer, tem sua produção e comercialização restrita. Essa espécie, originária do Brasil, é uma fruta ainda pouco conhecida pela maioria da

população e, ao contrário do maracujá amarelo, é consumida exclusivamente como fruta fresca, por sua baixa acidez, polpa adocicada, odor forte e agradável; porém, enjoativa, quando utilizada na forma de suco (MELETTI *et al.*, 2007). Clones dessa espécie vêm sendo cultivados, em menor escala, para extração de passiflorina, calmante natural utilizado pela indústria farmacêutica. Seus frutos apresentam elevados teores de açúcar, vitaminas (A, B e C), sais minerais (especialmente cálcio, ferro e fósforo), como destacam Costa & Tupinambá (2005).

A espécie *Passiflora incarnata* L. é nativa da América Central e América do Sul, onde é muito cultivada e conhecida como “*wild passion flower*” (SOUZA; MELETTI, 1997). Essa espécie cresce preferencialmente em solos secos e pobres (PEREIRA *et al.*, 2004), não tendo grande difusão no Brasil, em parte por não possuir frutos comestíveis. As partes aéreas da planta têm sido usadas tradicionalmente para o tratamento da ansiedade, ataques nervosos e nevralgia (SOULIMANI *et al.*, 1997).

Estudos recentes, relativos basicamente às espécies *P. edulis*, *P. caerulea*, *P. nitida*, *P. laurifolia*, *P. gibertii* e *P. setacea*, além das *P. alata* e *P. incarnata* têm revelado a presença significativa de antioxidantes, além da vitamina C, da vitamina E, e dos carotenóides. Esses componentes também participam ativamente do perfil sensorial do produto, sendo responsáveis pela cor, aroma e sabor dos produtos que as utilizam como matéria prima (PEITTA *et al.*, 1998; RUDNICKI *et al.*, 2007; BENICÁ *et al.*, 2007).

A *Passiflora nitida*, espécie também amplamente distribuída no território nacional pertence ao grupo dos maracujás-doces. Seus frutos são muito apreciados, pelas comunidades rurais, para o consumo *in natura*, confecção de doces e sucos. Em Manaus, geralmente, os frutos são comercializados em feiras e sacolões, sendo também conhecidos como maracujá-suspiro, maracujá-de-rato, maracujá-do-mato ou maracujá-de-cheiro. Por sua similaridade botânica com o maracujazeiro-doce (*P. alata* Curtis), pesquisadores acreditam que essa espécie tenha alto potencial para ser utilizada no melhoramento genético e como porta-enxerto para a espécie comercial de *P. edulis*, por sua resistência a várias doenças causadas por patógenos do solo (JUNQUEIRA, 2006). Além disso, estudos voltados para quantificação de compostos

funcionais têm mostrado que a maioria das variedades de *P. nitida* apresentou teores de polifenóis elevados, quando comparados ao maracujá comercial (*Passiflora edulis*) (COSTA *et al.*, 2008).

A *Passiflora setacea* é também uma espécie silvestre pouco estudada, sendo conhecida como maracujá-sururuca, maracujá-de-boi, maracujá-do-Cerrado e maracujá-do-sono. Essa espécie é nativa do Cerrado, podendo ocorrer, também, na Caatinga e em áreas de transição, como o semi-árido e norte-mineiro. Nas condições da região do Distrito Federal, a *P. setacea* floresce e frutifica durante o período de dias mais curtos do ano e a colheita ocorre de agosto a outubro, época da entressafra do maracujá-azedo comercial. Essa característica, se incorporada ao maracujazeiro comercial, poderá eliminar os problemas referentes à sazonalidade, permitindo a produção de frutos durante o ano todo na região Centro-Sul do país. Além disso, a utilização dessa espécie também tem sido preconizada por vários autores, por apresentar resistência a patógenos do solo (FALEIRO *et al.*, 2005; BRAGA & JUNQUEIRA, 2000; JUNQUEIRA *et al.*, 2006).

A *Passiflora tenuifila* Killip também está entre as 150 espécies nativas do Brasil e pode ser encontrada em estado silvestre no Estado de Minas Gerais e no Distrito Federal, onde também é conhecida como maracujá-alho. Assim como as outras passifloras silvestres, essa espécie também possui grande importância para o melhoramento genético, por ser autocompatível, precoce e apresentar boa resistência à bacteriose. Porém, para que esse cruzamento convencional ocorra, é de essencial importância que se conheçam as características agronômicas, físicas, químicas e sensoriais, com o intuito de avaliar as propriedades sensoriais dos frutos, garantindo sua qualidade para o mercado *in natura* e para a indústria. São poucas as referências na literatura que já tenham avaliado as características físico-químicas e agronômicas desta espécie. Sabe-se, porém, que o acesso mantido na Embrapa Cerrados, proveniente de Patos de Minas – MG, é autocompatível e apresenta resistência a algumas doenças (BRAGA *et al.*, 2004).

## 1.3 ALIMENTOS FUNCIONAIS

### 1.3.1 Conceito, histórico e legislação

Nos últimos anos tem-se atribuído aos alimentos, além das funções de nutrição e de prover apelo sensorial, uma terceira função, relacionada à resposta fisiológica específica, produzida por alguns deles, os chamados: alimentos funcionais. A definição de que o alimento funcional pode ser classificado como alimento é aceita nos Estados Unidos, Europa e Brasil. Definidos por alguns autores como: “Todos os alimentos ou bebidas que, consumidos na alimentação cotidiana, podem trazer benefícios fisiológicos específicos, graças à presença de ingredientes fisiologicamente saudáveis”, esses alimentos têm sido estudados por apresentarem a capacidade de prevenir, curar ou auxiliar na recuperação de determinadas doenças (ZERAIK *et al.*, 2010; CÂNDIDO & CAMPOS, 2005; KWAK & JUNKES, 2001).

Em meados dos anos 1980, o Japão, pela primeira vez, introduziu o conceito de alimentos funcionais, referindo-se a alimentos processados, contendo ingredientes que, além de serem nutritivos, apresentam função específica no organismo. Conhecidos como Alimentos para Uso Específico de Saúde (*FOSHU*), esses alimentos foram lançados por meio de um programa de governo que tinha como objetivo desenvolver alimentos saudáveis para uma população que envelhecia e apresentava uma grande expectativa de vida. Porém, tais alimentos, para serem aprovados, devem, primeiramente, passar por um comitê do Ministério da Saúde e Previdência japonês e só depois recebem um selo de aprovação para tal fim (ARAI *et al.*, 2002; ANJO, 2004).

O conceito de alimento funcional foi empregado, posteriormente, em vários outros países. A legislação brasileira adota a definição japonesa: “aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano”. (STRINGHETA *et al.*, 2007; ANVISA, 1999a, b, c). Assim como no Japão, para serem aprovados para consumo, eles devem passar pela aprovação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Para regulamentar esses alimentos ou ingredientes, a ANVISA conta com a Comissão de Assessoramento Técnico-Científico em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos (CTCAF). Com o objetivo de avaliar a segurança do uso e a eficácia das alegações propostas, essa comissão se baseia em uma série de princípios, com destaque para as evidências científicas da alegação, a avaliação caso a caso, com base em conhecimentos científicos atuais, e o grau de consonância entre a alegação e as Políticas Nacional de Alimentação e Nutrição e de Promoção da Saúde do Ministério da Saúde (BRASIL, 1999; COUTINHO & RECINE, 2007).

Entretanto, para se caracterizar como alimento funcional, cada um deles deve apresentar as seguintes propriedades: a) ser um alimento convencional e ser consumido na dieta normal/usual; b) ser composto por componentes naturais, algumas vezes, em elevada concentração ou presentes em alimentos que normalmente não os supririam; c) ter efeitos positivos além do valor básico nutritivo, o que pode aumentar o bem estar e a saúde e, ou, reduzir o risco de ocorrência de doenças, promovendo benefícios à saúde, além de aumentar a qualidade de vida, incluindo os desempenhos físicos, psicológico e comportamental; d) a alegação da propriedade funcional deve ter embasamento científico; e) pode ser um alimento natural ou um alimento no qual um componente tenha sido reduzido; f) pode ser um alimento em que a natureza de um ou mais componentes tenha sido modificada; g) pode ser um alimento na qual a bioatividade de um ou mais componentes tenha sido modificada (ROBERFROID, 2002).

Todas as avaliações realizadas podem ser reavaliadas, de acordo com a classificação da força da evidência, estabelecida pela organização mundial de saúde (OMS) e a Organização para a Alimentação e Agricultura (FAO). Com base nessa classificação, a lista de alimentos divulgada pela CTCAF está sujeita, periodicamente, a mudanças, em função da publicação de novos estudos, podendo ser inseridos, bem como retirados, da lista, caso novos estudos tornem a evidência insuficiente, inconsistente, provável ou possível (WHO, 2003).

No Brasil, o Ministério da Saúde regulamentou os Alimentos Funcionais, por meio das seguintes resoluções:

a) Resolução da ANVISA/MS 16/99 - trata de Procedimentos para Registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes, cuja característica é de não necessitar de um Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) para registrar um alimento, além de permitir o registro de novos produtos sem histórico de consumo no país e, também, novas formas de comercialização para produtos já consumidos (BRASIL, 1999a);

b) Resolução da ANVISA/MS 17/99 - aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para Avaliação de Risco e Segurança de Alimentos que provam, com base em estudos e evidências científicas, que o produto é seguro sob o ponto de vista do risco à saúde, ou não (BRASIL, 1999b);

c) Resolução ANVISA/MS 18/99 - aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para a Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e, ou, de Saúde, alegadas em rotulagem de alimentos (BRASIL, 1999c);

d) Resolução ANVISA/MS 19/99 - aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e, ou, de Saúde em sua Rotulagem (BRASIL, 1999d).

O registro de um alimento funcional só pode ser realizado após comprovada a alegação de propriedades funcionais ou de saúde, com base no consumo previsto ou recomendado pelo fabricante, na finalidade, condições de uso e valor nutricional, quando for o caso, ou na(s) evidência(s) científica(s): composição química ou caracterização molecular, quando for o caso, e, ou, formulação do produto; ensaios bioquímicos; ensaios nutricionais e, ou, fisiológicos e ou toxicológicos em animais de experimentação; estudos epidemiológicos; ensaios clínicos; evidências abrangentes da literatura científica, organismos internacionais de saúde e legislação internacionalmente reconhecidas sob propriedades e características do produto e comprovação de uso tradicional, observado na população, sem associação de danos à saúde (BRASIL, 1999c; BRASIL 1999d; PIMENTEL, et al., 2005), observando-se que, de acordo com o próprio regulamento da ANVISA, a alegação de propriedades funcionais e ou de saúde é permitida em caráter opcional.

### 1.3.2 Chá de Passiflora

As pesquisas com plantas medicinais envolvem investigação da medicina tradicional e popular, caracterização de princípios ativos, investigação farmacológica de extratos e dos constituintes químicos isolados, estudo da relação estrutura/atividade e dos mecanismos de ação dos princípios ativos e, finalmente, a formulação para a produção de fitoterápicos. Pesquisas realizadas já identificaram mais de 350 mil espécies vegetais, o que permite uma ampla variedade para possíveis usos medicinais. Entre esses estão as espécies que compõe o gênero *Passiflora*, que, apesar do amplo uso popular, são ainda pouco estudadas do ponto de vista científico (SOARES *et al.*, 2011).

Esse gênero, com espécies comerciais e silvestres, vem sendo reconhecido por suas propriedades medicinais, tanto que a eficácia do consumo de folhas, flores, raízes e frutos para combater as mais diferentes enfermidades, principalmente as do Sistema Nervoso Central, vem sendo cientificamente comprovada (DHAWAN *et al.*, 2004).

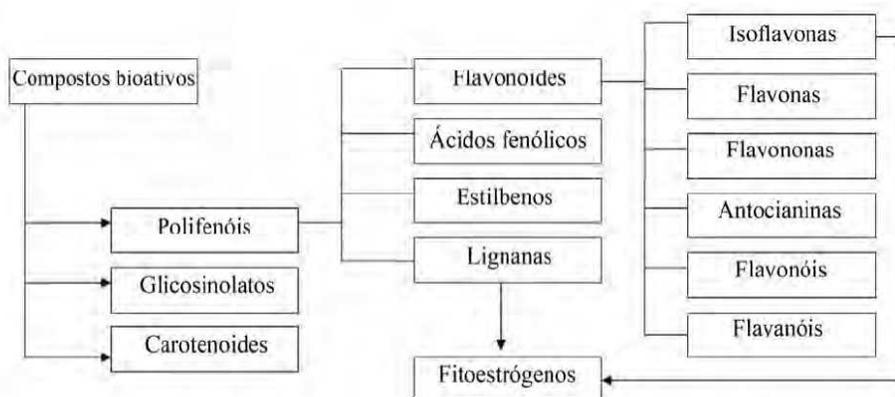
O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Coordenação de Inspeção Vegetal), de acordo com a portaria nº. 544, de 16 de novembro de 1998, define chá como *a bebida obtida pela maceração, infusão ou percolação de folhas e brotos de várias espécies do gênero Thea*. Ainda definido pelo regulamento, podemos denominar chás o(s) vegetal(is) de que deu(ram) origem *a bebida(s) obtida(s) por infusão, maceração ou percolação de folhas, brotos ou de partes de vegetais ou as suas misturas*.

A portaria 519, 26 de junho de 1998, da ANVISA, que dispõe sobre o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade de chás, plantas destinadas à preparação de infusões ou decocções, define chá *como o produto constituído de partes de vegetais, inteiras, fragmentadas ou moídas, obtidos por processos tecnológicos adequados a cada espécie, utilizados exclusivamente na preparação de bebidas alimentícias por infusão ou decocção em água potável, não podendo ter finalidades farmacoterapêuticas*.

### 1.3.3 Classes de compostos fenólicos presentes em alimentos funcionais

Com o objetivo comum de desenvolver a gama de alimentos funcionais, os compostos fenólicos presentes nos alimentos têm atraído tanto a comunidade científica como as indústrias alimentícias. São vários os critérios disponíveis para a classificação de compostos fenólicos; porém, a forma mais simples, didática e mais utilizada é: fenóis simples, fenóis compostos e flavonoides, que se constituem na família mais vasta de compostos fenólicos naturais e estão amplamente distribuídos nos tecidos vegetais. (BRAVO, 1998; BAJAC *et al.*, 1997; EWALD *et al.*, 1999; RIBEIRO & SERAVALLI, 2004).

Em função da existência de um grande número de compostos bioativos, estes podem ser subdivididos em grupos com vários compostos distintos (Figura 2).



**Figura 2** Subdivisão de compostos bioativos presentes em alimentos de origem vegetal (HORST & LAJOLO, 2007).

## 1.4 COMPOSTOS FENÓLICOS

A diversidade estrutural dos compostos fenólicos deve-se à grande variedade de combinações que acontece na natureza, razão por que alguns dos compostos resultantes são chamados de polifenóis. Os compostos fenólicos são formados em condições de estresse, como infecções, fermentos e radiações UV, dentre outros. Também atuam como agente antipatogênico e contribuem na pigmentação da planta. Nos alimentos também são responsáveis pela cor, adstringência e aroma, mas o seu principal efeito tem sido a sua ação antioxidante (ANGELO & JORGE, 2007).

Conforme citado por Pineli (2009), compostos fenólicos de fontes vegetais podem ser divididos em dois grupos: flavonóides e não-flavonóides. A estrutura desses compostos é formada por um ou mais anéis aromáticos, com um ou mais grupos hidroxilas. Essas estruturas englobam uma vasta gama de substâncias, desde moléculas simples (como os ácidos fenólicos com uma única estrutura aromática), bifenois (como ácido elágico), flavonóides, que contém 2 a 3 anéis aromáticos, e polifenóis (como os taninos, que contém de 12 a 16 anéis) (SOARES, 2002).

No grande grupo dos compostos fenólicos, os flavonoides, os ácidos fenólicos e polifenóis (taninos) são os que mais se destacam e são considerados os antioxidantes fenólicos mais comuns de fontes naturais. Essas substâncias apresentam-se amplamente distribuídas no reino vegetal, sendo, portanto, encontradas com facilidade nas frutas e vegetais de maneira geral (KARAKAYA, 2004).

Os flavonoides, cuja síntese não ocorre na espécie humana, apresentam vários efeitos biológicos e farmacológicos, incluindo atividade antibacteriana, antiviral, anti-inflamatória, antialérgica e vasodilatadora. Além disso, essas substâncias inibem a peroxidação lipídica e reduzem os riscos de doenças cardiovasculares, efeitos estes relacionados à sua atividade antioxidante (HOLLMAN *et al.*, 1996). Os ácidos fenólicos são moléculas simples e compreendem os ácidos benzóicos e derivados (hidroxibenzóico, gálico, elágico, entre outros), os quais podem estar presentes na forma solúvel, conjugada com açúcares ou ácidos orgânicos, e os ácidos cinâmicos e derivados (cumárico, caféico, ferúlico, clorogênico, entre outros), que também podem se apresentar na forma conjugada e cujas formas livres resultam de hidrólise química e

enzimática durante a extração do tecido vegetal (PINELI, 2009; PINTO, 2008). Já os taninos são polímeros de alto peso molecular, divididos em duas classes: taninos hidrolisáveis e taninos condensáveis.

#### **1.4.1 Fatores que influenciam os teores de compostos fenólicos nas plantas**

A produção de metabólitos secundários é o resultado de complexas interações entre biossíntese, clima, transporte, estocagem e degradação dessas moléculas; cada um desses processos é governado por genes e, portanto, influenciado por três fatores principais: hereditariedade (cultivar), ontogenia (estádio de desenvolvimento da planta e do fruto) e ambiente (PINELI, 2009).

Esses metabólitos geralmente desempenham internamente diversos papéis na fisiologia da planta, como no crescimento vegetal, na germinação de sementes e nos mecanismos de transdução dos sinais luminosos das plantas. Além disso, estão diretamente relacionados com o sistema de defesa das plantas contra a radiação ultravioleta ou as agressões de insetos ou patógenos. Santos (2007) relata que as rotas dos metabólitos secundários só são ativadas em alguns estágios particulares do desenvolvimento, ou em períodos de estresse, causados por limitações nutricionais ou ataque microbiológico.

A diversidade química e de papéis fisiológicos dos compostos fenólicos leva a crer que possa ocorrer variação na concentração desses compostos, no vegetal, em função das variáveis ambientais (MANACH *et al.*, 2004; MARQUES & FARAH, 2009).

No estudo de Rachwal *et al.* (2000), que avaliou diferentes localidades de plantações de folhas de erva-mate, foram encontradas variações nos teores de polifenóis relacionadas à luminosidade. Foi observada uma correlação positiva para as duas variáveis (luminosidade x compostos bioativos), com os resultados demonstrando diferenças significativas para polifenóis totais nos cultivares de diferentes localidades. Contudo, ainda foi levantada, no próprio estudo, a relevância de que outras variáveis ambientais, além da luminosidade, devem ser consideradas na variação dos compostos fenólicos.

O grau de estresse mecânico, a exposição à luz e a disponibilidade de oxigênio, além de outras variáveis e dos próprios fatores genéticos, podem afetar o metabolismo de síntese e consumo dos antioxidantes fenólicos. Com isso, e em função da importância de vários metabólitos secundários para as áreas farmacêuticas e de alimentos, o estudo de sua biogênese e regulação tem crescido de maneira notável nos últimos anos. Somente por meio desse conhecimento é possível, ao homem, interferir racionalmente sobre o organismo vegetal produtor, de forma a direcionar a síntese de composto de interesse para a saúde (SANTOS, 2007).

Como a maioria dos fitoquímicos bioativos possui capacidade antioxidante, o somatório desses potenciais confere a capacidade antioxidante total. Além disso, os compostos antioxidantes presentes nas frutas e hortaliças podem produzir sinergismo ou inibição entre si (TORRES, 2010). Por isso, torna-se interessante, além de avaliar as moléculas isoladamente, também determinar o potencial antioxidante no contexto mais amplo, ou seja, analisar os extratos totais obtidos dos alimentos de origem vegetal.

#### **1.4.2 Métodos para determinação de compostos fenólicos totais**

Os principais métodos de determinação de fenóis totais em alimentos e bebidas podem consistir em um perfil detalhado, quantificação individual e, ou, de um grupo ou classe de compostos fenólicos, ou apenas na soma do total de fenólicos de uma amostra, utilizando-se diferentes técnicas para cada análise, cromatográficas ou espectrofotométricas, respectivamente (NACZK & SHAHIDI, 2004; ANGELO & JORGE, 2007).

Todavia, o método mais empregado para análise de fenólicos totais em material vegetal é o método de Folin-Denis (FOLIN & DENIS, 1912). O reagente de Folin-Ciocalteu é a mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotúngstico, que, na presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, resulta em um complexo azul em solução alcalina, os chamados molibdênio azul e tungstênio azul, cuja coloração permite a determinação da concentração dos agentes redutores.

Originalmente desenvolvido para análises dos compostos fenólicos em vinhos, o método foi modificado por Singleton & Rossi (1965), visto que antes era sujeito a precipitações que interferiam na leitura colorimétrica. A utilização da técnica foi expandida para outras matrizes alimentícias, demandando, para tanto, o preparo prévio de um extrato, sendo atualmente, um procedimento analítico amplamente utilizado. Todavia, o novo método ainda está sujeito à interferência de alguns antioxidantes, como ácido ascórbico e sulfito, especialmente se estiverem em quantidades elevadas em relação aos teores fenólicos.

### **Considerações sobre preparo de amostras**

O preparo da amostra é uma etapa crítica, especialmente quando os componentes da matriz são biologicamente ativos e os analitos representam um espectro de numerosos componentes (PINELI, 2009).

De acordo com Abe *et al.* (2010), dependendo do método de extração e do solvente utilizado em cada matriz, são observados diferentes resultados para a detecção dos compostos de interesse. A melhor extração é testada com diferentes solventes e concentrações, com a finalidade de se obter um extrato enriquecido de tais compostos e livres de interferentes.

Solventes de diferentes polaridades são comumente utilizados na extração de polifenóis, como água, acetato de etila, misturas aquosas de metanol, etanol e acetona (PINTO, 2008). Sob o ponto de vista químico, não há como selecionar a metodologia mais eficiente para a extração desses compostos, que podem sofrer a influência de diversos fatores. Dentre esses, podem ser citados a natureza do vegetal, o solvente empregado na extração, o tamanho das partículas, o tempo e a temperatura de extração (SHAHIDI & NACZK, 1995).

A natureza química dos compostos fenólicos nos alimentos varia do simples ao altamente polarizado; há grande variedade de compostos bioativos nos vegetais (como os ácidos fenólicos, antocianinas e taninos) e diferentes quantidades presentes, além da possibilidade de interação dos compostos antioxidantes com os demais

componentes do alimento (como carboidratos, proteínas e outros componentes). Por isso, não podemos apontar um único sistema de extração com solventes, que seja eficaz para o isolamento de todos ou de classe específica de antioxidantes naturais (SHAHIDI e NACZK, 1995).

Em geral, metanol extrai açúcares, ácidos orgânicos e fenóis de baixo peso molecular; acetato de etila e éter dietílico extraem fenóis de baixo peso molecular, enquanto acetona é enriquecida com polifenóis poliméricos. Etanol e água são os solventes mais empregados para a extração de antioxidantes, por razão de higiene e de abundância, respectivamente (ANDREO & JORGE, 2007).

Vizzotto & Pereira (2009) sugerem que solventes com alta polaridade, como a água, e solventes com polaridades muito baixas, ou apolares, não são muito bons extratores. A água, como solvente extrator, não foi muito eficiente. Considerada o solvente universal, em combinação com outros solventes orgânicos, contribui para criar um meio moderadamente polar, o que favorece a extração de maior quantidade de polifenóis. No entanto, no trabalho de Ribeiro *et al.* (2009), que avaliou a extração de compostos fenólicos totais e potencial antioxidante, comparando-se a extração aquosa com as extrações hidroalcoólica e alcoólica, constatou-se que a água pura apresentou melhor poder extrator para compostos fenólicos de uvas.

### **1.4.3 Flavonoides**

De acordo com Melo & Guerra (2002), compostos fenólicos de fontes vegetais podem ser divididos em dois grupos: flavonoides e não-flavonoides, ambos metabólitos secundários presentes em frutas e vegetais. Fazendo parte de um grupo de pigmentos vegetais, amplamente distribuídos na natureza, esses compostos desempenham funções de defesa como agente antimicrobiano e proteção contra radiações UV, entre outras, conferindo, assim, capacidade antioxidante.

Os flavonoides são classificados em seis subgrupos principais: flavonas (como exemplo a epigenina e luteolina), flavonóis (quercetina e miricetina), catequinas ou flavonóis (epicatequina e galocatequina), flavanonas (naringenina e hesperitina),

antocianinas (cianina e pelargonina) e isoflavonas (genisteína e daidzeína). Entre esses, os flavonóis glicosídicos predominam em frutas e verduras (VOLP *et al.*, 2008).

Estudos demonstram que a quercetina possui um excelente potencial antioxidante *in vitro*, sendo o flavonoide com maior poder sequestrador de espécies reativas de oxigênio (HUBER & RODRIGUEZ-AMAYA, 2008).

Estudos *in vivo* indicam que uma dieta rica em flavonoides está associada ao baixo índice de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e de certos tipos de câncer, porém, as evidências científicas ainda são consideradas inconclusivas, pois são dificultadas pelos dados limitados da composição de flavonoides nos alimentos (HUBER *et al.*, 2009).

Além disso, os mecanismos precisos pelos quais os flavonoides exercem seus efeitos benéficos à saúde permanecem incertos. No entanto, recentes estudos especulam a improvável atuação apenas pela sua clássica atividade antioxidante, na explicação dos efeitos celulares. Essas evidências baseiam-se, primariamente, em estudos que mostram que os flavonoides são extensamente metabolizados *in vivo*, resultando em significantes alterações no seu potencial redox. Estudos mostram que as formas bioativas dos flavonoides não são aquelas encontradas nas plantas, como por exemplo, os glicosídeos ou agliconas, mas sim metabólitos e formas conjugadas desses compostos, absorvidos no intestino (HUBER & RODRIGUEZ-AMAYA, 2008).

#### **1.4.3.1 Métodos para a quantificação de Flavonoides**

A quantificação bruta dos componentes puros ou misturas é possível, utilizando-se técnicas colorimétricas e, ou, espectrofotométricas do UV/visível. Nos casos em que os componentes de uma mistura são do mesmo tipo, por exemplo, todos os componentes são antocianinas ou flavonóis, esses métodos podem fornecer resultados razoáveis empregando-se curvas padronizadas com flavonoides comercialmente disponíveis (WOLLGAST & ANKLAM, 2000; MARKHAM & BLOOR, 1998).

Técnicas cromatográficas instrumentais, tais como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a cromatografia de camada delgada de alta eficiência

(CCDAE), são importantes ferramentas para a identificação de material vegetal de espécies de *Passiflora*, por meio do uso de flavonoides como marcadores (PEREIRA *et al.*, 2004). A CLAE também demonstrou ser uma opção eficiente para a análise quantitativa de flavonoides de *Passiflora* (PEREIRA *et al.*, 2004). No entanto, documentos oficiais, como as Farmacopéias Francesa, Européia e Brasileira ainda adotam a espectrometria UV-Visível como método de escolha para a análise quantitativa de flavonoides em material vegetal. Para o trabalho de rotina, as técnicas espectrométricas apresentam importantes vantagens em comparação com a CLAE, tais como o menor custo e a simplicidade operacional.

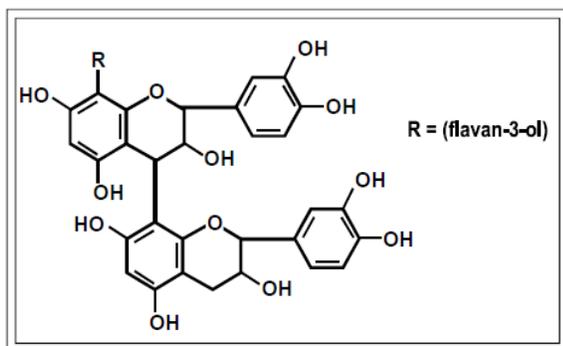
#### 1.4.3.2 Taninos

Os taninos ocorrem em ampla variedade de vegetais, podendo ser encontrados nas raízes, cascas, folhas, frutos, sementes e seiva. Eles pertencem a um grupo de compostos fenólicos e são definidos como polímeros fenólicos solúveis em água, que precipitam proteínas. Segundo a sua estrutura química, são classificados em taninos hidrolisáveis, que compreendem polímeros de ácido gálico ou elágico, e os taninos condensáveis, polímeros de catequina ou epicatequina (SOUSA *et al.*, 2007; OSZMIANSKI *et al.*, 2007; BALASUNDRAM *et al.*, 2006).

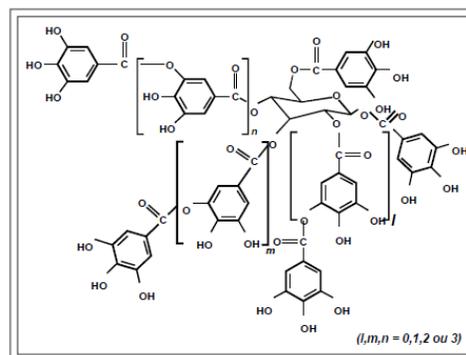
Os taninos hidrolisáveis são constituídos de mistura de fenóis simples, tais como os ésteres de ácidos elágico e pirogalol e também ésteres de ácidos gálico ou digálico, com açúcares, como a glicose. São chamados de hidrolisáveis, pois são unidos por éster-carboxila, sendo prontamente hidrolisados em condições ácidas ou básicas (BATTESTIN *et al.*, 2004). A Figura 3 mostra a estrutura química do ácido tânico (tanino hidrolisável).

Os taninos condensáveis, também conhecidos como proantocianidinas, são polímeros dos flavonóides, formados predominantemente por unidades de flava-3-ol, como a catequina, ou flavan-3,4-diol, como a leucoanto-cianidina (BALASUNDRAM *et al.*, 2006; PINELI, 2009; MONTEIRO *et al.*, 2005). Essa classe de taninos é resistente à hidrólise, mas eles podem ser solúveis em solventes orgânicos aquosos, dependendo

de sua estrutura. Estão presentes, em maior quantidade, em alimentos normalmente consumidos, sendo também responsáveis pela adstringência de frutas, sucos e vinhos, e, em muitos casos, são compostos bioativos em plantas medicinais. A Figura 4 ilustra a estrutura química dos taninos condensados (BATTESTIN *et al.*, 2004).



**Figura 4** Estrutura química de tanino condensado



**Figura 3** Estrutura química de tanino hidrolisável

Em ecossistemas limitados por nutrientes, concentrações de polifenóis podem variar nos teores e na composição química, de acordo com as condições climáticas e geográficas, além da variação entre as espécies, cultivares e estágios de desenvolvimento, como dito anteriormente, esse fatores também influenciam na quantidade e no tipo de tanino sintetizado pelas plantas (NOZELLA, 2001). Esse conteúdo pode sofrer alterações não somente de um vegetal para outro, como, também, de uma parte para outra de um mesmo vegetal, conforme mostrado na Tabela 1, no trabalho de Santos (2000).

**Tabela 1** Teor de taninos totais em algumas espécies vegetais.

Produtos	Teor de tanino	Referência
Abacaxi		
{ Folha	0,81 %	Santos et al., 2001
{ Caule	0,61 %	Santos et al., 2001
Sorgo	0,60 – 2,61 %	Rodrigues, 1991
Mandioca	0,62 – 1,11 %	Carvalho et al., 1993
Cajú	0,35 – 0,72 %	Embrapa 1992
Café (casca)	1,31 – 2,97 %	Filho et al., 2000

Do ponto de vista nutricional, os taninos fazem parte de um grupo de substâncias denominado ácidos fílicos ou fitatos. São fatores antinutricionais que inibem as enzimas digestivas e podem interferir, diminuindo ou impedindo o aproveitamento de nutrientes, sejam eles, proteínas, vitaminas ou minerais (SANO & ALMEIDA, 1998; MUELLER-HARVERY, 2001).

As catequinas e as leucoantocianinas, comumente denominadas taninos, são responsáveis, em grande parte, pelo sabor adstringente de muitos frutos e produtos vegetais. A precipitação de glucoproteínas salivares ocasiona a perda de poder lubrificante (MONTEIRO *et al.*, 2005), o que reflete no sabor e, conseqüentemente, na aceitação do produto.

Alguns estudos que relacionam os teores de taninos e a percepção do sabor nos alimentos verificam que essas substâncias influem na aceitação do produto. No estudo de Lima *et al.*, (2001), após o tratamento enzimático para a redução das antocianidinas (os taninos condensados que, sob hidrólise ácida, produzem antocianidinas), em pó de cacau fermentado, foi possível verificar uma diminuição da característica de adstringência. Essa diminuição foi levantada por alguns provadores, durante a análise sensorial realizada com o produto tratado enzimaticamente. Em outro estudo, com pedúnculos de caju, em um dos clones analisados, verificou-se um elevado teor de taninos, apontado como um dos fatores que justificaram a baixa aceitação para o consumo *in natura* (AGOSTINI-COSTA *et al.*, 2004).

#### **1.4.3.3 Métodos para a quantificação de Taninos**

Por causa da complexidade dos taninos, vários métodos analíticos têm sido desenvolvidos para sua quantificação; porém, nenhum deles, ainda, é satisfatório. A grande dificuldade dessas análises e suas interpretações ocorre porque a maioria dos métodos mede taninos, não em termos absolutos, mas em relação a padrões, por exemplo, ácido tânico, ácido gálico ou catequina. A extração dos taninos dos tecidos vegetais é difícil, porque eles podem estar ligados a carboidratos, proteínas, parede celular, ou são insolúveis (NOZELLA, 2001; SCHOFIELD & PELL, 2001). Por isso, as

preparações das amostras têm grande influência na determinação de taninos e na relação com os polifenóis das plantas.

Os taninos vegetais têm sido quantificados por diversos tipos de ensaios, como precipitação de metais ou proteínas, e por métodos colorimétricos, sendo esses últimos mais comuns. Entre os métodos colorimétricos, o método de Folin-Denis é bem reconhecido e largamente usado, mas não faz distinção entre compostos fenólicos e outros materiais redutores ou antioxidantes.

Para quantificar os taninos condensados os métodos mais utilizados são o butanol-HCl e o vanilina. De acordo com Schofield & Pell (2001), o método vanilina depende da reação da vanilina com os taninos condensados para a formação de complexos coloridos.

#### **1.4.4 Açúcares solúveis totais**

Os monossacarídeos, glicose e frutose são açúcares redutores que possuem grupo carbonílico e cetônico livres, capazes de se oxidarem na presença de agentes oxidantes em soluções alcalinas. Já os dissacarídeos, que não possuem essa característica sem sofrerem hidrólise da ligação glicosídica, são denominados de açúcares não redutores. Os açúcares redutores e não redutores formam o que chamamos de açúcares totais.

A retirada de água de um produto promove a concentração de açúcares naturais, o que, de acordo com Jesus *et al.* (2005), além de aumentar a concentração de sólidos solúveis totais, ainda aumenta a doçura do produto. No estudo que quantificou os teores de açúcares totais em cafés torrados, foi visto que, durante a torração, a sacarose tende a se degradar, principalmente com o aumento do grau de torração, chegando a desaparecer, dependendo da severidade do processo; porém, ainda assim, os cafés com maiores teores de açúcares totais são desejáveis, pois é um atributo que contribui para uma bebida mais bem aceita (FERNANDES *et al.* 2000).

De acordo com o método de fenol-sulfúrico para a dosagem dos açúcares totais, que preconiza o uso de meio fortemente ácido e fundamenta-se no fato de açúcares simples ou complexos e seus derivados, incluindo metil ésteres com grupos redutores

livres ou potencialmente livres, quando tratados com fenol e ácido sulfúrico concentrado, darem coloração amarelo-alaranjado, com uma reação visível e coloração estável (DEMIATE *et al.*, 2002).

## **1.5 POTENCIAL ANTIOXIDANTE**

### **1.5.1 Potencial antioxidante dos compostos fenólicos**

O potencial antioxidante de um composto é determinado por sua reatividade como um doador de elétrons ou de hidrogênio, sua capacidade de deslocar ou estabilizar um elétron desemparelhado, sua reatividade com outro antioxidante e reatividade com oxigênio molecular. Um dos efeitos fisiológicos da ação de compostos antioxidantes seria sua atuação como anticancerígenos e antimutagênicos, sempre considerando-se que esses problemas ocorram por ação de radicais livres (MORAES & COLLA, 2006).

Os antioxidantes podem ser classificados como primários e secundários. Os primários atuam interrompendo a cadeia da reação, por meio da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos termicamente estáveis, ou reagindo com os radicais livres, formando o complexo lipídeo-antioxidante, que pode reagir com outro radical livre. Os antioxidantes secundários atuam retardando a etapa de iniciação de autoxidação, por diferentes mecanismos, que incluem complexação de metais, sequestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radical e na absorção da radiação UV ou desativação de oxigênio *singlete*, molécula extremamente reativa (ANGELO & JORGE, 2007).

Uma das funções de certos compostos alimentares é a de remover radicais livres e espécies reativas do oxigênio, nitrogênio e cloro, conhecidamente tóxicos para as células. Esses elementos tóxicos são liberados na respiração mitocondrial, durante atividades normais. Porém, exercícios físicos em excesso e diversos estados fisiopatológicos (infecções, doenças cardiovasculares, cânceres, diabetes e estresse) geram aumento da produção dos radicais livres e suas reações têm como consequências: deterioração de lipídeos, aterosclerose e doenças cardiovasculares,

diabetes, perdas de nutrientes e morte celular, entre outras (BRAGA & BARLETA, 2007).

### 1.5.2 Métodos para avaliação do potencial antioxidante dos alimentos *in vitro*

A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante tanto na neutralização como no sequestro de radicais livres, e ainda na quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação, como na propagação do processo oxidativo (NANTITANON *et al.*, 2010).

Para a avaliação do potencial antioxidante, *in vitro*, de alimentos e bebidas de origem vegetal, são utilizados diversos métodos. Não se pode definir um método específico que consiga avaliar satisfatoriamente a atividade total de uma amostra, pois existem diversos métodos (VEDANA *et al.*, 2009), como o sequestro de radicais, a habilidade redutora, a complexação de íons metálicos, entre outros. Com isso, os diferentes métodos produzem resultados diferentes ou mesmo contraditórios, que impossibilitam qualquer comparação entre eles.

De acordo com Pineli (2009), os métodos empregados para análise *in vitro* podem ser baseados na captura do radical peroxila (*Oxygen Radical Absorbancy Capacity* – Capacidade de absorvância do radical oxigênio – ORAC); *Total Radical Trapping Antioxidant Parameter* – Parâmetro antioxidante relacionado à captura total de radicais – TRAP; poder de redução do metal - *Ferric-Reducing Antioxidant Power* – Habilidade antioxidante de reduzir o sal férrico – FRAP; *Cupric-Reducing Antioxidant Power* - Habilidade antioxidante de reduzir o sal cúprico – CUPRAC; Captura do radical hidroxila (método de desoxirribose); captura do radical orgânico (2,2-Azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato, sal de diamônio – ABST ou 2,2-difenil-1-picrilhidrazil – DPPH), ou quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídeos (*Thiobarbituric Reactive Substances* – Substâncias Reativas do Ácido Tiobárbiturico – TBARS, oxidação do LDL ou co-oxidação do betacaroteno/ácido linoléico). E entre estes métodos, FRAP e DPPH estão entre os mais utilizados para avaliação de frutas e hortaliças.

### 1.5.2.1 DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

Dentre os vários métodos utilizados para determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas, um dos mais usados consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazida (DPPH).

Para avaliação da atividade antioxidante, os extratos e produtos elaborados irão reagir com o radical livre DPPH. De acordo com a metodologia descrita por Brand-Willians *et al.* (1995), o grau de descoloração do radical DPPH, de coloração púrpura, após receber um elétron de um composto fenólico, é medido espectrofotometricamente a 517nm, em uma solução metanólica, até a absorbância permanecer constante e indicar a eficiência do antioxidante adicionado.

A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) correspondente à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (EC50), também chamada de concentração inibitória (IC50). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua EC50 e maior a sua atividade antioxidante.

### 1.5.2.2 FRAP (Ferric-reducing Antioxidant Power)

Esse método testa a força antioxidante do extrato, por meio da avaliação da redução do complexo ferritripiridiltriazina ( $\text{Fe}^{3+}$ - TPTZ)[2,4,6- tri(2-piridil)- 1,3,5-triazina,  $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_6$ , M.M 312,33 g/mol] a ferroso-tripiridiltriazina ( $\text{Fe}^{2+}$ - TPTZ), por redutores, em baixo pH. Baseia-se no fato de que a habilidade de um composto em produzir  $\text{Fe}^{2+}$  a partir de  $\text{Fe}^{3+}$  define sua força antioxidante (PINELI, 2009).

De acordo com Benzie & Strain (1996) e Pulido *et al.* (2000), a limitação do método reside no fato de que nem todo redutor que é hábil para reduzir  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$  é antioxidante. O complexo  $\text{Fe}^{3+}$ - TPTZ tem uma cor azul intensa e pode ser monitorado a 583nm, em espectrofotômetro.

Thaipong *et al.* (2006) analisaram a atividade antioxidante total de extratos obtidos de frutos de goiaba, pelos métodos DPPH, ABTS, FRAP e ORAC, e verificaram que DPPH e FRAP não mostraram diferenças entre as determinações, enquanto os ensaios de ABTS e ORAC se diferenciaram significativamente entre os extratos. Verificaram, também, que o FRAP foi a técnica com maior reprodutibilidade e que apresentou maior correlação entre os teores de ácido ascórbico e de grupos fenólicos.

## 1.6 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial foi definida, em 1975, pela Divisão de Avaliação Sensorial do *Institute of Food Technologists*, da seguinte forma: “Avaliação sensorial é uma disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações às características de alimentos e materiais, percebidas pelos sentidos da visão, olfato, paladar, tato e audição” (STONE & SIDEL, 1993).

A análise sensorial dos alimentos deixou de ser uma atividade secundária em estudos científicos e passou a ser uma ferramenta básica para aplicação nas indústrias de alimentos. Essa análise, segundo Minim (2006), é uma ciência que objetiva estudar as percepções, sensações e reações do consumidor, utilizando seus sentidos, em relação às características do produto, incluindo sua aceitação ou rejeição. Sendo considerada, portanto, uma ferramenta insubstituível na avaliação da aceitação e do perfil de aparência, aroma, sabor e textura de alimentos e bebidas.

De acordo com a literatura, a sequência de avaliação de um alimento pelo ser humano ocorre da seguinte forma: em primeiro lugar a aparência, depois o aroma, o sabor e a textura. Apesar disso, no processo global de percepção, os atributos se sobrepõem, uma vez que todas as impressões surgem quase simultaneamente e só o treinamento tornará as pessoas capacitadas a avaliá-los de maneira isolada (MEILGAARD *et al.*, 1999).

Assim, a análise sensorial constitui uma importante ferramenta em todas as etapas de desenvolvimento de um produto, desde sua composição até a avaliação da qualidade final. Segundo Caporale *et al.* (2005), estudar as relações entre os atributos

sensoriais e a aceitação de um produto pode ser muito útil para estabelecer sua formulação ou aperfeiçoamento.

Diferentes métodos podem ser usados na análise sensorial, dependendo do objetivo do teste, e podem ser divididos em três classes: discriminativos, descritivos e afetivos. Normalmente, em um estudo sobre o perfil sensorial de algum produto, os três métodos são realizados, um complementando o outro.

### **1.6.1 Grupo focal**

O grupo focal é um dos métodos descritivo bastante importante para o levantamento de informações relevantes de determinado produto. Essa técnica consiste em uma discussão informal, com o objetivo de obter informações de caráter qualitativo, em profundidade, sobre um determinado tema (LEE & LEE, 2007).

O número de participantes pode variar entre as pesquisas, indo de 3 a 8 (STEWART *et al.* 1994), 8 a 12 (CHALOFISKY, 1999) e 6 a 8 (CASEY & KRUEGER, 2000). A utilização de mini-grupo focal, constituído de 4 a 6 participantes, tem ganhado popularidade nos últimos anos, porque é mais fácil de recrutar e, também, um grupo menor proporciona um ambiente mais confortável para compartilhar os pontos de vista (CASEY & KRUEGER, 2000). O grupo é conduzido por um facilitador, que o lidera e conduz o debate, com o auxílio de uma série de perguntas anteriormente formuladas sobre o assunto. As respostas são anotadas com prévia autorização dos participantes, com o objetivo de identificar, por exemplo, os fatores mais importantes da escolha do consumidor para um determinado produto (VAN KLEEF *et al.*, 2005). Grande parte das pesquisas realizadas para o desenvolvimento de novos produtos se baseia nas análises dos produtos, por grupos focais.

Como vantagens, essa técnica provê informações difíceis de serem obtidas por outros métodos, uma vez que sua dinâmica encoraja os participantes a mostrar suas atitudes. Os participantes respondem as questões com suas próprias palavras, o que garante uma maior liberdade de expressão (NGAPO *et al.*, 2003).

### 1.6.2 Análise Descritiva (Perfil Livre)

Os métodos descritivos têm como objetivo descrever as propriedades sensoriais dos produtos e medir a intensidade percebida dessas propriedades. Nesse método, a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) e o Perfil Livre se destacam, por proporcionarem uma descrição completa das propriedades sensoriais de um produto. Seus resultados podem ser úteis para o estabelecimento de controle de qualidade eficiente, para formular ou aperfeiçoar produtos, assim como para avaliar potenciais oportunidades de mercado (VERRUMA-BERNARDI & DAMÁSIO, 2004).

Esses métodos são cada vez mais utilizados, e apropriados, quando se requerem informações detalhadas sobre os atributos de um produto, a exemplo das seguintes situações: documentação das características sensoriais, identificação e quantificação dos atributos sensoriais para orientação de uma pesquisa, manutenção de um produto ou comparação entre produtos similares, correlação entre medidas instrumentais e determinações químicas com respostas sensoriais, monitoramento da qualidade, definição de um padrão ou referência para controle de qualidade ou desenvolvimento de novos produtos, acompanhamento das alterações sensoriais de um produto durante a estocagem, interpretação de testes com consumidores e acompanhamento de alterações na percepção sensorial de um determinado atributo (MEILGAARD *et al.*, 1999, DAMÁSIO & COSTEL (1991).

O Perfil Livre é uma técnica desenvolvida nos anos 80 por Williams & Langron (1984), que propuseram como uma alternativa às técnicas de análise descritivas tradicionais, como Perfil de Sabor® (CAIRNCROSS & SJÖSTRÖM, 1950), Perfil de textura® (BRANDT *et al.*, 1963), ADQ® (STONE *et al.*, 1974) e método Spectrum® (MEILGAARD *et al.*, 1999), as quais apresentam certas desvantagens, como a necessidade de grande número de sessões de treinamento, pois para essas análises é importante a formação de uma equipe sensorial que avalie o produto utilizando uma linguagem descritiva consensual. Porém, mesmo com a padronização dos termos, os provadores apresentam muitas diferenças na percepção e na forma de descrever os alimentos, ocorrendo, com muita frequência, discordância entre os membros da equipe.

Com isso, a técnica do Perfil Livre assume que os provadores não diferem na forma de perceber as características sensoriais, mas na forma de descrevê-las, e, por isso, permite diminuir ou até eliminar as sessões de treinamento. A exigência com os provadores é que eles sejam objetivos e capazes de usar escalas de intensidade e desenvolver seu próprio vocabulário sobre as percepções sensoriais e, também, usar escalas apropriadas.

MacFIE (1990) relata que a técnica do Perfil Livre apresenta no início um procedimento similar ao do método convencional (ADQ), com as amostras sendo apresentadas à equipe e o provador sendo solicitado a desenvolver sua própria lista de descritores e, posteriormente, as definições. Muitas vezes, pode ocorrer que alguns termos sejam idênticos para os provadores, mas podem ter significado completamente diferente. Sendo assim, uma das vantagens do Perfil Livre é exatamente a não obrigatoriedade de uma linguagem consensual, ou seja, cada provador quantifica os descritores utilizando escalas de forma individualizada, livre e espontânea, sem a necessidade de um consenso com a equipe e, portanto, sem a necessidade de treinamento dos provadores com referências de intensidade.

Alguns pesquisadores tem utilizado o Perfil Livre associado a teste de aceitação, com o objetivo de entender como os consumidores discriminam as similaridades ou diferenças entre os produtos que competem em um mesmo mercado consumidor (MARETI *et al.*, 2010; DELAHUNTY *et al.* 1997; FREITAS, 2009), pois o sucesso de um alimento no mercado depende de seu desempenho junto ao consumidor; por isso, é importante conhecer a extensão do que o consumidor gosta ou desgosta no produto.

### **1.6.3 Testes afetivos (Análise de Aceitação)**

Os métodos afetivos ou testes de aceitação geralmente vêm em sequência aos testes descritivos, e são usados com o objetivo de avaliar se os consumidores gostam ou desgostam do produto, em função das características sensoriais (MINIM, 2006). Com a aplicação da análise de aceitação, é possível transformar dados subjetivos em objetivos, e obter informações importantes sobre a intensidade na qual as pessoas gostam ou não de um determinado produto.

Os testes afetivos podem ser de preferência e de aceitação (STONE & SIDEL, 1993). O termo “preferência” é construído como uma dimensão comportamental e representa a escolha de uma amostra em detrimento de outra. Já o termo “aceitação” é reservado para as escalas afetivas de alimentos que estão sendo testados (CAPORALE *et al.*, 2005; STONE & SIDEL, 1993).

Em geral, os testes afetivos ou testes de consumidores são aplicados tendo em vista quatro objetivos básicos: verificação do posicionamento do produto no mercado, otimização da utilização do produto, desenvolvimento de novos produtos e avaliação do potencial do mercado (MEILGAARD *et al.*, 1999). Esses testes devem ser feitos com provadores não treinados, consumidores habituais ou potenciais do produto em questão.

Porem, não há dúvidas de que a relação entre o consumidor e a escolha, inclusive a aceitação de um produto, seja um fenômeno bastante complexo. A atitude do consumidor frente a um produto é influenciada por vários fatores e pela interação entre esses fatores, os quais são relacionados à psicologia que envolve o consumidor, ao aspecto sensorial do produto e ao *marketing* relacionado a ele (GUERREIRO *et al.*, 2000). Por isso, a aplicação de um questionário demográfico e atitudinal do consumidor pode explicar muito sobre a sua preferência ou aceitação por um determinado produto.

Prescott *et al.* (2002), a respeito da relação entre o alimento e o consumidor, citam uma série de fatores que têm sido considerados de extrema importância no processo de compra e aceitação do produto, entre eles, a relação do alimento com a saúde do consumidor e o conteúdo do alimentos em substâncias naturais e as características sensoriais do produto.

## **1.6.4 Análises estatísticas de dados sensoriais**

### **1.6.4.1 Análise Procrustes Generalizada**

Os resultados gerados pelo Perfil Livre são avaliados por meio da Análise Procrustes Generalizada (*Generalised Procrustes Analysis*), uma técnica desenvolvida por Gower (1975) e utilizada pela primeira vez na Análise Sensorial de Alimentos por

Banfiel & Harlies (1975). Somente por meio dessa técnica estatística é possível analisar os dados obtidos com a aplicação do Perfil Livre.

A Análise Procrustes Generalizada (GPA) pertence a classe de métodos que analisam comportamentos multivariados de indivíduos, e contrasta esse comportamento com um comportamento médio. Essa técnica é dividida em duas etapas: primeiramente os resultados são analisados individualmente para cada provador, quando se pode identificar se os provadores foram consensuais em julgar as amostras e, posteriormente, em uma segunda etapa, as configurações individuais de cada provador são agrupadas e comparadas.

Em uma segunda etapa, com o objetivo de definir o melhor ajuste entre duas matrizes, são realizadas as transformações geométricas: translação (que corrige variações na avaliação das intensidades dos atributos); auto-escalamento (que corrige variação associada ao uso de diferentes amplitudes); rotação (que corrige as diferentes interpretações dos termos) (RUA, 2003).

A aplicação da GPA ao Perfil Livre considera que os resultados de cada provador são coordenados num plano multidimensional. Estes então são transformados de modo a eliminar as fontes de variação (usos das diferentes partes da escala, diferentes interpretações dos termos descritivos e diferentes intervalos de valores). As outras fontes de variações, como percepção de diferentes estímulos e variações entre as sessões não podem ser evitadas, porém os resultados da GPA permitem detectar os provadores que apresentem problemas de diferenças na percepção e na falta de repetibilidade, esses problemas recebem o nome de variação residual dos provadores. Dessa forma, se um determinado provador apresenta problemas críticos, seus dados podem ser eliminados para a realização de uma nova GPA com os dados restantes (STONE & SIDEL, 1993).

São descritos, em alguns estudos, a variação residual dos provadores, que indica a diferença de cada individuo em relação a equipe. No estudo de Benassi *et al.* (1998) e Verruma-Bernardi & Damásio (2004), a configuração dos provadores indicou, respectivamente, que três e um deles estavam bastante afastados dos outros, o que

implicaria em discordância com a equipe, então, optou-se por desconsiderar os resultados desses provadores.

#### **1.6.4.2 Análise de Variância (ANOVA)**

Os dados obtidos em um teste de aceitação em que se utiliza escala hedônica são submetidos à ANOVA, seguida de outro procedimento estatístico, o teste de médias de Tukey, que verifica se há diferença significativa entre as médias, em um determinado nível de confiança, que é normalmente 95% (STONE & SIDEL, 1993; MEILGAARD *et al.*, 1999).

#### **1.6.4.3 Mapa de preferência**

Mapeamento de preferência é a metodologia mais utilizada em pesquisas com o consumidor. Utilizada para relacionar os dados de aceitação aos dados descritivos dos produtos, o mapa de preferência tem como objetivo entender quais as características intrínsecas do produto que direcionam a aceitação entre os consumidores. Basicamente, há três tipos de mapas de preferência: interno, estendido e externo (DE MELO, 2008). Quando associado a uma análise descritiva sensorial, como a ADQ ou o Perfil Livre, permite ao departamento de pesquisa e desenvolvimento conhecer e adequar as propriedades sensoriais dos produtos, em direção à expectativa dos consumidores pertencentes a um mercado alvo previamente estabelecido (MacFIE, 2007), assim como, quando associados às propriedades instrumentais dos alimentos, podem, da mesma forma, direcionar tais características do produto e a aceitação do consumidor.

Aliando-se à análise de variância (ANOVA) e ao teste de médias, o Mapa de Preferência pode explicar as preferências dos consumidores de forma mais abrangente e com informações mais detalhadas (FRATA, 2006).

O mapa de preferência interno usa apenas dados de consumo para determinar os padrões de aceitabilidade dos consumidores. Esse mapa pode ser gerado por meio de Análise de Componentes Principais (ACP) e por Escala Multidimensional (EM). A

ACP é gerada com dados de aceitação, tendo como observações os produtos e como variáveis os consumidores, e pode conter duas ou três dimensões referentes às observações e às variáveis (XLSTAT, 1995).

O mapa de preferência por EM baseia-se num modelo vetorial e apresenta uma matriz com os dados de aceitação de um grupo de consumidores, sobre um mesmo conjunto de amostras. O conjunto dos pontos que representam as amostras é exibido em um espaço multidimensional e cada indivíduo é representado por um vetor nesse espaço, que mostra a direção individual de cada provador (MacFIE & TOMPSON, 1988). A direção de cada vetor representa a direção do aumento pessoal de preferência para o consumidor, conseqüentemente, as amostras menos apreciadas são projetadas mais longe do provador.

No mapa de preferência estendido, os coeficientes de correlação da ACP são representados juntamente com os descritores sensoriais ou instrumentais.

Por outro lado, o mapa de preferência externo realiza uma regressão entre os dados de aceitação e as informações sensoriais descritivas do produto e, ou, dados instrumentais. Na análise dos dados do Mapa de Preferência Externo são utilizadas técnicas similares às do Mapa de Preferência Interno, sendo a análise, também, por meio da ACP (FRATA, 2006).

O mapa relaciona os dados de aceitação de cada consumidor com o espaço amostral descritivo (ACP), constituído a partir dos dados resultantes de uma análise descritiva e, ou, instrumental. (MARTÍNEZ *et al.*, 2002; ARES *et al.* 2006). Os resultados de aceitação podem, simplesmente, ser regredidos contra os dados descritivos/instrumentais, empregando-se diferentes modelos (vetorial, elíptico, circular e quadrático).

Pela aplicação do método do Mapa de Preferência Externo, as notas que foram dadas aos produtos são modeladas para cada consumidor ou grupo de consumidores (clusters), utilizando-se como variáveis as características dos produtos, com o objetivo da representação desse grupo de consumidores no espaço sensorial gerado pelo mapa. O mapa utiliza quatro sub-modelos (XLSTAT, 2011):

1) Modelo vetor: permite mostrar as observações no espaço sensorial na forma de vetores. A preferência do consumidor aumenta quanto mais se for em direção ao vetor.

2) Modelo do ponto ideal circular: corresponde a uma “hipersuperfície hiperquadrática”. Se a superfície possui um máximo em termos de preferência pode-se dizer que é o ponto ideal. Com o modelo circular é possível traçar linhas de “isopreferência” ao redor do ponto ideal.

3) Modelo do ponto ideal elíptico: corresponde a uma “hipersuperfície hiperquadrática”. Porém, nesse caso, são elipses que fazem a interpretação das distâncias dos produtos em relação ao ponto ideal.

4) Modelo da superfície quadrática: corresponde ao modelo completo, cuja forma é uma “hipersuperfície”.

Normalmente, utilizam-se o modelo do vetor, o modelo do ponto ideal circular e o modelo do ponto ideal elíptico, examina-se a variância explicada por cada modelo e avalia-se o número de indivíduos que demonstram o ajuste satisfatório (MacFIE & THOMSON, 1888).

## **CAPITULO 2 – HIPÓTESES, OBJETIVOS, MATERIAL E MÉTODOS DE PESQUISA**

### **2.1 HIPÓTESE DA PESQUISA**

Como hipótese de pesquisa, assume-se que chás elaborados com diferentes espécies e variedades de passifloras apresentam diferentes características químicas e sensoriais, as quais têm influência na sua aplicação como fonte de antioxidantes e na sua aceitabilidade.

### **2.2 OBJETIVOS**

#### **2.2.1 Objetivo geral**

O objetivo deste trabalho foi caracterizar as propriedades antioxidantes e sensoriais de chás de passifloras do Cerrado, em comparação com as do chá verde (*Camellia sinensis*).

#### **2.2.2 Objetivos específicos**

- Determinar a atividade antioxidante de compostos bioativos dos extratos e chás de folhas de passifloras e de chá verde;
- Quantificar os compostos fenólicos totais dos extratos e chás de folhas de passifloras e de chá verde;
- Quantificar os taninos nos extratos e chás de folhas de passifloras e de chá verde;
- Quantificar os flavonoides nos extratos e chás de folhas de passifloras e de chá verde;
- Quantificar os açúcares totais dos chás de folhas de passifloras e de chá verde;
- Determinar o perfil sensorial, de acordo com a Técnica de Perfil Livre, dos chás de folhas de passifloras e de chá verde;

- Determinar a aceitabilidade dos chás de folhas de passifloras e de chá verde e correlacioná-la com o perfil demográfico e a atitude dos consumidores quanto à saúde;
- Correlacionar a aceitabilidade com a caracterização química dos chás de folhas de passifloras e de chá verde.

## **2.3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.3.1 Matéria Prima**

Os chás e extratos foram preparados com folhas secas de sete tipos de passifloras, sendo quatro espécies silvestres (*P. alata*, *P. tenuifila*, *P. nitida* e *P. setacea*) e três cultivares híbridos de maracujazeiro-azedo, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa (*P. edulis* cv. BRS Ouro Vermelho, *P. edulis* cv. BRS Gigante Amarelo e *P. edulis* cv. BRS Sol do Cerrado) e, ainda, como referência, foram incluídas no experimento amostras comerciais de chá verde (*Camellia sinensis*) e de *Passiflora ssp.* (parte útil: talo e folha – Laboratório SANTOSFLORA), ambas compradas em farmácia.

### **2.3.2 Métodos**

#### **2.3.2.1 Obtenção das folhas, higienização e desidratação**

As folhas de todas as passifloras avaliadas foram coletadas nas áreas experimentais da Embrapa Cerrados localizadas, em Planaltina-DF. Foram colhidos aproximadamente dois quilos de folhas expandidas e adultas, entre dezembro de 2010 e abril de 2011 (Figura 5).



**Figura 5** Colheita das folhas de passifloras do Cerrado. Planaltina –DF, dezembro de 2010.

Depois de colhidas, as folhas foram encaminhadas ao Laboratório de Análises dos Alimentos, na própria Embrapa Cerrados, onde passaram por um processo de higienização. As folhas foram pré-lavadas em água corrente, para a retirada do excesso de terra e sujeira, logo após imersas no desinfetante SANIVET® (desinfetante para hortifrutículas), a base de hipoclorito de sódio, em uma concentração de 200 ppm, durante dez minutos, de acordo com as recomendações do fabricante, e lavadas para a eliminação dos resíduos do produto (Figura 6a). Após esse tratamento, as folhas, reservadas em sacos de papel, foram encaminhadas para a desidratação, em estufa de circulação de ar forçada, a 60°C, por cinco dias (Figura 6b) até se obter peso constante. Logo após, passaram por uma etapa de trituração e tamisação, para homogeneização da amostra (Figura 6c). Foram acondicionadas em sacos plásticos selados e armazenados em uma caixa de isopor (Figura 6d), em temperatura ambiente, até o momento do preparo dos extratos e das infusões. Tanto as análises químicas, como as sensoriais foram conduzidas imediatamente após a fabricação das infusões; já os extratos foram preparados e armazenados a temperatura de -18°C, até o momento das análises.



**Figura 6** Processamento das folhas de passiflora: (a) sanitização; (b) desidratação; (c) tamisação; (d) armazenamento

### 2.3.3 Amostra

#### 2.3.3.1 Preparo das infusões

As infusões foram preparadas na forma caseira, numa proporção de 5g de folha seca para cada 1 litro de água (concentração previamente estabelecida por um grupo focal). Colocou-se na panela 1 litro de água para aquecer, com tampa fechada, até atingir uma temperatura de 94°C, aproximadamente (pouco antes do ponto de ebulição), desligou-se o fogo e adicionaram-se os 5 gramas de folhas secas; com a panela tampada aguardou-se por 10min e, logo depois, coou-se o líquido pronto. Para fins de padronização, o produto final das infusões foi avolumado para 1 litro. As amostras de infusão foram preparadas e analisadas imediatamente antes dos testes

químicos e sensoriais. O protocolo detalhado para o modo de preparo das infusões das passifloras encontra-se no **ANEXO 1**

### **2.3.3.2 Preparo dos extratos**

O preparo dos extratos foi determinado pelo método de Rudnicki *et al.* (2007), que avaliou o potencial antioxidante de extratos de *Passiflora alata* e *Passiflora edulis*.

Cinco gramas de folhas desidratadas foram pesados em um béquer de 250 mL, sendo adicionados 100 mL de solvente etanol 40%. A extração foi feita com o auxílio do homogeneizador Ultraturrax (102 E), em velocidade moderada, durante 3 min (Ultraturrax TE102E, Tecnal, Brasil). Depois da fase de extração, o conteúdo do béquer foi transferido para um balão de fundo redondo, que ficou sob refluxo em banho de glicerina (80°C), durante 30 min. Com auxílio de um funil revestido de lã de vidro, o líquido foi filtrado a vácuo e seu conteúdo transferido para o balão de rota-evaporação. O conteúdo foi rota-evaporado a 60°C, durante, aproximadamente, 5 min e o volume foi completado com metanol em balão volumétrico de 50 mL. A amostra foi guardada em um tubo *falcon*, em *freezer*, até o dia da análise. O protocolo detalhado para o preparo dos extratos hidroalcoólicos encontra-se no **ANEXO 2**.

### **2.3.4 Determinações analíticas**

As análises sensoriais, feitas com as infusões das folhas, foram realizadas na Universidade Católica de Brasília (UCB), no laboratório de Análise Sensorial, que conta com toda estrutura para as sessões de treinamento e cabines individuais de análise sensorial para o procedimento dos testes. As análises de fenólicos totais, taninos, flavonoides, açúcares totais e potencial antioxidante *in vitro*, por DPPH e FRAP, nos extratos e nas infusões, foram realizadas no Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UCB.

### 2.3.4.1 Determinações químicas

#### 2.3.4.1.1 Análise de fenólicos totais

Para esta análise, foram pipetados, em um tubo de ensaio, 0,2 mL do extrato ou da infusão diluída. Para os extratos, a diluição foi realizada entre 5-50 microlitros de extrato e 995-700 microlitros de água e, para as infusões, entre 60-500 microlitros da infusão e 940-500 microlitros de água. Dependendo da folha avaliada, a diluição era diferente, com a finalidade de obter absorvâncias entre 0.200 e 0.700. No tubo, ainda foi adicionado 1 mL de reagente *Folin ciocalteau* (1:10 em água destilada). Agitou-se e, em seguida, todos os tubos permaneceram em repouso por 1 minuto. Adicionou-se 0,8 mL de solução de carbonato de sódio 7,5% e as amostras foram incubadas por duas horas, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após a incubação, as absorvâncias foram lidas no espectrofotômetro, com comprimento de onda de 765nm. Os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico. O protocolo detalhado para a determinação dos fenólicos totais encontra-se no **ANEXO 3**.

#### 2.3.4.1.2 Análise de taninos totais

O método da Vanilina (BROADHURST & JONES, 1978) é específico para uma classe limitada de compostos fenólicos, que apresentam uma ligação simples na posição 2,3 e grupos hidroxila em posições alternadas no anel A, embora possa detectar tanto flavonoides monoméricos quanto poliméricos. Neste método, tanto as leucoantocianidinas (catequinas), quanto as proantocianidinas (taninos condensados), reagem com a vanilina, na presença de HCL, para produzir um produto de condensação vermelho, que é detectado espectrofotometricamente.

Para esta análise, os tubos de ensaio de 25 ml foram cobertos com papel alumínio e foram adicionados 5 mL de vanilina reagente, na triplicata de cada amostra (4g de vanilina pura + 56 ml de HCL + 83 ml de metanol) e na triplicata do “branco da vanilina”. Os reagentes foram preaquecido em banho Maria, a 30°C, por 30 min. Depois disso, adicionou-se 1 ml da infusão ou extrato na triplicata de cada amostra e nos tubos

da duplicata do “branco da amostra” e agitou-se em *vortex*. Logo depois, foram adicionados 5 ml de metanol 72%, na duplicata do “branco da amostra” e 1 ml, no “branco da vanilina”. A reação foi mantida no banho Maria por mais 20 min. Enfim, realizou-se a leitura da absorvância em espectrofotômetro (510nm), utilizando-se o metanol 72% como branco, para calibrar o espectrofotômetro. O resultado foi expresso em mg de catequina/g de amostra. O protocolo detalhado para a determinação de taninos condensados encontra-se no **ANEXO 4**.

#### **2.3.4.1.3 Análise de flavonoides totais**

Em 1954, Harbone sugeriu o uso de cloreto de alumínio para a determinação espectrofotométrica da presença de certos grupamentos químicos em flavonoides (MABRY *et al.*, 1970). Mais recentemente, foi proposta a utilização de métodos espectrofotométricos para a determinação de flavonoides totais em plantas, utilizando-se o cloreto de alumínio (SCHMIDT & GONZÁLEZ-ORTEGA, 1993). Vennat *et al.* (1992) desenvolveram um método para determinar o teor de flavonoides em uma planta, adaptando o método descrito por Dowd (1959) para a quercetina, o qual se baseia no uso de cloreto de alumínio (WOISK, 1996). O cátion de alumínio forma complexos estáveis com os flavonoides em metanol, ocorrendo na análise espectrofotométrica um desvio para maiores comprimentos de onda e uma intensificação da absorvância. Dessa maneira, é possível determinar a quantidade de flavonoides, evitando-se a interferência de outras substâncias fenólicas, principalmente os ácidos fenólicos, que, invariavelmente, acompanham os flavonoides nos tecidos vegetais.

De acordo com Pereira *et al.* (2009), para esta análise uma alíquota de 5 ml para as infusões e, variando de 100 a 400 $\mu$ L (dependendo da folha) para os extratos, foi colocada em um tubo de ensaio, misturada com 500 $\mu$ L de solução metanólica de cloreto de alumínio e completada para o volume de 10 ml com solução metanólica de ácido acético. A solução descansou por 30 min, ao abrigo da luz, e foi lida em espectrofotômetro, com comprimento de onda de 425nm, usando-se uma solução controle da mistura, sem a amostra. Os resultados foram expressos em equivalentes

de quercetina. O protocolo detalhado para a determinação de flavonoides totais encontra-se no **ANEXO 5**.

#### **2.3.4.1.4 Análise da quantidade de açúcares totais**

O método fenol-sulfúrico baseia-se na determinação de açúcares simples, polissacarídeos e seus derivados, após sua desidratação pelo ácido sulfúrico e subsequente complexação dos produtos formados com o fenol. A mudança da cor da solução é medida na região visível do espectro e é proporcional à quantidade de açúcares presentes na amostra. A reação é sensível e de cor estável. As análises foram feitas de acordo com Dubois *et al.* (1956). Os teores de açúcares totais foram determinados por espectrofotometria, a um comprimento de onda de 490nm, utilizando-se uma curva padrão de glicose (1%) com intervalo de 12 a 90µg.

Para essa análise, foi transferida uma alíquota de 2 ml da infusão diluída (400 microlitros de amostra e 600 microlitros de água). A essa alíquota foram adicionados 0,8µl de fenol (80%) e 5ml de ácido sulfúrico. Logo após, cada amostra foi homogeneizada em agitador de tubos e mantida em banho-maria, de 25 a 30°C, por 10 minutos. A mistura foi lida a 490nm e a quantidade de açúcares totais foi expressa em mg de glicose/g de folha. O protocolo detalhado para a determinação da quantidade de açúcares totais encontra-se no **ANEXO 6**.

#### **2.3.4.1.5 Análise do potencial antioxidante in vitro por DPPH**

O método DPPH (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995) é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 515nm. Segundo o autor, a atividade antirradical é definida como a quantidade de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH em 50% (Efficient Concentration =  $EC_{50}$  (mol/L antioxidante) / (mol/L DPPH)).

Para esta análise, alíquota de 0,1 mL de extrato e de infusão, previamente diluídas em 3 concentrações diferentes, que variaram entre 350 e 5 microlitros, para os extratos, e entre 900 e 30 microlitros, para as infusões, foram colocadas em um tubo de

ensaio, misturadas com 3,9 mL de solução de DPPH (0,06 mM) e colocadas ao abrigo de luz, em banho-maria, a 25 °C, por 20 minutos. As diferentes diluições dependiam da folha avaliada, com a finalidade de se obterem absorvâncias entre 0.200 e 0.700. Após a incubação, a absorvância foi lida em espectrofotômetro, com comprimento de onda de 517nm, usando-se o metanol como branco e uma solução metanólica de BHT em cinco concentrações diferentes (entre 200 e 25 mg/mL), como controle. A atividade antioxidante total foi expressa em  $\mu\text{mol}$  de antioxidante butil hidroxitolueno (BHT) equivalente/g de folha de passiflora. O protocolo detalhado para a determinação do potencial antioxidante por DPPH encontra-se no **ANEXO 7**.

#### **2.3.4.1.6 Análise do potencial antioxidante in vitro por FRAP**

O procedimento analítico consiste na construção de duas curvas. A primeira é a curva padrão, resultante da ação antioxidante de sulfato-ferroso, em diferentes concentrações, sobre o TPTZ, por uma determinada condição de tempo e temperatura. Sob a mesma condição, posteriormente, na segunda curva, diferentes concentrações do extrato que está sendo analisado atuam sobre a mesma quantidade de TPTZ. Para calcular a atividade antioxidante total, deve-se substituir, na equação da segunda curva, a absorvância equivalente a 1000  $\mu\text{M}$  do padrão sulfato-ferroso.

Para essa análise, foram transferidas alíquotas de 90  $\mu\text{L}$  de cada diluição dos extratos e infusões das diferentes folhas de passifloras, sendo 3 diluições para cada amostra. Para os extratos, as diluições variaram entre 500 e 12,5 mg/mL e, para as infusões, entre 1000 e 30 mg/mL, com a finalidade de se obterem absorvâncias entre 0.200 e 0.700. A essas alíquotas foram acrescentados 270 ml de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP. Logo após, cada amostra foi homogeneizada em agitador de tubos e mantida em banho-maria, a 37°C, por 30 minutos. Realizou-se a leitura da absorvância em espectrofotômetro (595nm) e utilizou-se o reagente FRAP como branco para calibrar o espectrofotômetro. Procedimento idêntico foi realizado com solução de sulfato-ferroso, nas concentrações de 500 a 2000  $\mu\text{M}$ , no lugar do extrato. O resultado foi expresso em  $\mu\text{mol}$  de sulfato ferroso/g de folha. O protocolo detalhado para a determinação do potencial antioxidante por FRAP encontra-se no **ANEXO 8**.

### **2.3.4.2 Determinações Sensoriais**

De acordo com o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, da Faculdade de Ciência e Saúde da Universidade de Brasília, após análise dos aspectos éticos e do contexto técnico-científico, resolveu-se aprovar o projeto: 191/11 (**ANEXO 9**).

#### **2.3.4.2.1 Método do Grupo Focal**

Duas sessões de grupo focal, com tempo entre 30 a 50 minutos para cada sessão contando com um total de sete consumidores de chás em geral, foram conduzidas em uma sala do Laboratório de Análise Sensorial da UCB. Nesse estudo, o grupo focal foi recrutado com o objetivo de obter percepções em relação à infusão obtida a partir da folha da *Passiflora edulis* BRS cv. Sol do Cerrado, cujos resultados foram estendidos para as outras espécies também avaliadas.

As sessões foram conduzidas por um moderador, que anotava os pontos importantes levantados pelos participantes. Inicialmente, o moderador explicou o propósito das sessões e esclareceu sobre a importância da opinião de cada participante no estudo, prosseguindo com a utilização de um roteiro de perguntas (Tabela 2).

Todos os dados obtidos foram lidos e estudados, considerando-se as palavras utilizadas pelos consumidores, o contexto da pergunta e a especificidade da resposta, sem realização de análise estatística, em vista da característica qualitativa do estudo.

**Tabela 2** Roteiro aplicado com o grupo focal

1) O que você considera importante nos chás em geral?
2) Qual dessas três infusões é a mais agradável?
3) A cor influencia na aceitação do chá?
4) O que você achou da cor desse chá de maracujá?
5) Você já experimentou algum chá de maracujá?
6) Você acha importante a adição de aromatizante de maracujá nesse chá?
7) Você se importa de adicionar aromatizante em um produto natural?
8) Você prefere chá gelado ou chá quente?
9) Tem necessidade de adição de açúcar nesse chá de maracujá?

Foram apresentadas três concentrações diferentes de infusões: 3; 5 e 7 gramas/L, para que o grupo decidisse qual era mais agradável. As mesmas concentrações foram apresentadas em duas temperaturas diferentes: 10 °C e 60 °C, e, ainda, com adição ou não de açúcar. A quantidade de açúcar utilizada, de 7,5%, foi a mesma referida pelo chá mate comercial (Chá mate leão®). Na Tabela 3, estão apresentados os produtos avaliados nas sessões de grupo focal e suas descrições.

**Tabela 3** Descrição dos produtos utilizados nesse estudo.

PRODUTO	DESCRIÇÃO
1	Chá da <i>Passiflora edulis</i> BRS cv. Sol do Cerrado, preparada de acordo com o anexo 1, na proporção de 3g de folha/1L de água, sem adição de açúcar e oferecida na temperatura de 60°C.
2	Chá da <i>Passiflora edulis</i> BRS cv. Sol do Cerrado, preparada de acordo com o anexo 1, na proporção de 5g de folha/1L de água, sem adição de açúcar e oferecida na temperatura de 60°C.
3	Chá da <i>Passiflora edulis</i> BRS cv. Sol do Cerrado, preparada de acordo com o anexo 1, na proporção de 7g de folha/1L de água, sem adição de açúcar e oferecida na temperatura de 60°C.

---

<b>4</b>	Chá da <i>Passiflora edulis</i> BRS cv. Sol do Cerrado, preparada de acordo com o anexo 1, na proporção de 3g de folha/1L de água, sem adição de açúcar e oferecida na temperatura de 10°C.
<b>5</b>	Chá da <i>Passiflora edulis</i> BRS cv. Sol do Cerrado, preparada de acordo com o anexo 1, na proporção de 5g de folha/1L de água, sem adição de açúcar e oferecida na temperatura de 10°C.
<b>6</b>	Chá da <i>Passiflora edulis</i> BRS cv. Sol do Cerrado, preparada de acordo com o anexo 1, na proporção de 7g de folha/1L de água, sem adição de açúcar e oferecida na temperatura de 10°C.
<b>7</b>	Chá da <i>Passiflora edulis</i> BRS cv. Sol do Cerrado, preparada de acordo com o anexo 1, na proporção de 3g de folha/1L de água, com adição de açúcar (7,5%) e oferecida na temperatura de 60°C.
<b>8</b>	Chá da <i>Passiflora edulis</i> BRS cv. Sol do Cerrado, preparada de acordo com o anexo 1, na proporção de 5g de folha/1L de água, com adição de açúcar (7,5%) e oferecida na temperatura de 60°C.
<b>9</b>	Chá da <i>Passiflora edulis</i> BRS cv. Sol do Cerrado, preparada de acordo com o anexo 1, na proporção de 7g de folha/1L de água, com adição de açúcar (7,5%) e oferecida na temperatura de 60°C.
<b>10</b>	Chá da <i>Passiflora edulis</i> BRS cv. Sol do Cerrado, preparada de acordo com o anexo 1, na proporção de 3g de folha/1L de água, com adição de açúcar (7,5%) e oferecida na temperatura de 10°C.
<b>11</b>	Chá da <i>Passiflora edulis</i> BRS cv. Sol do Cerrado, preparada de acordo com o anexo 1, na proporção de 5g de folha/1L de água, com adição de açúcar (7,5%) e oferecida na temperatura de 10°C.
<b>12</b>	Chá da <i>Passiflora edulis</i> BRS cv. Sol do Cerrado, preparada de acordo com o anexo 1, na proporção de 7g de folha/1L de água, com adição de açúcar (7,5%) e oferecida na temperatura de 10°C.

---

### 2.3.4.2.2 Método Perfil Livre

O perfil sensorial de cada amostra foi determinado pelo método de Perfil Livre (Free-Choice Profile) (DAMÁSIO, 1999). Optou-se por esse método devido o tempo e quantidade de amostras disponíveis serem escassas, sendo assim, a etapa de treinamento de provadores ficaria prejudicada.

#### 2.3.4.2.2.1 Seleção dos provadores

Uma ficha de recrutamento foi distribuída a alunos, funcionários e professores da UCB, para que os interessados anotassem informações sobre disponibilidade de horário, condições médicas, habilidades com termos descritivos e com a utilização de escalas de intensidade (**ANEXO 10**). Depois dessa triagem, para a seleção dos candidatos utilizou-se uma sequência de 12 testes triangulares, em que foram utilizadas duas amostras de infusão da *Passiflora* cv. BRS Sol do Cerrado, adoçadas com diferença de 0,8% em relação à concentração de sacarose (**ANEXO 11**).

O critério de seleção foi de no mínimo, 60% de acerto. Então, para ser selecionado o provador deveria ter acertado no mínimo 8 dos 12 testes triangulares aplicados (MARCELLINI, 2005; VERRUMA-BERNARDI & DAMÁSIO, 2004). O objetivo dessa etapa foi selecionar candidatos com boa habilidade discriminativa.

#### 2.3.4.2.2.2 Levantamento de atributos

Após sequência de testes triangulares, nove provadores selecionados iniciaram, individualmente, a análise do Perfil Livre, com o levantamento dos termos descritivos de seis infusões, que seriam avaliadas, posteriormente, pelo método de *Repertory Grid* (MEILGAARD *et al.*, 1999) (**ANEXO 12**). Os provadores receberam as amostras aos pares, em todas as combinações, e foram solicitados a listar as diferenças e similaridades entre as amostras apresentadas (Figura 7). Essa etapa foi feita em duas sessões, para a confirmação de que todos os atributos possíveis tinham sido levantados. Para a avaliação da aparência e aroma, as amostras foram apresentadas

em *erlenmeyer* transparente, de 100 mL; já para a análise de sabor, as amostras foram servidas em copos plásticos de 30 mL.

Como os provadores não tinham nenhuma familiarização com as infusões que estavam sendo avaliadas, foram disponibilizados alguns produtos conhecidos para uma possível associação com o aroma e sabor das infusões. Os produtos oferecidos foram: Chá-preto, Chá de Erva-mate, Chá verde, Chá de Erva-doce, Chá de Camomila, Chá de Boldo, mel, casca de maracujá, polpa de maracujá e a própria folha da *Passiflora edulis* cv. BRS Gigante Amarelo.



**Figura 7** Levantamento dos atributos.

#### **2.3.4.2.2.3 Avaliação das amostras**

As oito amostras de chás de passifloras e de chá verde foram avaliadas por todos os provadores, utilizando-se a ficha de escala não-estruturada (**ANEXO 13**). As avaliações sensoriais foram realizadas em laboratório com cabines individuais (Figura 8).



**Figura 8** Avaliação sensorial em cabine individual.

A apresentação das amostras foi monádica sequencial, separada em duas sessões (cada sessão em um período do dia): primeira sessão para aparência e aroma e segunda sessão para sabor, totalizando 4 sessões. Todas as amostras foram codificadas com algarismos de três dígitos e apresentadas em temperaturas variando entre 8 e 10°C. O delineamento utilizado garante a eliminação do efeito da ordem de apresentação e os possíveis erros psicológicos dos provadores (MacFIE & TOMSON, 1998).

Os dados do Perfil Livre foram analisados por Análise Procrustes Generalizada (GPA), com transformações euclidianas dos dados por rotação, translação e auto-escalonamento, seguidos de Análise de Componentes Principais (ACP) da configuração de consenso, com 5% de significância.

#### **2.3.4.2.3 Análise de aceitação**

##### **2.3.4.2.3.1 Seleção dos provadores para análise de aceitação**

Foram distribuídas, aproximadamente, 180 fichas de recrutamento (**ANEXO 14**) entre estudantes e funcionários da UCB, para participarem da análise de aceitação global dos chás da pesquisa (Chá verde, *P. alata*, *P. setacea*, *P. tenuifila*, *P. nitida*, *P. edulis* BRS Sol do Cerrado, *P. edulis* BRS Ouro Vermelho, *P. edulis* BRS Gigante Amarelo e *Passiflora. ssp* ). O critério de seleção para os provadores dessa análise foi o consumo de chás gelados em geral (consumo acima de 2 vezes/mês), item 10 da ficha de recrutamento.

### 2.3.4.2.3.2 Avaliação das amostras

As amostras foram apresentadas monadicamente, para cada provador, na mesma sessão. A sessão foi separada em dois tempos, com intervalo de cinco minutos entre eles. No primeiro tempo, foram apresentadas cinco amostras para avaliação e, no segundo, mais quatro amostras, segundo o delineamento de blocos completos balanceados (MINIM, 2006), apresentado no **ANEXO 15**. O delineamento usado garante a eliminação do efeito da ordem de apresentação e do efeito residual, caracterizado pela influência de uma amostra na avaliação subsequente, além da eliminação dos possíveis erros psicológicos dos provadores.

As nove amostras de infusão foram submetidas ao teste de aceitação, utilizando-se a escala hedônica de categoria de 9 pontos. Cada amostra foi acompanhada de uma ficha de avaliação (Figura 9), sendo a ficha identificada com um número de três dígitos, correspondente a amostra em questão.

<p>AMOSTRA: _____</p> <p>Por favor, prove a amostra utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou do produto. Marque a posição da escala que melhor reflita seu julgamento.</p> <p><input type="radio"/> Gostei extremamente</p> <p><input type="radio"/> Gostei muito</p> <p><input type="radio"/> Gostei moderadamente</p> <p><input type="radio"/> Gostei ligeiramente</p> <p><input type="radio"/> Indiferente</p> <p><input type="radio"/> Desgostei ligeiramente</p> <p><input type="radio"/> Desgostei moderadamente</p> <p><input type="radio"/> Desgostei muito</p> <p><input type="radio"/> Desgostei extremamente</p>
--

**Figura 9** Ficha de avaliação utilizada no teste de aceitação

Para análise dos dados, cada item marcado tinha intensidade diferente, que variava de 1 a 9, de desgostei extremamente a gostei extremamente, respectivamente.

As notas foram posteriormente submetidas à Análise de Variância (ANOVA) e ao teste de comparação de médias de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Para analisar os resultados da avaliação dos consumidores, as notas foram submetidas à Análise de Clusters Aglomerativa Hierárquica (CAH, sigla em inglês), com o objetivo de segmentar os provadores segundo suas preferências. Utilizando-se o programa estatístico XLSTAT (ADDINSOFT, 2011), o coeficiente de dissimilaridade utilizado foi a distância euclidiana; para realizar o agrupamento, foi utilizado o método de Ward, com a opção de truncamento automático para definir o número de *clusters* e obter o dendrograma. Sendo assim, depois de os provadores terem sido separados por *cluster*, as notas foram submetidas à Análise de Variância (ANOVA) e ao teste de comparação de médias de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), onde foram comparadas as 9 amostras dentro de cada *cluster*.

Os dados obtidos também foram utilizados para a elaboração do Mapa de Preferência Interno, o Mapa de Preferência estendido e o Mapa de preferência externo. Para a construção do Mapa de preferência estendido e do mapa de preferência externo, foram cruzados os dados de aceitação e os dados químicos dos chás analisados. Não foram utilizados os dados dos atributos sensoriais descritivos devido a limitação da técnica do Perfil Livre.

De acordo com os critérios estabelecidos pelo programa estatístico, na ACP, foram selecionadas como variáveis ativas as notas dos provadores e, como variáveis suplementares, os dados químicos. A matriz de correlação utilizada foi a de Pearson. Para o mapa de preferência externo, foi demandado que o programa utilizasse o melhor modelo de regressão até o modelo quadrático.

#### **2.3.4.2.3.3 Aplicação do questionário atitudinal**

Ao final das análises, os participantes preencheram um último questionário, chamado questionário atitudinal (**ANEXO 16**) que traçava suas atitudes em relação à saúde (Tabela 4).

**Tabela 4** Questionário atitudinal adaptado da versão em português das subescalas de saúde do HTAS (Health and Taste Attitude Scales)

Interesse em saúde geral

- 
1. Eu sou preocupado sobre o quão saudável os alimentos são.

---

  2. Eu sempre sigo uma dieta saudável e balanceada.

---

  3. É importante para mim que minha dieta seja pobre em gordura.

---

  4. É importante para mim que minha alimentação diária contenha muitas vitaminas e minerais.

---

  5. Eu como o que eu gosto e não me preocupo com o quão saudável o alimento é. (R)

---

  6. O quão saudável é o alimento tem pouco impacto nas minhas escolhas. (R)

---

  7. O quão saudável os petiscos são, não faz nenhuma diferença para mim. (R)

---

  8. Eu não evito nenhum alimento, mesmo aqueles que podem elevar meu colesterol. (R)

---

**(R) = frases com sentido negativo, sofreram inversão da pontuação na escala.**

FONTE: Soares et al., 2006.

Para cada item do questionário atitudinal havia sete opções de respostas, que variaram de concordância intensa à discordância intensa. Cada item respondido tinha intensidade diferente. Por isso, respostas com indicação de aspecto positivo recebiam as maiores notas, dessa forma também, os valores foram dados às respostas de aspecto negativo. Portanto, as notas variaram de 1 a 7 (RONINEN *et al.*, 1999). As pessoas foram classificadas como preocupadas com a saúde, quando deram nota maior que quatro para pelo menos quatro das seis perguntas, as demais não foram consideradas preocupadas com a saúde. Assim, determinou-se o percentual de pessoas preocupadas com a saúde.

## **CAPÍTULO 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.1 Determinações químicas**

Na Tabela 5 são apresentados os resultados das análises de taninos condensados, fenólicos totais e flavonoides totais dos extratos e chás de passifloras e de chá verde. Os resultados estão expressos em miligrama por grama de folha ou por 200 mL de chá.

**Tabela 5** Antioxidantes de extratos e chás de folhas de passifloras e de *Camellia sinensis* (chá verde).

Tratamentos	Taninos (mg de catequina)	Fenólicos totais (mg ácido galico)	Flavonoides (mg de quercetina)
Chá verde inf.	66,92±3,23 <sup>a</sup>	162,02±1,77 <sup>a</sup>	2,18±0,02 <sup>cde</sup>
Chá verde ext..	55,28±2,03 <sup>b</sup>	121,43±9,78 <sup>b</sup>	5,79±0,00 <sup>a</sup>
Nitida inf.	17,81±0,61 <sup>c</sup>	43,60±0,50 <sup>c</sup>	1,69±0,11 <sup>ef</sup>
Nitida ext..	12,68±0,38 <sup>d</sup>	46,05±2,76 <sup>c</sup>	3,07±0,10 <sup>b</sup>
Alata inf.	1,47±0,01 <sup>e</sup>	17,87±0,31 <sup>efg</sup>	1,59±0,00 <sup>f</sup>
Tenuifila inf.	1,36±0,14 <sup>e</sup>	23,66±0,89 <sup>de</sup>	1,58±0,23 <sup>f</sup>
G. Amarelo inf.	1,29±0,11 <sup>e</sup>	18,35±0,46 <sup>efg</sup>	1,51±0,13 <sup>f</sup>
P. SSP (comercial) inf	1,26±0,13 <sup>e</sup>	11,71±0,33 <sup>gh</sup>	0,59±0,03 <sup>g</sup>
Setacea inf.	1,08±0,04 <sup>e</sup>	27,78±1,62 <sup>d</sup>	1,45±0,02 <sup>f</sup>
S. do Cerrado inf.	1,08±3,16 <sup>e</sup>	18,76±0,47 <sup>efg</sup>	1,77±0,01 <sup>def</sup>
O. Vermelho inf.	1,05±0,16 <sup>e</sup>	15,75±0,76 <sup>efg</sup>	1,36±0,20 <sup>f</sup>
P. ssp (comercial) ext	0,99±0,02 <sup>e</sup>	6,59±1,13 <sup>h</sup>	0,57±0,01 <sup>g</sup>
Tenuifila ext.	0,65±0,04 <sup>e</sup>	18,82±2,73 <sup>efg</sup>	2,93±0,19 <sup>b</sup>
Alata ext.	0,63±0,00 <sup>e</sup>	13,72±1,25 <sup>gh</sup>	2,93±0,15 <sup>b</sup>
Setacea ext.	0,55±0,05 <sup>e</sup>	22,17±2,39 <sup>def</sup>	3,08±0,09 <sup>b</sup>
G. Amarelo ext.	0,37±0,01 <sup>e</sup>	13,93±0,41 <sup>gh</sup>	2,61±0,20 <sup>bc</sup>
S. do Cerrado ext.	0,30±0,01 <sup>e</sup>	14,68±1,23 <sup>fgh</sup>	2,28±0,25 <sup>cd</sup>
O. Vermelho ext.	0,20±0,04 <sup>g</sup>	10,72±0,45 <sup>gh</sup>	2,38±0,08 <sup>c</sup>

\*Médias seguidas por letras iguais numa mesma coluna não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Amostras:** inf: infusão  
ext: extrato hidroalcoólico

A extração dos compostos fenólicos totais e taninos por via aquosa foi mais eficiente, revelando maiores valores dos analitos, quando comparados com os

extraídos por via hidroalcoólica. Por outro lado, foi possível observar maiores concentrações de flavonoides nos extratos obtidos por via hidroalcoólica.

Não há processo de extração com solvente que seja satisfatório para o isolamento de todos, ou de classe específica, de antioxidantes naturais. Alguns desses componentes, como alguns fenólicos com alto peso molecular, são altamente insolúveis em água. Entretanto, os extratos sempre contêm misturas de substâncias fenólicas de diferentes classes, que são solubilizadas no solvente do sistema escolhido (SHAIDI & NACZK, 1995).

Ribeiro *et al.* (2009) avaliaram os tipos de extração aquosa, alcoólica e hidroalcoólica, e observaram que os compostos fenólicos totais também apresentaram valores estatisticamente maiores quando extraídos por via aquosa. Resultado semelhante foi obtido por Bastos *et al.* (2007), em estudo que comparou a extração de compostos fenólicos por água, etanol e éter. Andreo & Jorge (2006) observaram que etanol e água são os solventes mais empregados na extração de antioxidantes.

Dentre os chás das passifloras analisadas, podem-se destacar o da *Passiflora nitida* (46,60 mg de ácido gálico/g) e a da *Passiflora setacea* (27,78 mg de ácido gálico/g), que apresentaram maiores quantidades de fenólicos totais. De acordo com Costa *et al.* (2008), que avaliaram compostos fenólicos totais na polpa da *Passiflora nitida*, os teores desses compostos foram mais elevados, também, quando comparados aos do maracujá comercial. Os teores de polifenóis totais analisados das polpas dessa espécie apresentaram valores com uma média geral de 0,2952 mg de ácido gálico/g.

Com o objetivo de estabelecer um critério de valores para as quantidades de fenólicos totais, Vasco *et al.* (2008), que avaliaram 17 frutas, estabeleceram 3 categorias: baixos (<1000mg de ácido gálico/100g), médios (1000-5000mg de ácido gálico/100g) e altos teores (>5000mg de ácido gálico/100g) para matéria seca. Com isso, de acordo com os resultados deste trabalho, pode-se afirmar que somente o chá verde apresenta valores altos para fenóis, situando-se as demais amostras na faixa dos valores médios, que, quando comparados com os dos frutos usados no trabalho de Vasco *et al.* (2008), permitem observar que as infusões têm quantidades parecidas

com as das frutas que contêm maiores quantidades de fenóis, como a acerola e o camu-camu.

O crescente interesse pelos chás deve-se, grandemente, a estudos que os mostram como fontes de flavonoides e a relação inversa entre seu consumo e o risco de doenças degenerativas, como câncer e doenças do coração (DREOSTI, 1996; DUFRESNE & FARNWORTH, 2000; HO *et al.*, 1992).

As concentrações de flavonoides do chá verde (2,18 mg de quercetina por grama de folha), obtidas neste trabalho, por extração por via aquosa, foram maiores que as encontradas no estudo de Pereira *et al.* (2009), que avaliaram 4 e 3 marcas diferentes de chá verde e de chá preto, respectivamente, e encontraram resultados entre 0,68 e 1,10 mg de quercetina por grama de folha. Porém, no próprio estudo foi evidenciado que esses valores eram inferiores aos encontrados na literatura.

As concentrações de taninos nos chás que mais se destacaram foram as do chá verde (66,92 mg de catequina/ g. folha) e do chá da *Passiflora nitida* (17,81 mg de catequina /g. folha). No estudo de Jacques *et al.* (2010) foram apresentados valores de 12,52; 6,63 e 1,43 mg de catequina por grama de folha de chá verde, chá preto e chá branco, respectivamente.

Comparando-se estes resultados com os teores do chá de pó de erva-mate, Vieira *et al.* (2009) relataram o teor de taninos de 2,9 mg de catequina por grama de pó, e Donaduzzi *et al.* (2003) apresentaram valores entre 5,1 – 5,7 mg de catequina por grama de folha.

As demais infusões de passifloras do Cerrado, apresentaram valores muito inferiores, entre 0,2 e 1,5 mg de catequina/ g. folha. A variação no conteúdo de taninos, assim como o conteúdo de fenólicos totais em geral, pode ser atribuída à variação da composição do chá com a estação do ano, principalmente em função do clima e da incidência de luz, que acelera a formação dos flavonoides, da idade da folha e do tempo de infusão, além de muitos outros fatores que interferem na produção desses compostos do metabolismo secundário (NISHIYAMA *et al.*, 2010).

Como já propagado por vários trabalhos, os antioxidantes são muito importantes para a saúde humana, pois atacam os radicais livres, que geram danos à saúde. Por

essa razão, o consumo de compostos fenólicos, que proporcionam elevado potencial antioxidante, por meio de vários alimentos de origem vegetal, está sendo cada vez mais preconizado.

O potencial antioxidante das amostras foi levantado de acordo com duas metodologias (DPPH e FRAP).

Os valores do potencial antioxidante dos extratos e chás de passifloras e de chá verde estão apresentados na Tabela 6, analisadas pelos métodos DPPH e FRAP.

**Tabela 6** Potencial antioxidante de extratos e chás de folhas de passifloras e de *Camellia sinensis* (chá verde).

Tratamentos	AAT – DPPH EC50(g/g DPPH)	AAT - FRAP (mg de sulfato-ferroso/g folha)
Chá verde inf.	554,84±20,94 <sup>bc</sup>	2991,78±13,40 <sup>a</sup>
Chá verde ext..	67,08±5,04 <sup>a</sup>	2151,43±78,04 <sup>b</sup>
Nitida inf.	472,53±61,00 <sup>abc</sup>	589,65±14,39 <sup>c</sup>
Nitida ext..	262,84±22,17 <sup>ab</sup>	558,00±44,06 <sup>c</sup>
Alata inf.	1531,17±159,06 <sup>gh</sup>	178,33±12,25 <sup>fghi</sup>
Tenuifila inf.	652,15±11,26 <sup>bcd</sup>	352,20±11,14 <sup>d</sup>
G. Amarelo inf.	1203,59±70,28 <sup>efg</sup>	221,89±8,29 <sup>ef</sup>
P. ssp (comercial) inf.	2758,28±468,80 <sup>j</sup>	130,22±14,35 <sup>ij</sup>
Setacea inf.	1055,08±178,49 <sup>def</sup>	239,89±10,03 <sup>ef</sup>
S. do Cerrado inf.	1230,65±92,90 <sup>fg</sup>	213,08±19,64 <sup>efg</sup>
O. Vermelho inf.	2219,87±91,34 <sup>i</sup>	136,12±8,40 <sup>hij</sup>
P. ssp (comercial) ext.	1876,49±152,70 <sup>hi</sup>	94,11±1,64 <sup>j</sup>
Tenuifila ext.	783,74±22,83 <sup>cde</sup>	262,10±13,87 <sup>e</sup>
Alata ext.	2179,02±71,56 <sup>i</sup>	123,70±14,85 <sup>ij</sup>
Setacea ext.	1121,80±78,78 <sup>efg</sup>	207,54±9,49 <sup>efgh</sup>
G. Amarelo ext.	1365,01±19,44 <sup>fg</sup>	142,19±12,62 <sup>ghij</sup>
S. do Cerrado ext.	1131,62±15,21 <sup>efg</sup>	126,36±9,85 <sup>ij</sup>
O. Vermelho ext.	2697,53±132,51 <sup>j</sup>	103,66±4,41 <sup>j</sup>

\*Médias seguidas por letras iguais numa mesma coluna indicam que não há diferença estatística entre as médias de acordo com o teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

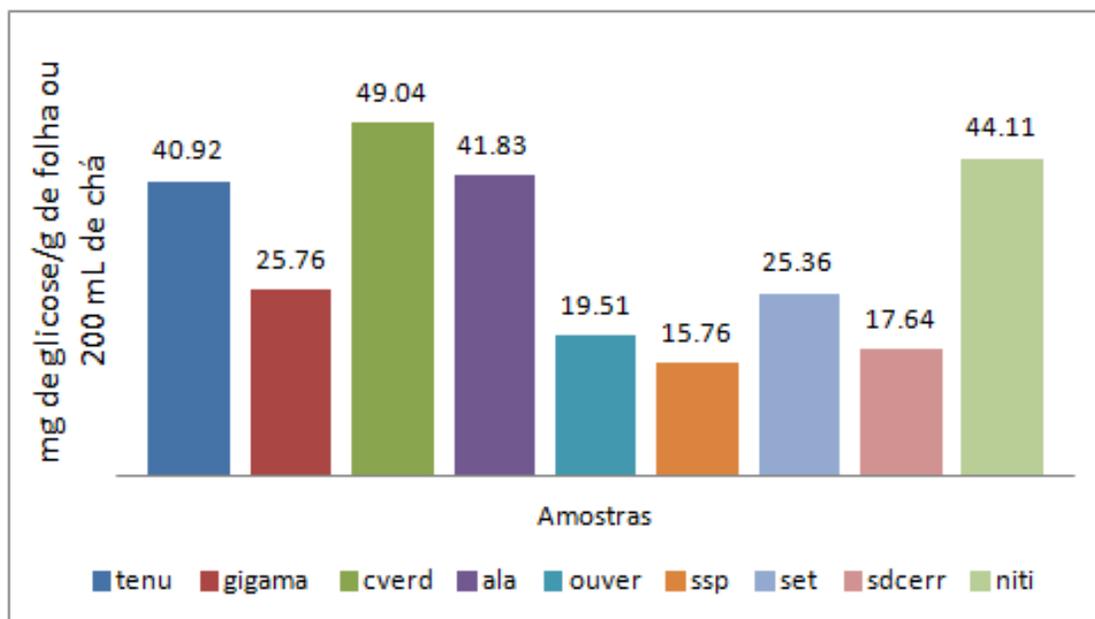
**Amostras:** inf: infusão  
ext: extrato hidroalcoólico

Verificou-se que o alto poder antioxidante acompanhou, relativamente, a mesma ordem das amostras com maiores quantidades de taninos e de fenólicos totais, apresentados na Tabela 5. Isso ocorreu devido a correlação observada entre os teores de fenólicos totais e a capacidade antioxidante dos extratos.

O chá verde apresentou os maiores valores, em todas as análises, de propriedades antioxidantes. Pelo método de DPPH, o maior potencial antioxidante foi observado para o extrato hidroalcoólico de chá verde, já a infusão do mesmo chá revelou maior potencial, de acordo com o método de FRAP. Usado neste estudo para efeito de comparação, o chá verde, já é bastante conhecido e analisado, quanto à quantidade de compostos fenólicos e seu poder antioxidante (MORAES *et al.*, 2009; JACQUES *et al.*, 2010; BASTOS *et al.*, 2007; QUELHAS *et al.*, 2010; MORAES-DE-SOUZA, 2011; PEREIRA *et al.*, 2009; ASOLINI *et al.*, 2006; LIN *et al.*, 2003; NISHIYAMA *et al.*, 2010; SENGER *et al.*, 2010), confirmou sua superioridade em relação aos outros chás de passifloras. O estudo de Moraes-de-Souza *et al.* (2011), em que também se analisou comparativamente vários chás (anis, camomila, mate e chás verde e preto), confirma as maiores quantidades de fenólicos totais e maior potencial antioxidante, conseqüentemente, no chá verde. No entanto, nesta pesquisa, o chá de qualquer espécie de passiflora apresentou valores superiores aos chás de anis e camomila, apresentado no trabalho exceto o chá da *Passiflora ssp.*

As duas metodologias para quantificação do potencial antioxidante concordaram entre si, já que as amostras que apresentaram maior potencial antioxidante foram observadas para ambas as metodologias. Além da amostra de chá verde, a de *Passiflora nitida* também se destacou com relação a seu elevado potencial antioxidante. As amostras de passiflora comercial: extrato de *P. edulis* cv. BRS Ouro vermelho e chá de *P. ssp* (compradas em farmácia) foram as que apresentaram menores potenciais antioxidantes, de acordo com o método DPPH.

Os teores de açúcares totais quantificados nos chás de passifloras e no chá verde estão apresentados na Figura 10.



**Figura 10** Açúcares solúveis totais em infusões (chás) de folhas de passifloras e de chá verde (*Camellia sinensis*).

**As amostras são:** tenu – *P. tenuifila*, gigama. *P. edulis* cv. BRS Gigante Amarelo, cverd – chá verde, ala – *P. alata*, ouver - *P. edulis* cv. BRS Ouro Vermelho, ssp – *P. ssp* (comercial), set – *P. setacea*, sdcerr - *P. edulis* cv. BRS Sol do Cerrado, niti – *P. nitida*.

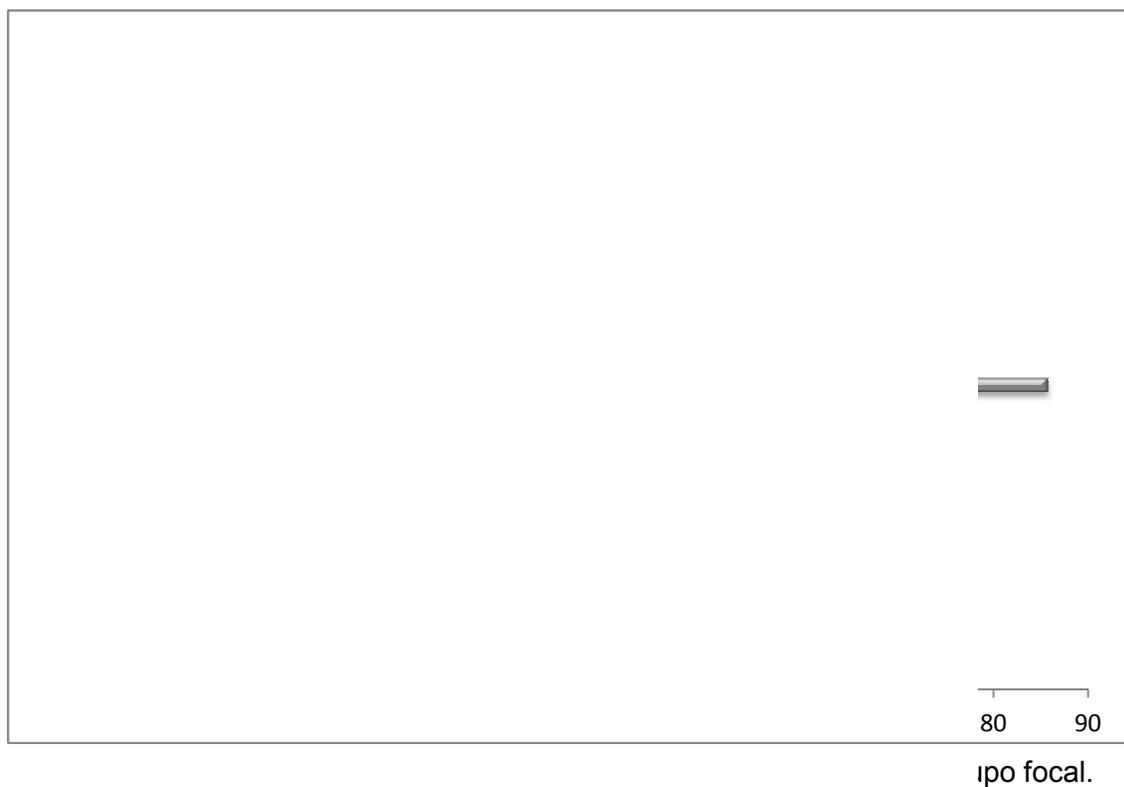
Entre as amostras analisadas, o teor de açúcares totais foi maior para o chá verde (49,04 mg de glicose por grama de folha) e chá da *Passiflora nitida* (44,11 mg de glicose por grama de folha) e menor para o chá da *Passiflora edulis* cv. BRS Sol do Cerrado (17,64 mg de glicose por grama de folha) e chá da *Passiflora ssp* (15,76 mg de glicose por grama de folha).

De acordo com Meilgaard *et al.* (1999), o *threshold* de detecção da glicose (menor concentração com uma detecção sensorial significativa) situa-se entre 300 e 600 mg/100 mL. Os valores de açúcares encontrados na infusão são bem menores do que os valores de limiar de detecção encontrados na literatura; portanto, é provável que os teores de açúcares naturalmente presentes na infusão não sejam determinantes na percepção de dulçor das amostras.

## 3.2 Determinações sensoriais

### 3.2.1 – Grupo focal

Os dados demográficos dos participantes do grupo focal são apresentados na Figura 11. A faixa etária predominante foi de 30 - 39 anos (71,4%); dos 7 participantes, 4 eram do sexo feminino e todos possuíam ensino superior completo, sendo que um dos participantes tinha pós-graduação. Somente 1 participante tinha renda maior que 5 a 10 salários mínimos, o restante (71,4%) recebia entre 1 – 5 salários mínimos.



Doze tratamentos de chá de *P. edulis* BRS cv. Sol do Cerrado foram oferecidos aos consumidores, de forma que as diferentes opções de concentrações, temperaturas de infusão e a adição ou não de açúcar pudessem ser cruzadas, com o objetivo de se

apresentarem todas as formulações de produtos possíveis. As respostas obtidas para cada produto durante as sessões estão resumidas nas Tabelas 7, 8 e 9.

**Tabela 7** Resumo das respostas mais frequentes para a concentração do chá de passiflora.

	<b>Produtos 1, 4, 7 e 10*</b>	<b>Produtos 2, 5, 8 e 11*</b>	<b>Produtos 3, 6, 9 e 12*</b>
<b>Concentração de folha/água do chá.</b>	A cor do chá está muito clara, dá impressão de que o chá está fraco. O gosto também está bastante suave, mesmo com o gosto amargo presente.	Entre os três produtos, esta concentração está mais parecida com outros chás; nem tão fraco, nem tão forte; Ideal.	A cor deste chá está muito escura, o gosto amargo também está muito acentuado.

\***Produtos 1, 4, 7 e 10:** chás com as mesmas concentrações (3g de folhas/L), porém com diferentes temperaturas de apresentação e adição ou não de açúcar.

\***Produtos 2, 5, 8 e 11:** chás com as mesmas concentrações (5g de folhas/L), porém com diferentes temperaturas de apresentação e adição ou não de açúcar.

\***Produtos 3, 6, 9 e 12:** chás com as mesmas concentrações (7g de folhas/L), porém com diferentes temperaturas de apresentação e adição ou não de açúcar.



**Figura 12** Coloração dos chás em diferentes concentrações de chás de *Passiflora edulis*. (1) 3 gramas de folhas/L; (2) 5 gramas de folhas/L; (3) 7 gramas de folhas/L.

**Tabela 8** Resumo das respostas mais frequentes para a temperatura dos chás de passiflora.

	<b>Produtos 1, 2, 3, 7, 8 e 9*</b>	<b>Produtos 4, 5, 6, 10, 11, 12*</b>
<b>Temperatura dos chás.</b>	O chá quente é bem específico para alguns horários, sem contar que não se pode demorar muito para tomar depois de pronto.	O chá gelado é mais prático, se estiver em geladeira, em qualquer horário é bem aceito, como um suco. Porém, o sabor tem de melhorar.

**\*Produtos 1, 2, 3, 7, 8 e 9:** chás com concentrações (g de folhas/L) diferentes e adição ou não de açúcar, porém com a mesma temperatura (60°C).

**\*Produtos 1, 2, 3, 7, 8 e 9:** chás com concentrações (g de folhas/L) diferentes e adição ou não de açúcar, porém com a mesma temperatura (10°C).

**Tabela 9** Resumo das respostas mais frequentes sobre a adição ou não de açúcar.

	<b>Produtos 1, 2, 3, 4, 5, e 6*</b>	<b>Produtos 7, 8, 9, 10, 11 e 12*</b>
<b>Adição de açúcar nos chás.</b>	Independentemente da temperatura em que o chá é oferecido, a adição de açúcar é sempre prejudicial à saúde. Se a intenção é a de ingerir compostos que “promovem” saúde, então, o açúcar não é bem visto nesse tipo de produto.	O açúcar mascarou o amargo do chá, o que, com certeza, favoreceu o sabor do produto. Mas, mesmo assim, pensando-se que, com o chá, tem-se a intenção de “promover” saúde, então não é recomendada a sua adição.

**\*Produtos 1, 2, 3, 4, 5 e 6:** chás com concentrações (g de folhas/L) e temperaturas diferentes, porém todas com adição de açúcar.

**\*Produtos 7, 8, 9, 10, 11 e 12:** chás com concentrações (g de folhas/L) e temperaturas diferentes, porém todas sem adição de açúcar.

Os participantes chegaram ao consenso de que a concentração ideal para o chá de *Passiflora edulis* BRS cv. Sol do Cerrado era de 5 gramas/L e informaram que, para esse chá, a preferência era pela temperatura de 10°C. Além disso, como se tratava de

bebidas que visavam à análise de componentes que influenciam positivamente a saúde, como o teor de antioxidantes, foi bastante questionada a adição de açúcar. De acordo com a maioria, mesmo que o sabor ficasse menos atraente, por causa do amargor relatado nos chás, não foi recomendada essa adição.

É importante ressaltar que todos os provadores pontuaram a necessidade de valer-se de aditivos (aromatizantes), para se obter o gosto característico de maracujá, pois foi unânime a informação de que os chás não tinham sabor que lembrasse o de maracujá, alegando ser esse um fator importante na melhora do sabor final do produto. Assim, quando perguntados sobre a possibilidade de adição de aromatizantes que atribuam esse sabor ao produto final, todos concordaram.

### **3.2.2 Perfil Livre**

#### **3.2.2.1 Seleção dos provadores**

Foi realizada ampla divulgação, dentro da UCB, sobre o projeto “Desenvolvimento tecnológico para uso funcional e medicinal das passifloras silvestres”, sendo distribuídas 50 fichas de recrutamento aos interessados em participar da análise sensorial descritiva de chás de folhas de passifloras do Cerrado. De acordo com os critérios de seleção, que incluíam disponibilidade de horário, apreciação de chás e interesse em participar da equipe de provadores, somente 12 indivíduos foram selecionados e recrutados para participarem da próxima seleção, que seria a sequência de testes triangulares.

Dos 12 candidatos recrutados, somente 9 conseguiram o número de acertos mínimo de 60%, nos testes triangulares com amostras de chá de *Passiflora edulis*, adoçadas com 0% e 0,8% de sacarose. O mesmo percentual mínimo de acertos foi utilizado por Marcelline (2005), no seu estudo com suco de abacaxi, e por Verruma-Bernardi & Damásio (2004), em estudo realizado com queijo mozzarella de leite de búfala.

### 3.2.2.2 Levantamento de atributos

Na análise das nove amostras de chás de passifloras oferecidas aos provadores, os atributos levantados pela equipe por meio do método de *Repertory Grid* (MEILGAARD *et al.*, 1999) são apresentados na Tabela 10, assim como as descrições dos atributos e as identificações dos provadores que citaram cada atributo.

**Tabela 10** Atributos levantados pelos provadores, a descrição e identificações dos provadores que citaram cada atributo.

Atributos	Definições	Provadores
<b>APARÊNCIA</b>		
<b>Cor amarela</b>	Intensidade da cor amarela.	A,B,C,D,E,F,G,H,I
<b>Translucidez</b>	Passagem da luz com facilidade pelo líquido.	A,B,C,D,E,F,G,H,I
<b>AROMA</b>		
<b>Aroma adocicado</b>	Refere-se ao aroma doce.	A,B,C,D,E,F,G,H,I
<b>Aroma artificial de maracujá</b>	Aroma característico de maracujá não natural.	A
<b>Aroma de peixe</b>	Aroma suave de peixe fresco.	A,B,C,E,F,G,H
<b>Aroma de alga-marinha</b>	Aroma da alga-marinha que envolve o temaki.	D
<b>Aroma de passado</b>	Aroma de algo que está perto da data de vencimento.	I
<b>Aroma de terra</b>	Refere-se ao aroma característico de terra molhada.	G
<b>Aroma de folha verde</b>	Aroma característico da folha mais velha.	B,D,F,I
<b>Aroma de chá preto</b>	Aroma característico do chá preto.	A,D,E,F,G
<b>Aroma de mel</b>	Aroma característico do mel de abelha.	A,B,G
<b>Aroma de casca verde</b>	Aroma de fruta que ainda não amadureceu.	G
<b>Aroma de chá verde</b>	Aroma característico de chá verde.	A,B,C,D,E,F,G,H,I
<b>Aroma de chá Erva-mate</b>	Aroma característico de chá Erva-mate.	C,I
<b>Aroma floral</b>	Aroma de flores cítricas.	E

<b>Aroma de folha seca de maracujá</b>	Aroma de folha de maracujá seca pelo sol	C,D,I
<b>SABOR</b>		
<b>Gosto amargo</b>	Refere-se ao gosto amargo.	A,B,C,D,E,F,G,H,I
<b>Gosto doce</b>	Refere-se ao gosto doce.	A,C,D,F,G,I
<b>Sabor de jiló</b>	Gosto amargo que lembra sabor de jiló.	F
<b>Sabor de folha verde</b>	Sabor de fruta verde, que prende na boca.	F
<b>Sabor de chá verde</b>	Sabor característico do chá verde.	A,B,C,D,E,F,G,H,I
<b>Sabor de chá preto</b>	Sabor característico do chá preto.	B,C,D,G,H
<b>Sabor de chá Erva-mate</b>	Sabor característico do chá Erva-mate.	C,F
<b>Sabor de chá de folha de maracujá</b>	Sabor característico de chá de folha seca de maracujá feito em casa.	I

Os provadores levantaram de 8 a 13 atributos, número parecido com os encontrados por Marcelline (2005), na análise de suco de abacaxi (7-12 atributos), com os de Willians & Arnold (1985), na análise de café (7-15 atributos) e com os encontrados no perfil livre de sucos de maracujás (8-17 atributos), conduzido por Deliza *et al.* (2005).

Em relação à aparência, todos os provadores indicaram as mesmas e únicas características importantes, que foram os atributos “cor amarela” e “translucidez”. Já para o aroma, somente dois atributos foram citados por todos os provadores, o aroma adocicado e o aroma de chá verde. Aroma de peixe (7 julgadores), de alga-marinha (1 julgador) e de passado (1 julgador) foram observados pelos 9 provadores, e acredita-se que seja para descrever a mesma característica porém de forma diferente. O aroma de terra e o aroma de casca verde foram citados por somente um julgador (julgador G).

Em relação ao sabor, o gosto amargo e o sabor de chá verde foram citados por todos os provadores. O gosto doce não foi citado apenas pelos provadores B, E e H.

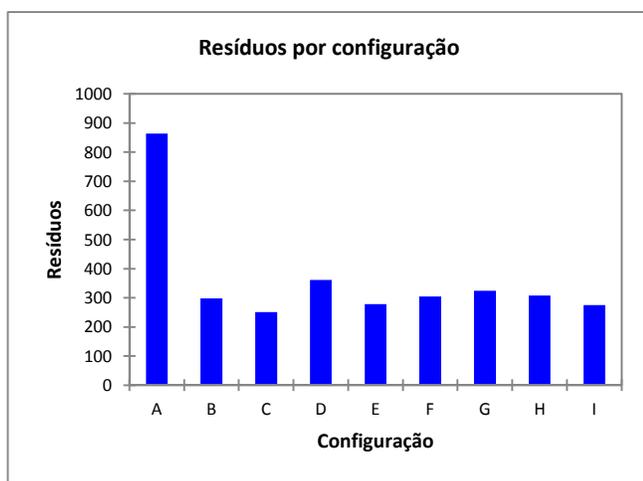
As características de sabor de jiló e de sabor de folha verde foram citadas apenas pelo julgador F, da mesma forma que o atributo sabor de chá de folha de

maracujá foi citado apenas pelo provador I. Esse mesmo julgador relatou já ter consumido chá de folha de maracujá.

### 3.2.2.3 Avaliação das amostras

#### 3.2.2.3.1 Desempenho dos provadores

Os provadores foram avaliados pelos valores das variâncias residuais (Figura 13). Os valores mais altos indicam maiores diferenças entre a configuração das amostras, obtida pelo provador, e a configuração do consenso, bem como grande variação do provador entre as sessões de avaliação (repetibilidade). A avaliação dos resíduos mostrou que somente um provador (A) estava bastante afastado dos demais, o que implicaria discordância de seus julgamentos com os da equipe. Optou-se, então, por desconsiderar os resultados desse provador.



**Figura 13** Variâncias residuais dos provadores.

Benassi *et al.* (1998), em sua avaliação sensorial de vinhos brancos de vinhas Riesling, encontraram mais provadores em desacordo com o consenso e desconsideraram os resultados de três deles.

### **3.2.2.3.2 Análise das infusões**

Embora muitos atributos tenham sido levantados pelos provadores, alguns deles não apresentaram alta correlação com as dimensões obtidas pela Análise de Componentes Principais do consenso. Foram usadas para explicação as duas primeiras dimensões (D1 e D2), e, como ponto de corte, valores de coeficiente de correlação iguais ou superiores ao módulo 0,5 para identificar as variáveis mais importantes. Os atributos que mostraram maior correlação para as duas primeiras dimensões estão descritos na Tabela 11.

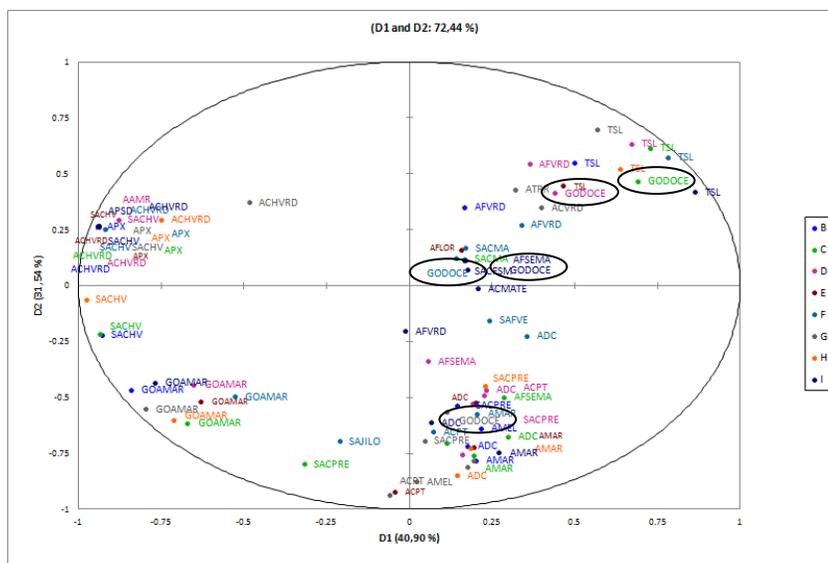
**Tabela 11** Atributos com maior correlação ( $r < -0,50$  ou  $r > 0,50$ ) para cada provador nas avaliações das amostras.

Provadores	Dimensão 1(D1)	Dimensão 2(D2)
B	Translucidez (0.500) Aroma de peixe (-0.941) Aroma de chá verde (-0.940) Gosto amargo (-0.841) Sabor de chá verde (-0.929)	Cor amarela (-0.781) Translucidez (0,548) Aroma adocicado (-0.715) Aroma de mel (-0.637) Sabor de chá preto (-0.536)
C	Translucidez (0.726) Aroma de peixe (-0.941) Gosto amargo (-0.671) Gosto doce (0.689) Sabor de chá verde (-0.935)	Cor amarela (-0.759) Translucidez (0.617) Aroma adocicado (-0.673) Aroma de chá mate (-0.702) Gosto amargo (-0.613) Sabor de chá preto (-0.798)
D	Translucidez (0.672) Aroma de alga marinha (-0.938) Aroma de chá verde (-0.941) Gosto amargo (-0.652) Sabor de chá verde (-0.880)	Cor amarela (-0.752) Translucidez (0.635) Aroma de folha verde (0.543) Sabor de chá preto (-0.529)
E	Aroma de peixe (-0.941) Aroma de chá verde (-0.941) Gosto amargo (-0.630) Sabor de chá verde (-0.941)	Cor amarela (-0.723) Aroma adocicado (-0.524) Aroma de chá preto (-0.922) Gosto amargo (-0.516)
F	Translucidez (0.780) Aroma de peixe (-0.921) Aroma de chá verde (-0.941) Gosto amargo (-0.527) Sabor de chá verde (-0.941)	Translucidez (0.575) Aroma de chá preto (-0.654) Sabor de jiló (-0.695)
G	Translucidez (0.569) Aroma de peixe (-0.940) Gosto amargo (-0.798) Sabor de chá verde (-0.941)	Cor amarela (-0.783) Translucidez (0.697) Aroma adocicado (-0.809) Aroma de chá preto (-0.934) Aroma de mel (-0.876) Gosto amargo (-0.552) Gosto doce (-0.564) Sabor de chá preto (-0.692)
H	Translucidez (0.638) Aroma de peixe (-0.938) Aroma de chá verde (-0.749) Gosto amargo (-0.714) Sabor de chá verde (-0.976)	Cor amarela (-0.728) Translucidez (0.525) Aroma adocicado (-0.849) Gosto amargo (-0.602)
I	Translucidez (0.864) Aroma de passado (-0.939) Aroma de chá verde (-0.940) Gosto amargo (-0.771) Sabor de chá verde (-0.939)	Cor amarela (-0.747) Aroma adocicado (-0.613)

A D1 apresentou 40.73% de explicação e foi correlacionada, principalmente, com atributos de aroma (aroma de chá verde, aroma de peixe, aroma de alga marinha e aroma de passado) e de sabor (gosto amargo e sabor de chá verde), e apresentaram alta correlação. O atributo de translucidez também apresentou alta correlação para todos os provadores; foi o único que se correlacionou no plano positivo da D1 para os provadores, individualmente; os outros atributos foram associados no plano negativo.

A D2 apresentou 32.35% de explicação e foi correlacionada, principalmente, com os atributos de aparência (cor amarela e translucidez). O atributo de translucidez também foi correlacionado do lado positivo dessa dimensão para quase todos os provadores, já a cor amarela também obteve alta correlação para quase todos os provadores (exceto provador F). Os atributos de aroma, principalmente os aromas: adocicado, de mel, de chá mate, de chá preto também apresentaram alta correlação nessa dimensão.

As sobreposições de cada atributo e o consenso são apresentadas na Figura 14, que mostra o desempenho dos provadores, individualmente e em grupo, permitindo a análise dos atributos que foram interpretados de forma semelhante pelo grupo.



**Figura 14** Sobreposição de cada atributo e o consenso.

**Os atributos são:** AMAR – cor amarela, TSL – translucidez, ADC – aroma adocicado, AAMCJ – aroma artificial de maracujá, APX – aroma de peixe, AAMR – aroma de alga-marinha, APSD – aroma de passado, ATRR – aroma de terra, AFVRD – aroma de folha verde, ACPT – aroma de chá preto, AMEL – aroma de mel, ACVRD – aroma de casca verde, ACHVRD – aroma de chá verde, ACMATE – aroma de chá de erva-mate, AFLOR – aroma floral, AFSEMA – aroma de folha seca de maracujá, GOAMAR – gosto amargo, GODOCE – gosto doce, SAJILO – sabor de jiló, SAFVE – sabor de folha verde, SACHV – sabor de chá verde, SACPRE – sabor de chá preto, SACMA – sabor de chá de erva-mate, SACFSM – sabor de chá de folha de maracujá.

Um consenso alto foi observado para o gosto amargo, talvez por causa da amostra de chá verde, que foi altamente correlacionado com esse atributo, como observado na D1 (Tabela 11). Pode-se também encontrar uma associação entre os termos: aroma de chá verde, aroma de peixe, aroma de passado e aroma de alga marinha, provavelmente indicando formas diferentes de interpretar a mesma característica de aroma, além do atributo sabor de chá verde, que também foi associado a esses aromas.

O consenso para a cor amarela, translucidez e aroma adocicado também pode ser destacado (Tabela 11).

A falta de consenso do atributo gosto doce (circulado na figura) é visível e pode indicar que outros atributos podem estar confundindo os provadores para a sua quantificação, provavelmente o gosto amargo. Como verificado na análise de açúcares totais (Figura 10), os valores de açúcares encontrados na infusão são bem menores do que os valores de limiar de detecção; com isso, é pouco provável que esse gosto doce, atribuído por alguns provadores, seja determinante na percepção da doçura, fazendo que fique confusa a sua real percepção.

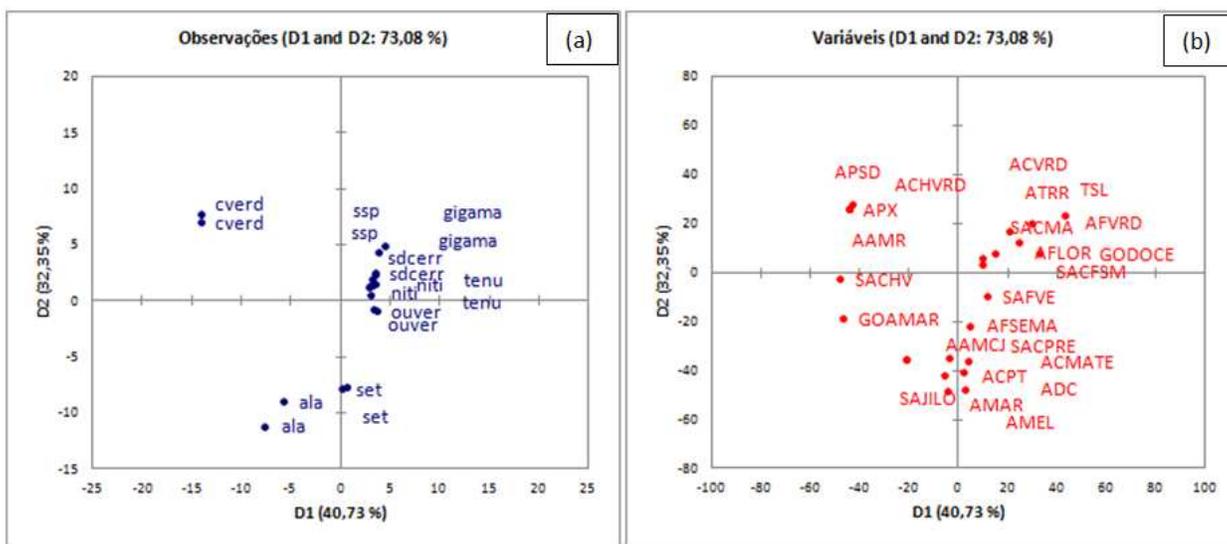
### **3.2.2.3.3 Análise de Componentes Principais (ACP) da configuração de consenso**

Técnicas de ajustes de matriz, tais como Análise Procrustes Generalizada (GPA, sigla em inglês), sempre produzem uma matriz de concordância máxima que pode ser usada para representar graficamente as amostras. A Análise de Variância e a Análise de Componentes Principais (ACP) são importantes ferramentas na interpretação dos resultados.

A ACP procura uma combinação linear das variáveis, a fim de maximizar o valor da variância total explicada. Se as variáveis são altamente correlacionadas, elas serão combinadas em uma dimensão que irá explicar o maior valor de variância da amostra (D1). A segunda dimensão (D2) explica o segundo maior valor de variância, e que não serão correlacionadas com a primeira dimensão. (FÁVERO *et al.*, 2009; KING & ARENTS, 1991).

A soma da porcentagem de explicação das duas primeiras dimensões (D1xD2) foi de 72,44%. De acordo com Johnson & Wichern (1992), se grande parte da variabilidade total, mais de 70%, pode ser explicada pelas 2 primeiras componentes principais, não haverá grandes perdas de informações. O estudo de Verruma-Bernardi & Damásio (1999) se referiu a 91,47% de explicação, na análise de queijos; o de Marcellini (2005), a 93,57%, para suco de abacaxi e o de Deliza *et al.*, (2005), a 78,70%, para suco de maracujá.

Na figura 15a e 15b estão representadas os resultados da Análise de Componentes Principais (ACP) da configuração de consenso, em gráfico bidimensional (D1xD2), aplicada aos resultados da análise de Perfil Livre das 9 amostras de chás avaliados.



**Figura 15** Análise dos Componentes Principais (ACP) dos dados de Perfil Livre gerada pelo plano fatorial (D1xD2).

- a) Configuração das observações. Legenda: ver Figura 10 (pág. 77).  
 b) Configuração das variáveis. Legenda: ver Figura 17 (pág. 88).

No gráfico, as variáveis próximas umas das outras estão inter-relacionadas, as variáveis mutuamente distantes não estão relacionadas, ou estão negativamente relacionadas.

Na ACP (figura 15a) percebe-se a formação de 4 grupos com amostras de chás distintas. Bastante afastada das demais amostras, o chá verde (cverd) aparece no primeiro quadrante, positivamente correlacionado com os atributos de aroma de chá verde, sabor de chá verde, aroma de peixe, aroma de passado e aroma de alga marinha. Podemos atribuir esse afastamento das demais amostras por ser a única folha que não pertence à família passiflorácea.

A *Passiflora alata* (ala), também um pouco afastada das demais espécies, está correlacionada com os atributos gosto amargo e sabor de jiló. Mesmo que o atributo sabor de jiló tenha sido citado somente 1 vez (provador F), percebe-se que o provador fez uma correlação entre o sabor amargo do jiló e o sabor que ele percebeu na amostra, já que o gosto amargo foi o atributo citado por todos os provadores e que correlacionou-se com essa amostra.

Bem próximo da *P. alata* (ala) encontra-se a *P. setacea* (set), cujos atributos: aroma adocicado, aroma de mel, aroma e sabor de chá preto, aroma de chá mate e a cor amarela caracterizam fortemente essa amostra, para os provadores.

No último grupo formado pela ACP, as demais amostras: *P. tenuifila* (tenu), *P. nitida* (niti), *P. edulis* BRS Sol do Cerrado (sdcerr), *P. edulis* BRS Ouro Vermelho (ouver), *P. edulis* BRS Gigante Amarelo (gigama) e *P. ssp* (macom) encontram-se bem próximas entre si, o que sugere que essas amostras possuem perfis sensoriais semelhantes. Para essas amostras, os atributos que mais se destacaram foram: gosto doce, aroma de folha verde, aroma de terra, aroma floral e translucidez.

### **3.2.3 Análise de aceitação**

#### **3.2.3.1 Mapa de preferência interno**

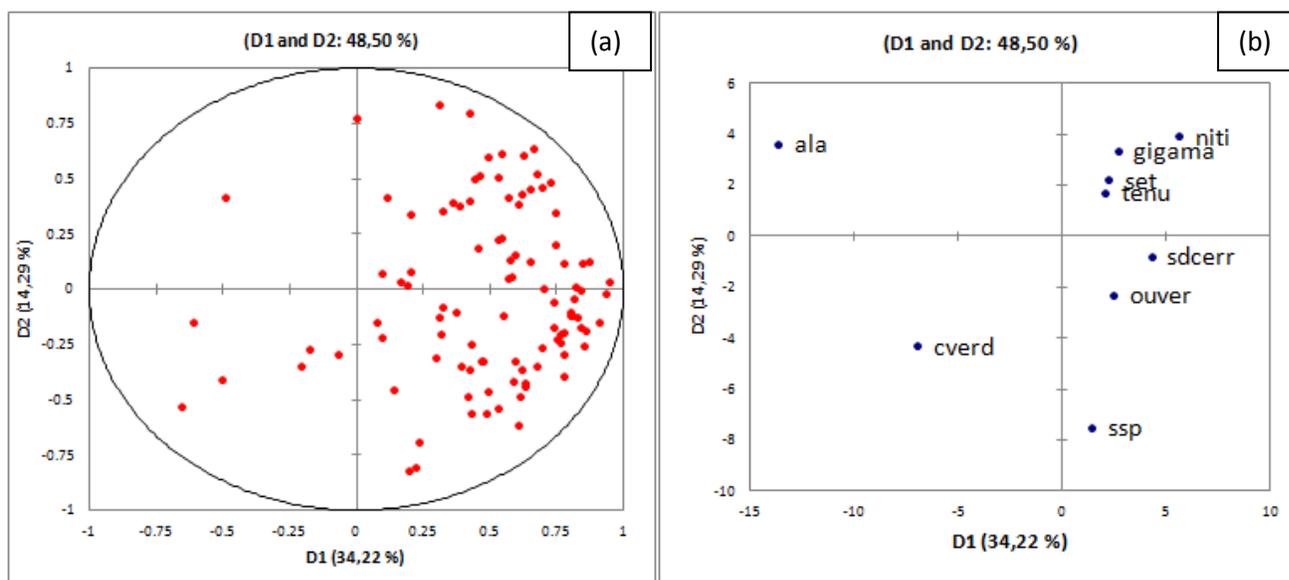
Das 180 fichas de recrutamento distribuídas (**ANEXO 14**), somente 100 participantes foram selecionados, por preencherem o critério estabelecido de consumo de chás gelados em geral (consumo acima de 2 vezes/mês) – do item 10 da ficha de recrutamento. Os 100 provadores foram recrutados e avaliaram individualmente as 9 amostras de chás, de acordo com o delineamento apresentado no **ANEXO 15**, utilizando a ficha de avaliação (escala hedônica estruturada de 9 pontos) para cada chá.

Geralmente, após a realização dos testes afetivos, os dados são analisados estatisticamente por meio da análise de variância e de testes de comparação de médias. Dessa forma, para cada produto avaliado obtém-se a média do grupo de consumidores, assumindo-se, portanto, que todos os consumidores possuem o mesmo

comportamento, desconsiderando-se suas individualidades. Com isso, pode estar ocorrendo perda de importantes informações (MININ, 2006).

Sendo assim, a partir das notas dos provadores, foi realizada a análise do Mapa de Preferência Interno, que foi construído de forma a considerar as preferências individuais de cada provador. A primeira dimensão (D1) explicou 34,22%, a segunda (D2) 14,29%, totalizando 48,50% de explicação da variância entre as amostras, quanto à sua aceitação.

As duas dimensões (D1xD2) estão apresentadas nas figuras 16. Os dados de cada provador foram representados como um ponto no espaço; indivíduos com similaridades em uma ou mais propriedades (nesse caso, que tenham opinião semelhante sobre os produtos) estão próximos entre si (Figura 16a). Na Figura 16b, estão apresentadas as cargas (“loadings”) das variáveis (amostras). Para facilitar a visualização, as amostras não estão apresentadas na forma de vetores, mas representadas como pontos. A concentração de consumidores na região da amostra indica maior ou menor aceitação.



**Figura 16** Mapa de preferência interno: D1xD2

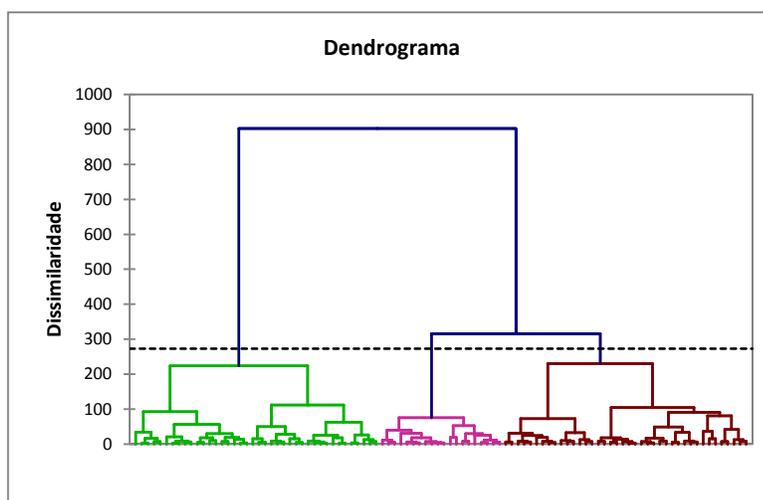
- c) Configuração das variáveis
- d) Configuração das observações. Legenda: ver Figura 10 (pág. 77).

A separação espacial sugere a existência de três grupos, de acordo com a aceitação das amostras de chás. No primeiro grupo, formado pela amostra de chá verde, percebe-se a aceitação por um grupo muito reduzido de provadores, talvez provadores que já apreciam o chá verde. Para *Passiflora alata*, foi observada aceitação inferior, já que esta se apresenta no quadrante superior esquerdo do mapa, associada a apenas um provador.

O terceiro grupo é formado pelas demais passifloras: *P. nitida*, *P. tenuifila*, *P. edulis* cv. BRS Sol do Cerrado, *P. edulis* cv. BRS Gigante Amarelo, *P. edulis* cv. BRS Ouro Vermelho e *P. ssp*, que se apresentaram do lado direito da figura (Figura 16b), onde também se posicionou a maioria dos consumidores (Figura 16a). Essas mesmas amostras foram identificadas com perfis sensoriais semelhantes, relatadas pela análise descritiva do Perfil Livre, como mostra a Figura 15.

### **3.2.3.2 Divisão e identificação dos clusters**

Os resultados de aceitação foram submetidos à Análise de *Clusters* Aglomerativa Hierárquica (CAH), para segmentar os provadores segundo suas preferências. A importância de segmentar os provadores em *clusters* reflete-se em uma avaliação mais criteriosa da aceitação do produto em questão, pois a média global não reflete, necessariamente, a aceitação dos grupos (LIMA *et al.*, 2007). Com isso, foi realizado a CAH com os valores hedônicos atribuídos pelos 100 consumidores em relação às 9 amostras (Figura 17).



**Figura 17** Dendrograma mostrando a segmentação dos consumidores.

Os consumidores foram separados em três *clusters* ou segmentos, de acordo com a dissimilaridade das notas atribuídas às amostras. A divisão e o número de provadores por *cluster* estão apresentados na Tabela 12.

**Tabela 12** Segmentação em clusters dos provadores de chás.

<i>CLUSTER</i>	NÚMERO DE CONSUMIDORES
<b>1</b>	40
<b>2</b>	20
<b>3</b>	40
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>

O perfil demográfico dos provadores da análise de aceitação dos chás foi obtido pela análise de frequência dos dados dos questionários de recrutamento (anexo 14). A Tabela 13 apresenta o perfil demográfico dos participantes separados nos 3 *clusters*.

**Tabela 13** Perfil demográfico dos participantes segmentados em três clusters

Características	Descrição	Frequência (%)	Frequência (%)	Frequência (%)	Total (%) (n=100)
		Segmento 1 (n=40)	Segmento 2 (n=20)	Segmento 3 (n=40)	
<b>Idade</b>	18 - 29 anos	77,5	85	80	80
	30 - 39	15	15	7,5	12
	40 - 49	2,5	0	7,5	4
	50 - 59	5	0	5	4
<b>Sexo</b>	Feminino	65	75	57,5	64
	Masculino	35	25	42,5	36
<b>Ocupação</b>	Aluno	65	70	75	70
	Funcionário	17,5	20	20	19
	Professor	2,5	0	2,5	2
	Outro	15	10	2,5	9
<b>Escolaridade</b>	Ens. Fundamental completo	0	0	0	0
	Ens. Médio completo	10	5	5	7
	Superior incompleto	77,5	85	72,5	77
	Superior completo	10	5	20	13
	Outro	2,5	5	2,5	3
<b>Renda familiar</b>	1 a 5 Salário/mês	42,5	30	17,5	30
	>5 a 10 Salário/mês	27,5	30	35	31
	>10 a 20 Salário/mês	30	40	47,5	39

A faixa etária compreendida entre 18 – 29 anos, a ocupação “aluno” e a escolaridade de ensino superior incompleto predominaram em todos os grupos, muito provavelmente por ter a pesquisa sido aplicada no Laboratório de Análise Sensorial da UCB, onde grande parte da população é de estudantes de ensino superior. Outro dado predominante nos 3 *clusters* foi o sexo feminino. A renda familiar variou, nos 3 *clusters*; no *cluster 1* a maioria do grupo tem renda entre 1 a 5 salário/mês, já nos *cluster 2* e 3 a renda familiar foi maior (>10 a 20 salário/mês).

No mesmo questionário de recrutamento (**ANEXO 14**) pesquisou-se também o conhecimento do produto (chá gelado de maracujá), a aceitação pelo sabor de maracujá e frequência de consumo, sendo este último item o critério de seleção para os provadores da pesquisa (consumo acima de 2 vezes/mês). A Tabela 14 apresenta o perfil avaliado, separados nos 3 *clusters*.

**Tabela 14** Conhecimento, aceitação e frequência de consumos de chás gelados segmentados em três clusters.

Questões	Opções	Frequência (%) Segmento 1 (n=40)	Frequência (%) Segmento 2 (n=20)	Frequência (%) Segmento 3 (n=40)	Total (%) (n=100)
<b>Gosta do sabor maracujá?</b>	Sim	100	100	100	100
	Não	0	0	0	0
<b>Conhece chá gelado de maracujá?</b>	Sim	12,5	10	10	11
	Não	87,5	90	90	89
<b>Consome chá gelado em geral?</b>	≥3 vezes/semana	15	5	5	9
	≥2 vezes/semana	25	40	17,5	25
	1 vez/semana	32,5	20	27,5	28
	≥ 2 vezes/mês	27,5	35	50	38
	Raramente	0	0	0	0
	Não consome	0	0	0	0

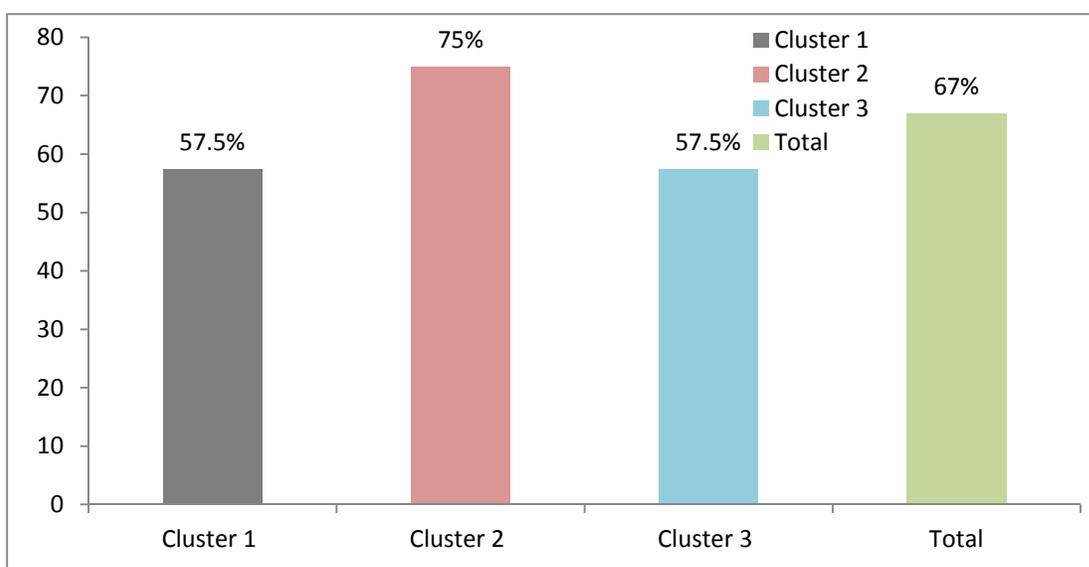
Todos os participantes declararam gostar do sabor maracujá, o que reflete a boa aceitação do sabor dessa fruta por esse grupo de provadores. Quando perguntados se era conhecido algum chá de maracujá, a grande maioria, nos três *clusters*, negou. Com essa informação, constata-se que o chá gelado de maracujá, industrializado, ainda não é muito conhecido pela população local, embora um pequeno grupo de provadores já tivesse provado o Chá Nestea Maracujá, da marca Nestlé®. É importante lembrar, porém, que esse produto é fabricado à base de chá preto (*Camellia sinensis*), não da folha de passiflora, e aromatizado com sabor de maracujá, provavelmente da polpa e comercializado em lata de alumínio.

O consumo de chás gelados, em geral, foi o que diferenciou os três *clusters*. Percebe-se que a maior frequência de consumo ( $\geq 3$  vezes/semana) situa-se entre os provadores do *cluster 2* (40%). A segunda maior frequência de consumo ( $\geq 2$  vezes/semana) ocorre entre os provadores do *cluster 1* (32,5%).

Já para o *cluster 3*, a metade dos consumidores revelou que poucas vezes consomem chás gelados, somente 1 vez por semana, relacionando-se a baixa frequência de consumo (Tabela 14).

### 3.2.3.3 Aplicação do questionário atitudinal

Como se trata de um alimento natural, para fins de promoção da saúde, sem adição de açúcar, aditivos ou conservantes, aplicou-se um questionário atitudinal, com o objetivo de traçar as atitudes dos provadores em relação à saúde. O questionário foi aplicado logo após a avaliação de aceitação dos chás. A Figura 18 apresenta o comportamento, separados de acordo com os três *clusters* e em geral, relacionado ao interesse geral em saúde, com os dados relativos ao questionário atitudinal.



**Figura 18** Comportamento dos clusters relacionado ao interesse geral em saúde.

O *cluster 2* se destacou quanto ao interesse geral em saúde (75%). Esse comportamento pode ser associado com a alta frequência de consumo de chás, em geral (tabela 12).

### 3.2.3.4 Notas médias de aceitação global

Os resultados da análise de aceitação de cada amostra, separados por *clusters* e de todos os provadores juntos, foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e teste de comparação de médias (Tukey,  $p \leq 0,05$ ). As notas médias encontradas estão apresentadas na Tabela 15.

**Tabela 15** Notas médias de aceitação das amostras de chás considerando cada cluster e a média geral.

Amostras	CLUSTER 1	CLUSTER 2	CLUSTER 3	MÉDIA GERAL
Alata	2,8±2,01 <sup>b</sup>	1,3±0,73 <sup>c</sup>	2,05±1,55 <sup>d</sup>	2,20 <sup>c</sup>
P. ssp (comercial)	5,35±1,93 <sup>a</sup>	5,8±1,57 <sup>a</sup>	3,05±1,88 <sup>abcd</sup>	4,52 <sup>a</sup>
Chá verde	5,45±1,82 <sup>a</sup>	1,8±1,05 <sup>c</sup>	2,35±1,40 <sup>cd</sup>	3,48 <sup>b</sup>
G. Amarelo	5,8±1,46 <sup>a</sup>	4,9±1,61 <sup>a</sup>	3,52±1,72 <sup>abc</sup>	4,71 <sup>a</sup>
Nitida	5,87±1,65 <sup>a</sup>	5,15±1,72 <sup>a</sup>	4,17±1,99 <sup>a</sup>	5,05 <sup>a</sup>
Tenuifila	5,95±1,62 <sup>a</sup>	5,45±1,31 <sup>a</sup>	2,62±1,62 <sup>bcd</sup>	4,52 <sup>a</sup>
O. Vermelho	5,97±1,51 <sup>a</sup>	4,95±1,70 <sup>a</sup>	3,57±1,67 <sup>ab</sup>	4,81 <sup>a</sup>
S. do Cerrado	6,05±1,51 <sup>a</sup>	5,25±1,48 <sup>a</sup>	3,75±1,49 <sup>ab</sup>	4,97 <sup>a</sup>
Setacea	6,22±1,36 <sup>a</sup>	3,4±1,53 <sup>b</sup>	3,95±2,14 <sup>a</sup>	4,75 <sup>a</sup>

\*Médias seguidas por letras iguais numa mesma coluna indicam que não há diferença estatística entre as médias de acordo com o teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

O primeiro *cluster* foi formado por provadores que não diferenciaram muito as amostras. O único chá, para esse grupo, que foi considerado estatisticamente diferente dos demais e obteve menor aceitação ( $p \leq 0,05$ ), foi o chá de *Passiflora alata*. Diferentemente dos demais *clusters*, o chá verde não se diferenciou ( $p \geq 0,05$ ), quanto a aceitação, das demais amostras.

O segundo *cluster* foi formado por provadores que, além da *P. alata*, também diferenciaram das demais amostras ( $p < 0,05$ ), a *P. setacea* e o chá verde, sendo que esse último não diferenciou estatisticamente do chá da *Passiflora alata*.

Já o terceiro *cluster* foi o que menos gostou de todas as amostras, pois em comparação com os *clusters* 1 e 2, foram atribuídas as menores médias para maioria dos chás. Ainda assim, podemos perceber que o chá da *P. alata* também recebeu o menor valor para aceitação. Avaliando-se o perfil desse *cluster* (Tabela 14), verificou-se que esse, foi o que apresentou menor frequência de consumo de chás gelados, o que pode ser um fator importante na avaliação das amostras.

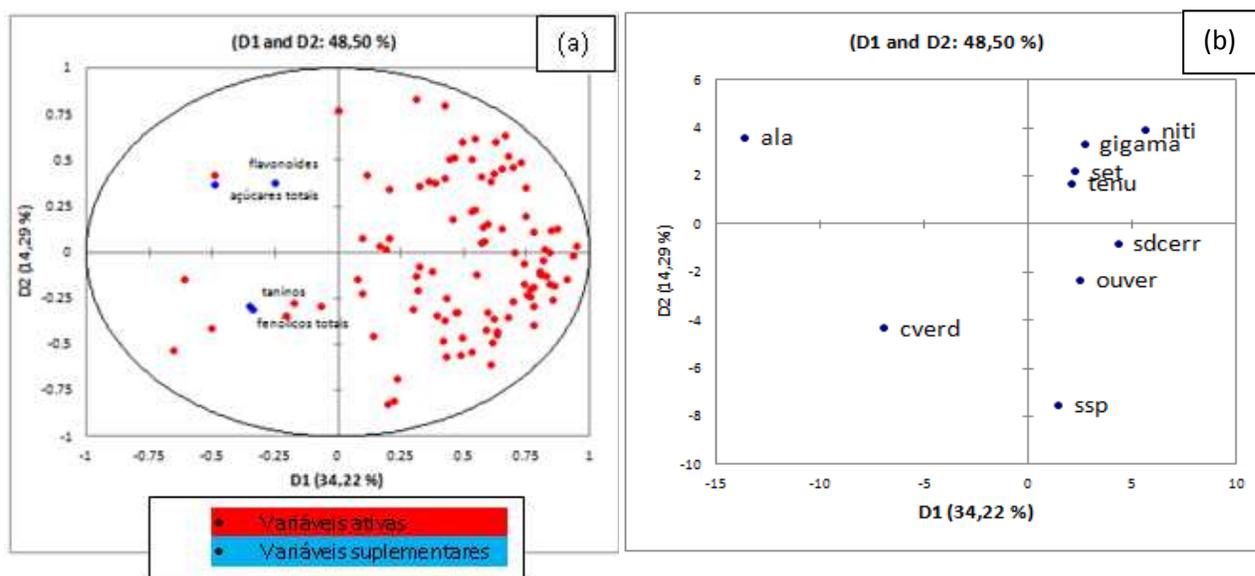
De uma maneira geral, podemos perceber que nenhum chá obteve uma boa aceitação entre os provadores. Na média geral, a amostra que teve o maior valor de aceitação (média = 5,05, que, na escala, corresponde a “indiferente”) foi a *Passiflora*

*nitida*. E a que teve menor aceitação foi a *P. alata* (média = 2,20), seguida do chá verde (média = 3,48).

### 3.2.3.5 Mapa de preferência extendido (individual)

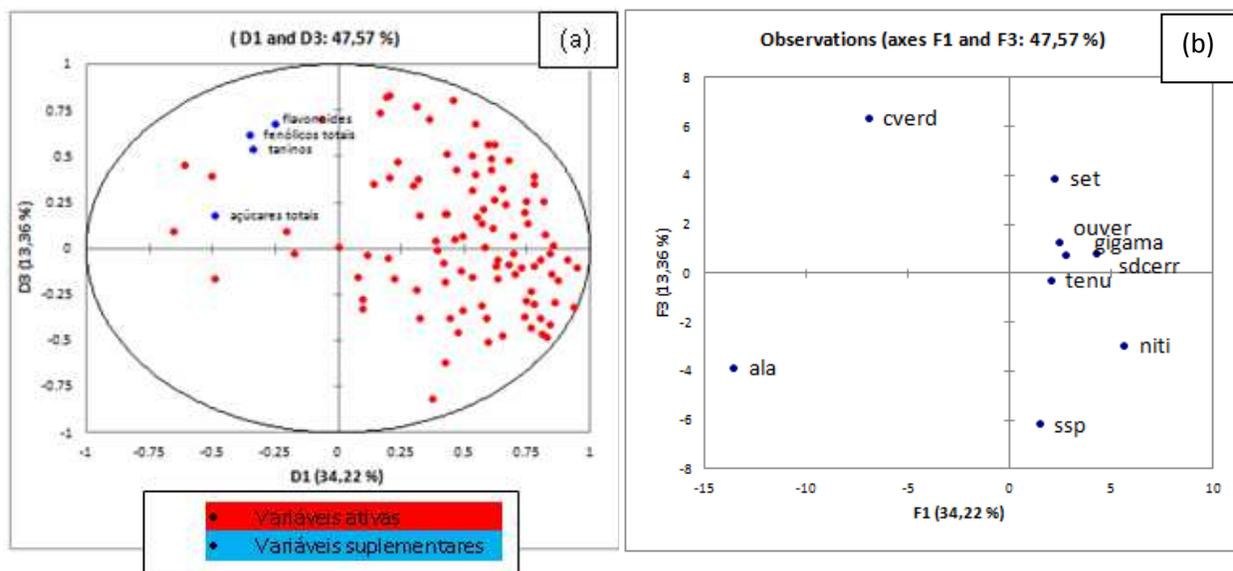
Com os resultados das análises químicas (açúcares totais, flavonoides, fenólicos totais e taninos) e do teste de aceitação, foi possível a elaboração do Mapa de Preferência Extendido. Esse mapa dá indícios de quais compostos químicos podem estar associados à preferência ou rejeição para um determinado grupo de consumidores.

Utilizando-se dois planos bidimensionais (D1xD2) e (D1xD3), as representações gráficas geradas pelo Mapa de preferência extendido para cada indivíduo estão apresentadas nas figuras 19 e 20.



**Figura 19** Mapa de preferência extendido para as dimensões (individual): D1 e D2

- Variáveis
- Observações. Legenda: ver Figura 10 (pág. 77).



**Figura 20** Mapa de preferência estendido para as dimensões (individual): D1 e D3

- a) Variáveis  
b) Observações. Legenda: ver Figura 10 (pág. 77).

O mapa de preferência estendido sugere que as amostras que apresentaram maiores quantidades de compostos fenólicos totais, taninos, flavonoides e açúcares totais foram as menos aceitas entre as amostras avaliadas (Figuras 19a e 20a).

Nas duas primeiras dimensões (Figura 19), observa-se que há uma maior correlação entre o chá da *P. alata* e os componentes químicos: flavonoides e açúcares totais, o que não ocorreu na D3 (Figura 20) já que essa correlação foi explicada em maior proporção pela D2. No plano (D1xD3), a correlação de todos os componentes químicos foi maior com o chá verde.

Conforme apresentado nas figuras 19 e 20, as amostras de *P. alata* e de chá verde foram as que sofreram maior rejeição dos consumidores. Alguns trabalhos apontam a correlação entre gosto amargo e adstringência e a presença de compostos fenólicos (VERRUMA-BERNARDI et al., 2007; GIADA & MANCINI-FILHO, 2004), o que, neste trabalho, demonstra um resultado bastante coerente, quando examinados os resultados das análises químicas e de aceitabilidade do chá verde.

Entretanto, o chá da *Passiflora nitida* não seguiu esse critério, pois, entre os chás de passifloras analisados, essa bebida foi a que apresentou maiores quantidades de compostos fenólicos (Tabela 5), e a média da sua aceitabilidade, entre os consumidores, foi a mais alta entre as de todos os produtos avaliados (Tabela 15).

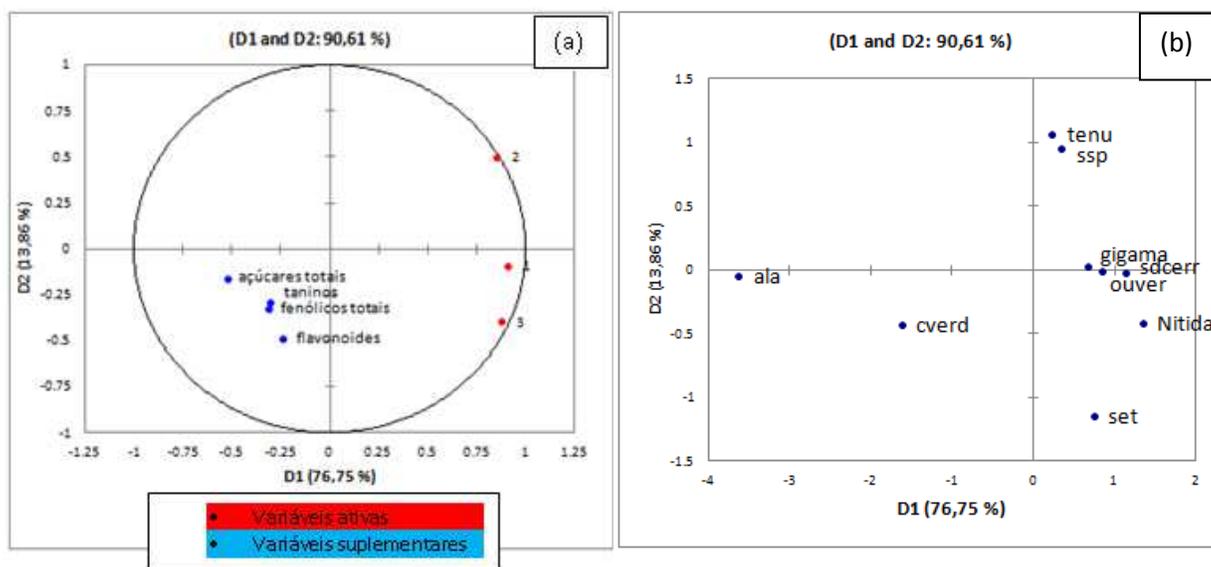
Um ponto importante a ser destacado é o fato da infusão de chá verde ter revelado quantidades muito superiores de fenólicos em relação aos demais chás de passifloras, além de ter tido baixa aceitabilidade, o que de certa forma pode influenciar na disposição das variáveis no mapa.

A possível associação da aceitabilidade da *Passiflora nitida* (Figuras 19 e 20) e correlação com o atributo gosto doce, levantado pelo Perfil Livre (Figura 15), de um modo geral, não pode ser atribuída à presença de açúcares totais (Figura 10), pois as quantidades de açúcares totais nas infusões estão muito abaixo do limiar de detecção.

Com isso, esse resultado leva a avaliar a importância de um levantamento mais detalhado de quais compostos fenólicos estão presentes nessa amostra, pois, de acordo com os resultados de aceitabilidade, podemos atribuir aos compostos presentes nessa amostra uma nota menor para o gosto amargo.

### **3.2.3.6 Mapa de preferência estendido (clusters)**

O mapa de preferência estendido (Figura 21) também foi apresentado, seguindo a separação dos três *clusters* (Figura 17). Nesse mapa foi possível confirmar as figuras 19 e 20, que revelaram a rejeição pelas amostras que apresentaram maiores teores de fenóis totais, taninos, flavonoides e açúcares totais, entre elas as da *Passiflora alata* e do chá verde. Porém, de acordo com a figura, pode-se verificar que os *clusters* 1 e 3 avaliaram as amostras, quanto a aceitabilidade, de forma semelhante.



**Figura 21** Mapa de preferência estendido para as dimensões (clusters): D1 e D2

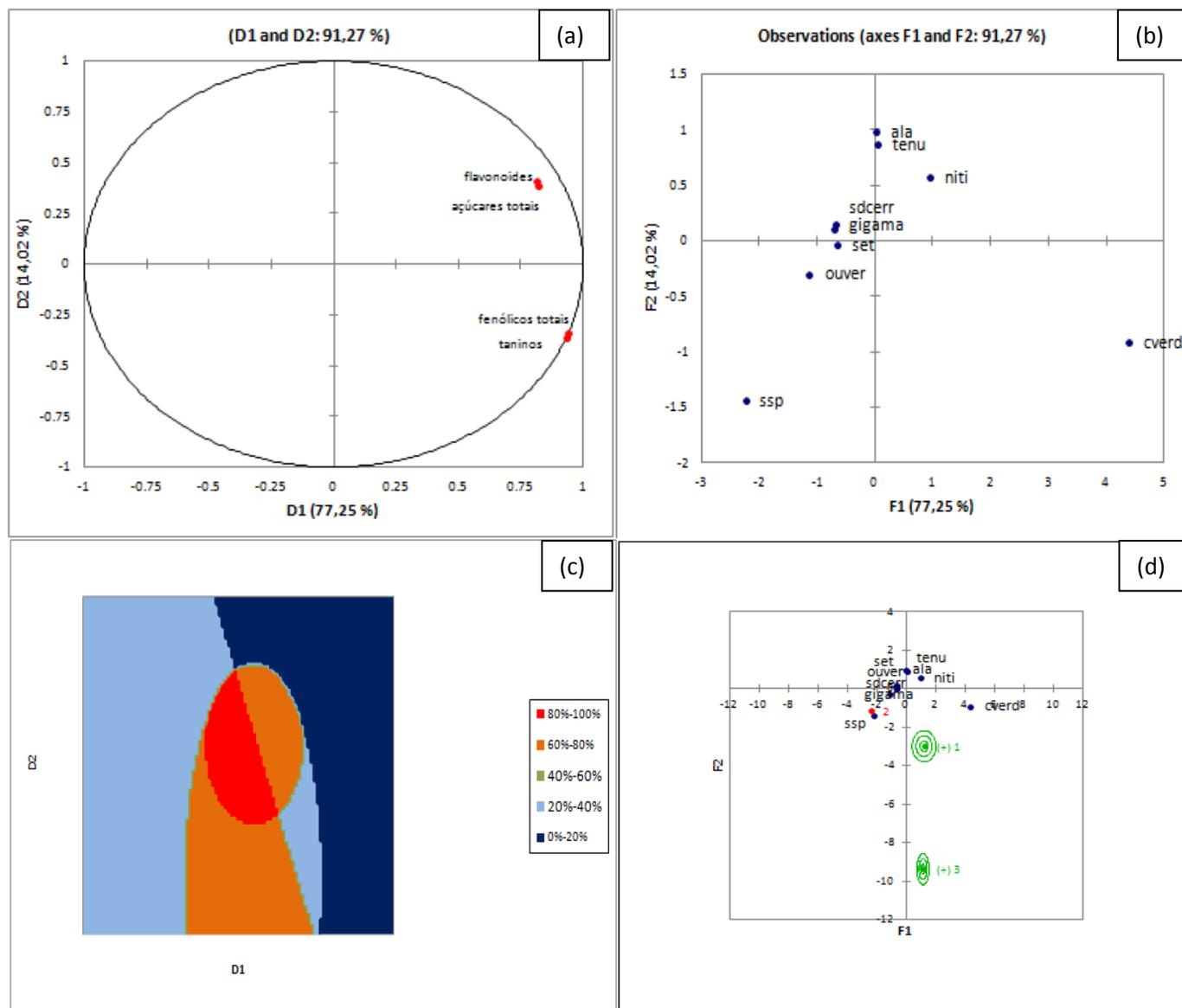
- a) Variáveis. *Clusters*: 1, 2 e 3  
 b) Observações. Legenda: ver Figura 10 (pág. 77).

O *cluster 2* preferiu as amostras de chá de *Passiflora tenuifila* e *P. ssp*, que apresentaram-se no grupo das amostras com menores quantidades dos componentes químicos analisados. Já os *clusters 1* e *3* preferiram os 3 híbridos da *Passiflora edulis*, além da *P. nitida* e *P. setacea*.

### 3.2.3.7 Mapa de preferência externo

Mapeamento dos produtos com base nas características químicas foi feito pela ACP. Os consumidores foram agrupados pela CAH para obtenção dos centroides das classes (dados de preferência inseridos no mapa). A configuração X inserida no mapa corresponde aos *scores* de fator em D1 e D2 que foram obtidas na ACP dos dados químicos. O programa realizou análise de regressão entre os dados de aceitação e os dados químicos, por meio dos modelos: vetorial para o *cluster 2*, circular ideal para o *cluster 1*, e para o *cluster 3* o modelo elíptico ideal.

Na Figura 22 estão apresentados o mapa de preferência externo (Figura 22d) e mapa de contorno (Figura 22c), e a ACP com os dados químicos (Figura 22 a,b) das 9 amostras de infusões.



**Figura 22** Análise de Componentes Principais (ACP) dos componentes químicos (a,b), Gráfico de contorno (c) e Mapa de preferência externo (d).

Legenda (b) e (d): ver Figura 10 (pág. 77).

Para cada *cluster* foi determinado o melhor modelo, pelo próprio programa estatístico. A preferência do *cluster* 1 foi representada pelo modelo circular ideal, e as amostras de chá de *Passiflora nitida* e *P. setacea* foram as que tiveram maior aceitação para esse grupo, enquanto as amostras de chá de passiflora comercial (*P. edulis* cv. BRS Sol do Cerrado, *P. edulis* cv. BRS Ouro Vermelho e *P. edulis* cv. BRS Gigante Amarelo) tiveram aceitação intermediária, e as amostras: de *P. tenuifila*, *P. alata*, *P. ssp* e chá verde foram menos aceitas.

O *cluster* 2 foi representado pelo modelo vetorial. Nesse modelo, o grau de preferência é obtido desenhando-se um vetor imaginário que passa pela origem e vai até o ponto em vermelho (representado pelo *cluster* 2). As amostras preferidas nesse *cluster* foram as de *Passiflora spp*, *P. edulis* cv. BRS Ouro Vermelho e *P. setacea*, as menos aceitas foram as amostras de chá de *P. nitida*, *P. alata* e chá verde.

Já a aceitabilidade do *cluster* 3 foi representada pelo modelo elíptico ideal. Na área em que esse modelo detecta a maior aceitação estão as amostras do chá da *P. nitida* e *P. setacea* e *P. edulis* cv. BRS Ouro Vermelho; as menos aceitas foram as amostras de *P. tenuifila*, *P. alata* e chá verde.

O programa XLSTAT 2011 também fornece um gráfico de contorno, em que se pode observar as regiões de maior e de menor aceitação (Figura 22c). Pôde-se verificar que a região de maior aceitação situa-se no centro do gráfico (região em cor vermelha), representando de 80 a 100% da preferência, opondo-se à região de menor aceitação, que representa de 0 a 20% (cor azul escuro). A ACP dos componentes químicos (Figura 22a,b) mostrou novamente a associação desses componentes com as amostras, principalmente, de chá verde, e, em seguida, com a amostra de chá da *P. nitida*, revelada também nas Tabelas 5 e 6. De acordo com o gráfico de contorno (Figura 22c), as amostras que revelam maior quantidade de componentes químicos estão dentro da região de menor aceitação, que representa de 0 a 20% (cor azul escuro), reafirmando o mapa de preferência extendido (Figura 20).

Comparando-se o mapa de preferência interno (Figura 16) com o de preferência extendido (Figura 19 e 20), pôde-se constatar que, apesar de a preferência das amostras não estar exatamente na mesma ordem, o comportamento dos provadores foi

semelhante. Analisando o mapa de preferência interno (Figura 16) a *P. nitida* apresentou uma pequena vantagem para a aceitação entre as amostras, por mais que estatisticamente, devida a sua limitação, pelo teste de média (Tabela 15), essa amostra não se tenham diferenciado na média geral da maioria das amostras. Já a menor aceitação foi, indiscutivelmente, revalada para as amostras de *P. alata* e chá verde (Figura 16 e Tabela 15).

## CONCLUSÃO

As folhas de passifloras do Cerrado, cultivadas no Distrito Federal, podem ser consideradas boas fontes de compostos fenólicos. Por ser um produto concentrado, submetido ao processo de secagem, quando comparadas com a polpa da mesma espécie, observa-se uma grande vantagem na obtenção dos compostos bioativos.

Dentre as infusões das passifloras analisadas, o chá da *Passiflora nitida* foi a que apresentou maior quantidade de fenólicos totais, seguida do chá de *P. setacea*. Já o chá da *P. ssp*, disponibilizada na farmácia popular para o consumo, foi, dentre os chás, o que apresentou menor quantidade de fenólicos totais e flavonoides.

Na quantificação dos taninos, o chá verde apresentou quantidades muito superiores que os demais chás, seguido da *P. nitida*. As demais amostras não se diferenciaram estatisticamente. Já na quantificação dos flavonoides pôde-se observar que para a extração aquosa não houve diferença estatística entre as amostras.

Para a extração das substâncias bioativas foi visto que a extração aquosa obteve melhor desempenho que a hidroalcoólica, exceto para os flavonoides.

Na análise sensorial, o grupo focal foi essencial para decidir a proporção ideal da infusão (5 gramas/L de água) e a temperatura de preferência (10°C), além da decisão por não adicionar açúcar no produto final que seria oferecido aos provadores da análise por Perfil Livre e para os consumidores na avaliação da aceitação.

As amostras que tiveram pior aceitabilidade foram o chá verde e o chá da *P. alata*, ambas associadas com o gosto amargo pelo Perfil Livre. As demais amostras também obtiveram aceitabilidade semelhante.

Os mapas de preferência indicaram que as amostras que apresentaram maiores quantidades de compostos químicos, inclusive de açúcares totais, foram as que tiveram menor aceitação.

O chá da *Passiflora nitida* não seguiu esse critério, pois foi o chá com maior índice de aceitação e maior quantidade de componentes bioativos e potencial antioxidante. Uma possível baixa associação, no gráfico, entre essa bebida e os componentes químicos analisados pode ser devido às quantidades muito superiores

desses componentes no chá verde, influenciando a disposição dos pontos das amostras no gráfico ACP.

Mesmo assim, esse resultado leva a avaliar a importância de um levantamento mais detalhado de quais compostos fenólicos estão presentes nessa amostra, pois, de acordo com os resultados de aceitabilidade, podemos atribuir aos compostos presentes nessa amostra uma nota menor para o gosto amargo.

De acordo com os resultados, concluiu-se que podemos atribuir ao chá da *Passiflora nitida* potencial valor comercial para esse tipo de produto, pois foi a bebida que forneceu, relativamente, maiores quantidades de fenólicos totais e alto potencial antioxidante *in vitro*, além de ter apresentado a aceitabilidade entre as mais altas. Porém, é importante destacar a consideração levantada pelo grupo focal, que pontuaram a necessidade de valer-se de aditivos (aromatizantes), para se obter o gosto característico de maracujá, pois foi unânime a informação de que os chás não tinham sabor que lembrasse o de maracujá, alegando ser, esse, um fator importante na melhora do sabor final do produto.

## REFERÊNCIAS

ABE, L.T.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Comparison of phenol content and antioxidant capacity of nuts. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 30 (1): 254-259, 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA (Brasil). Portaria n.398, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedade Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rótulos de Alimentos. **Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil**. Brasília, 03 maio. 1999. Disponível em: [http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=11297&mode=PRINT\\_VERSION](http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=11297&mode=PRINT_VERSION)>. Acesso em: 27 out. 2011. 1999a.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA (Brasil). Resolução n.19, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedade Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rótulos de Alimentos. **Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil**. Brasília, 03 nov. 1999. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=109>>. Acesso em: 27 out. 2011. 1999b.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA (Brasil). Portaria n.18, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimentos com Alegação de Propriedade Funcionais em sua rotulagem. **Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil**. Brasília, 10 dez. 1999. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=110>>. Acesso em: 27 out. 2011. 1999c.

AGOSTINI-COSTA, T.S.; JALES, K.A.; GARRUTI, D.S.; PADILHA, V.A.; LIMA, J.B.; AGUIAR, M.J.; PAIVA, J.R. Teores de ácido anacárdico em pedúnculos de cajueiro *Anacardium microcarpum* e em oito clones de *Anacardium occidentale* var. *nanum* disponíveis no Nordeste do Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n.2, p. 1175-1180, 2004.

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: Técnicas de extração. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.

ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Ver. Inst. Adolfo Lutz**, 66(1), p. 232-240, 2007.

ANJO, D. L. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Journal Vascular Brasileiro**, v. 3, n. 2, 145-154, 2004.

ARAI, S.; MORINAGA, Y.; YOSHIKAWA, T.; ICHIISHI, E.; KISO, Y.; YAMAKASI, M.; MOROTOMI, M.; SHIMIZU, M.; KUWATA, T.; KAMINOGAWA, S. Recent trends in functional food science and the industry in japan. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, 66, (10), 2017-2029, 2002.

ARES, G.; GIMÉNEZ, A.; GÁMBARO, A. Preference mapping of texture of dulce de leche. **Journal of Sensory Studies**, 21, 553-571, 2006.

ASOLINI, F.C.; TEDESCO, A.M.; CARPES, S.T.; FERRAZ, C.; ALENCAR, S.M. Atividade antioxidante e antibacteriana dos compostos fenólicos dos extratos de plantas usadas como chás. **Braz. J. Food Technol**, v. 9, n. 3, p. 209-215, 2006.

BAJAJ, K.L.; DIEZ DE BETHENCOURT, C.A.; JUNQUEIRA, B.; GONZALES SAN JOSE, M. L. *In vitro* enzymic oxidation of Apple phenols. **Journal Food Science and Technology**, v.34, n.4, p. 296-302, 1997.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, 99, p. 191-203, 2006.

BANFIELD, C.F.; HARRIES, J.M. A technique for comparing judges performance in sensory tests. **Journal of Food Technology**, Oxford, v. 10, n. 1, p. 1-10, 1975.

BASTOS, D.H.M.; SALDANHA, L.A.; CATHARINO, R.R.; SAWAYA, A.C.H.F.; CUNHA, I.B.S.; CARVALHO, P.O.; EBERLIN, M.N. Phenolic antioxidants identified by ESI-MS

from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts, **Molecules**, 12, 423-432, 2007.

BATTESTIN, V.; MATSUDA, L.K.; MACEDO, G.A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alim. Nutr., Araraquara**, v.15, n.1, p. 63-72, 2004.

BENASSI, M.T., DAMÁSIO, M.H., CECCHI, H.M. Avaliação sensorial de vinhas riesling itálico nacionais utilizando perfil livre. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, vol. 18, n.3, 1998.

BENINCÁ, J.P.; MONTANHER, A.B.; ZUCOLOTTO, S.M.; SCHENKEL, E.P.; FRODE, T.S. Evaluation of anti-inflammatory efficacy of *passiflora edulli*. **Food Chemistry**, Santa Catarina, v.104, p.1097-1105, 2007.

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**, 239: 70-76, 1996.

BRAGA, A.A.D.; BARLETA, V.C.N. Alimento Funcional: Uma Nova Abordagem Terapêutica das Dislipidemias como Prevenção da Doença Aterosclerótica. **Cadernos UniFOA**, Volta Redonda, ano 2, n. 3, 2007. Disponível em: <<http://www.unifoa.edu.br/pesquisa/caderno/edicao/03/100.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2011.

BRAGA, M.F.; BATISTA, A.D.; JUNQUEIRA, N.T.V.; VAZ, C.F.; SANTOS, E.C.; SANTOS, F.C. **Características agronômicas, físicas e químicas de maracujá-alho (*Passiflora tenuifila* Killip) cultivado no Distrito Federal**. IV Reunião Técnica de Pesquisas em Maracujazeiro, Planaltina-DF, 2004.

BRAGA, M.F.; JUNQUEIRA, N. T. V. Uso potencial de outras espécies do gênero *Passiflora*. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.1, n. 206, p. 72-75, 2000.

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

BRANDT, M.A.; SKINNER, E.Z.; COLEMAN, J.A. Texture profile method. **Journal of Food Science**, 28, 404-409, 1963.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n. 16**, de 30 de abril de 1999. Aprova o **Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes**. Brasília, 1999a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n. 17**, de 30 de abril de 1999. Aprova o **Regulamento Técnico que Estabelece as**

**Diretrizes Básicas para Avaliação de Risco e Segurança dos Alimentos.** Brasília, 1999b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução n. 18*, de 30 de abril de 1999. Aprova o **Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos.** Brasília, 1999c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução n. 19*, de 30 de abril de 1999. Aprova o **Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimento com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem.** Brasília, 1999d.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**. v. 56, issue 11, 1998.

BROADHURST, R. B.; JONES, W. T.; J. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 29, 788–794, 1978.

BRUCKNER, C.H.; PICANÇO, M.C. Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria e mercado. Porto Alegre: **Cinco Continentes**, 472 p., 2001.

CAIRNCROSS, S.E.; SJÖSTROM, L.B. Flavor profiles: a new approach to flavor problems. **Food Technology**, 4, 308-311, 1950.

CANDIDO, L.M.B.; CAMPOS, A.M. Alimentos funcionais. Uma revisão. **Boletim da SBCTA**, v. 29, n. 2, p. 193-203, 2005.

CAPORALE, G.; POLICASTRO, S.; CARLUCCI, A.; MONTELEONE, E. Consumer expectations for sensory properties in virgin olive oils. **Food Quality and Preference**, v.17, p. 116-125, 2005.

CASEY, M.A.; KRUEGER, R.A. Focus group interviewing. **In Measurement of Food Preferences**, 1st Ed. (H. J. H. MacFie; D. M. H. Thomson, eds.) p. 77–96, Blackie Academic, London, England, 1994.

CHALOFFSKY, N. *How to Conduct Focus Group*, American Society for Training & Development, **Alexandria**, VA, 1999.

CÓRDOVA, K.R.V.; GAMA, T.M.M.T.B.; WINTER, C.M.G.; NETO, G.K.; FREITAS, R.J.S. Características físico-químicas da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* flavicarpa Degener) obtida por secagem. **B. Ceppa**, Curitiba, n. 2, p. 221-230, 2005.

COSTA, A.M.; COHEN, K.O.; TUPINAMBÁ, D.D.; PAES, N.S.; SOUSA, H.S.; CAMPOS, A.V.; SANTOS, A.L.B.; SILVA, K.N.; FALEIRO, F.G.; SANTOS, E.C.; FARIA, D.A. Variabilidade genética dos teores de vitamina C e de polifenóis totais de populações de *Passiflora nitida* Kunth. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SAVANAS TROPICAIS, Brasília, 2008. **Desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócios e recursos naturais**. Brasília, DF.

COSTA, A.M.; TUPINAMBÁ, D.D. O maracujá e suas propriedades medicinais – estado da arte. In: Faleiro, F.G.; Junqueira, N.T.V.; Braga, M.F. (Eds.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 475-506, 2005.

COUTINHO, J.G.; RECINE, E. Experiências Internacionais de Regulamentação das Alegações de Saúde em Rótulos de Alimentos. **Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health**, v. 22(6), 2007.

DAMÁSIO, M.H. Análise descritiva: metodologia do Perfil Livre Versus metodologias tradicionais, In: ALMEIDA, T.C.A.; HOUGH, G.; DAMÁSIO, M.H.; DA SILVA, M.A.A.P.B (ed). **Avanços em Análise Sensorial**. São Paulo: Livraria Varela, p. 35-48, 1999.

DAMÁSIO, M.H.; COSTELL, E. Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptors y selección de catadores. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v.31, n.2, p. 165-178, 1991.

DE MELO, L.L.M.M. **Perfil sensorial como ferramenta para o desenvolvimento de chocolate ao leite diet em sacarose e light em calorias contendo substitutos de sacarose e de gordura**. 2008. 176p. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Engenharia de alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

DELAHUNTY, C.M.; MCCORD, A.; O'NEILL, E.E.; MORRISSEY, P.A. Sensory characterization of cooked hams by untrained consumers using Free-Choice Profiling. **Food Quality and Preference**, Oxford, v. 8, n. 5/6, p. 381-388, 1997.

DELIZA, R.; MacFIE, H.; HEDDERLEY, D. The consumer sensory perception of passion-fruit juice using free-choice profiling. **Journal of Sensory Studies**, Trumbull, v. 19, p. 577-587, 2005.

DEMIATE, I.M.; WOSIACKI, G.; CZELUSNIAK, C.; NOGUEIRA, A. Determinação de açúcares redutores e totais em alimentos: comparação entre método colorimétrico e titulométrico. **Publicatio UEPG**, v. 8, n. 1, p. 65-78, 2002.

DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; SHARMA, A. *Passiflora*: a review update. **Journal of Ethnopharmacology**, v.94, p.1-23, 2004.

DONADUZZI, C.M.; JUNIOR, E. L. C.; DONADUZZI, E.M.; SILVA, M.M.; STURION, J. A.; CORREA, G. Variação nos teores de polifenóis totais e taninos em dezesseis progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) cultivadas em três municípios do Paraná. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, Umuarama, v. 7, n. 2, p. 129-134, 2003.

DOWD, L. E. Spectrophotometric determination of quercetin, **Anal. Chem.**, 31(7) 1184-1187, 1959.

DREOSTI, I. E. Bioactive ingredients: antioxidants and polyphenols in tea. **Nutr. Rev.**, v. 54, n. 11 (Part II), p. s51-s58, 1996.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Determinação colorimétrica formulário Método de Açúcares e Substâncias relacionadas. **Nature**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

DUFRESNE, C.; FARNWORTH, E. Tea, kombucha, and health: a review. **Food Res. Inter.**, v. 33, n. 6, p. 409-421, 2000.

EUROPEAN PHARMACOPEIA. **Strasbourg: Council of Europe**, 1996

EWALD, C.; MODIG, S.E.; JOHAANSSON, K.; SJOHOLM, I.; AKESSON, B. Effect of processing on major flavonoids in processed onions, green beans, and peas. **Food Chemistry**, n. 64, p. 231-235, 1999.

FAKIM, A.G. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular aspects of Medicine**, v.27, p.1-93, 2006.

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.; PEIXOTO, J.R. Caracterização de germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro assistidos por marcadores moleculares: resultados de pesquisa de 2005-2008. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Ed.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 559-586, 2005.

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V. Passion fruit (*Passiflora* spp.) improvement using wild species. In: MARIANTE, A.S.; SAMPAIO, M.J.A.; INGLIS, M.C.V. **The state of Brazil's plant genetic resources**. Second National Report. Conservation and Sustainable Utilization for food and agriculture. Embrapa Technological Information: Brasília, DF, p. 101-106, 2009.

FARMACOPÉIA, C.d.R.d. **Farmacopéia Brasileira (Farm.Bras. III)**; São Paulo: Organização Andrei, 1977.

FÁVERO, L. P.; BELFIORE, P.; SILVA, F. L.; CHAN, B. L. Análise de dados: modelagem multivariada para tomada de decisões. Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2009.

FELFILI, J.M.; SILVA JÚNIOR, M.C. (Org.). **Biogeografia do bioma Cerrado: estudo fitofisionômico da Chapada do Espigão Mestre do São Francisco**. Brasília: UnB, 2001. 152p.

FERNANDES, S.M.; PINTO, N.A.V.D.; PIRES, T.K.; PEREIRA, R.G.F.A.; CARVALHO, V.D. **Teores de açúcares totais, não redutores e proteína bruta de cafés com torra comercial de duas cooperativas do sul de Minas Gerais**. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1 1.; 2000, Poços de Caldas. Simpósio... Brasília: Embrapa Café de MINASPLAN, 2000, p.752 -754.

FISCHER, I.H.; LOURENÇO, S.A.; MARTINS, M.C.; KIMATI, H.; AMORIM, L. Seleção de plantas resistentes e de fungicidas para o controle da podridão do colo do maracujazeiro causada por *Nectria haematococca*. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, p. 250-258, 2005.

FOLLIN, O.; DENIS, W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. **Journal of Biological Chemistry**, 12, 239-243, 1912.

FRATA, M. T. **Suco de laranja: abordagem química, física, sensorial e avaliação das embalagens**. 2006. 176p. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos)- Universidade Estadual de Londrina, Paraná-PR.

FREITAS, M. Q. **Características e aceitação sensorial de mortadelas produzidas com carnes mecanicamente separadas de frango**. 2009. 129p. Tese. (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal de Viçosa.

GIADA, M.L. de R.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante in vitro de compostos fenólicos de alimentos. **Nutrire**, v. 28, n. 7, p. 91-107, 2004.

GIORIA, R.; ESPINHA, L.M.; REZENDE, J.A.M.; GASPAR, J.O.; KITAJIMA, E.W. Limited movement of cucumber mosaic virus (CMV) in yellow passion flower in Brazil. **Plant Pathology**, London, v.51, p.127-133, 2002.

GONÇALVES, J. S.; SOUZA, S. A. M. Fruta da paixão: Panorama econômico do maracujá no Brasil. **Informações Econômicas**, v.36, n.12, 2006.

GOWER, J. C.; Generalized Procrustes Analysis. **Psychometrika**, v. 40, n. 1, p. 33-51, 1975.

GUERRERO, L.; COLOMER, Y.; GUÀRDIA, M. D.; XICOLA, J.; CLOTET, R. Consumer attitude towards store brands. **Food Quality and Preference**, v. 11, n. 05, p. 387-395, 2000.

HO, C.; CHEN, Q.; SHI, H.; ZHANG, K.; ROSEN, R. T. Antioxidative effect of polyphenol extract prepared from various Chinese teas. **Prev. Med.**, v. 21, n. 4, p. 520-525, 1992.

HOLLMAN, P.C.H.; HERTOOG, M.G.L.; KATAN, M.B. Analysis and health effects of flavonoids. **Food Chem** 57: 43-46, 1996.

HORST, M.A.; LAJOLO, F.M. Biodisponibilidade de Compostos Bioativos de Alimentos. In: Silvia Maria Franciscato Cozzolino. (Org.). **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 2 ed. São Paulo: Manole, 1: 697-731, 2007.

HUBER, L.S.; HOFFMANN-RIBANI, R., RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Quantitative variation in Brazilian vegetable sources of flavonols and flavones. **Food Chemistry**. 113(4):1278-1282, 2009.

HUBER, L.S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, Campinas, v.19, n.1, p.97-108, 2008.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRARIA E ESTATÍSTICA. **Maracujá: área plantada e quantidade produzida. Brasília: IBGE, 2011.** (Produção Agrícola Municipal em 2009). Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl>>. Acesso em: fevereiro de 2011.

JACQUES, A.C.; CHIM, J.F.; ZAMBIAZI, R.C.; GANDRA, E.A.; ALICIEO, T.V.R.; MACHADO, M.R.G.; PEREIRA, E. **Teor de taninos condensados em chá comercial *Camelia sinensis***. In: XII ENPOS, II MOSTRA CIENTÍFICA, 2010.

JESUS, S.C.; MATSUURA, F.C.A.U.; FOLEGATTI, M.L.S.; CARDOSO, R.L. Avaliação de banana-passa obtida de frutos de diferentes genótipos de bananeira. **Pesq. agropec. bras.**, v. 40, n. 6, p. 573-579, 2005.

JOHNSON, R.A. & WICHERN, D.W. **Applied multivariate statistical analysis**. 3. ed. New Jersey : Prentice-Hall, 1992.

JUNQUEIRA, N. T. V.; LAGE, D. A. C.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R.; BORGES, T. A.; ANDRADE, S. R. M. Reação a doenças e produtividade de um clone de maracujazeiro-azedo propagado por estaquia e enxertia em estacas herbáceas de passiflora silvestre. **Rev. Bras. Frutic.**, v.28, n.1, p. 97-100, Jaboticabal, 2006.

KARAKAYA, S. Bioavailability of phenolic compounds. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, 44: 453-464, 2004.

KING, B.M.; ARENTS, P. A statistical test of consensus obtained from generalized Procrustes analysis of sensory data. **Journal of Sensory Studies**, 6, 37-48, 1991.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado Brasileiro. **Megadiversidade**, 1: 147-155, 2005.

KWAK, N.; JUKES, D.J. Functional foods. Part 2: the impact on current regulatory terminology. **Food Control**. v.12, p. 109-117, 2001b.

LEE, C. M. LEE, S. -Y. Consumer insights on healthy breakfast cereal – A focus group research. **Journal of Sensory Studies**, v. 22, p. 417-432, 2007.

LIMA, A.A.; CARDOSO, C.E.L.; SOUZA, J.S.; PIRES, M.M. Comercialização do Maracujazeiro. **Maracujá em foco, Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**, n. 29, 2006.

LIMA, A.; SANABRIA, G. G. R.; WHARTA, E. E. S. A. BEHRENS, J. H. MANCINI-FILHO, J. Avaliação da aceitação de arroz com pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Agriculture Science and Engineering**, Ponta Grossa, v. 13, n. 3, p. 45-51, 2007.

LIMA, E.D.P.A.; PASTORE, G.M.; BARBERY, S.D.F.; GARCIA, N.H.P.; BRITO, E.S.; LIMA, E.A.A. Obtenção e utilização da enzima polifenoloxidase extraída de polpa de pinha (*Annona squamosa* L.) madura no melhoramento do sabor do cacau (*Theobroma cacao* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n.2, Jaboticabal, 2001.

LIN, Y.-S.; TASI, Y.-J.; TSAY, J.-S.; LIN, J.-K. Factors affecting the levels of tea polyphenols and caffeine in tea leaves. **J. Agric. Food Chem.**, 51, p. 1864–1873, 2003.

MABRY, T.J.; MARKHAM, K.R.; THOMAS, M.B. Systematic identification of flavonoids. **Springer-Verlag**, New York, USA, 354 p, 1970.

MacFIE, H. Preference mapping and food product development. In: MacFIE, H. (Ed.) Consumer-led food product development. **Cambridge: CRC Press**, p. 551-592, 2007.

MacFIE, H.J.H.; Assessment of the sensory properties of food. **Nutrition Review**, v. 48, n.2, p. 87-93, 1990.

MacFIE, H.J.H.; THOMSON, D.M.H. Preference mapping and multidimensional scaling. In: PIGGOTT, J. R. Sensory analysis of food . 2<sup>a</sup> Ed. New York: **Elsevier Science Publishers**, p. 381-409, 1998.

MALDONADO, J.F.M. Utilização de porta-enxertos do gênero *Passiflora* para maracujazeiro-amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.13, n.2, p.51-54, 1991.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **Ann Arbor**, v. 79, (5), p. 727-747, 2004.

MARCELLINI, P. S. 2005. **Caracterização sensorial por Perfil Livre e análise tempo-intensidade de suco de abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill) reconstituído e adoçado com diferentes edulcorantes**. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

MARETI, M. C.; GROSSMANN, M. V. E.; BENASSI, M. T. Características físicas e sensoriais de biscoitos com farinha de soja e farelo de aveia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 30(4), p. 878-883, 2010.

MARKHAM, K.R.; BLOOR, S.J. Analysis and identification of flavonoids in practice. In: Rice-Evans, C. A.; Parcker, L. *Flavonoids in health and disease*. New York, Basel, **Hong Kong: Marcel Dekker Inc.**, p. 1-33, 1998.

MARLIÉRE, L.D.P.; RIBEIRO, A.Q.; BRANDÃO, M.G.L.; KLEIN, C.H.; ACURCIO, F.A. Utilização de fitoterápicos por idosos: resultados de um inquérito domiciliar em Belo Horizonte (MG), BRASIL. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.8, suppl.0, João Pessoa, 2008.

MARQUES, V.; FARAH, A. Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. **Food Chemistry**, 113, p.1370-1376, 2009.

MARTINEZ, C.; SANTA CRUZ, M.J.; HOUGH, G., VEJA, M.J. Preference mapping of cracker type biscuits. *Food Quality and Preference*, 13, 535-544, 2002.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory Evaluation Techniques**, 3<sup>rd</sup> ed. CRC Press. New York. N.Y. USA, 385 p. 1999.

MELETTI, L.L.M.; BARBOSA, W.; PIO, R.; TUCCI, M.L.S.; COSTA, A.A.; FELDBERG, N.P. Influência da estação do ano, da presença de folhas e do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis). **Revista UDO Agrícola**, 7 (1): 68-73, 2007.

MELETTI, L.L.M.; SCOTT, M.D.S.; BERNACCI, L.C. Caracterização fenotípica de três seleções de maracujazeiro-roxo (*Passiflora edulis* silms). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.27, n.2, p.268-272, 2005.

MELO, E.A.; GUERRA, N.B.; Ação antioxidantes de compostos fenólicos naturalmente presente em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciências e Tecnologia de Alimentos**, 36 (1): 1-11, 2002.

MENEZES, J.M.T.; OLIVEIRA, J.C.; RUGGIERO, C.; BANZATO, D.A. Avaliação da taxa de pagamento de enxerto de maracujá-amarelo sobre espécies tolerantes à “morte prematura de plantas”. **Científica**, São Paulo, v.22, n.1, p. 95-104, 1994.

MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial estudos com consumidores**. Minas Gerais: Ed. Da UFV, 225p., 2006.

MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; ARAÚJO, E.L. Taninos: Uma abordagem química à ecologia. **Quim. Nova**, v.28, n.5, p. 892-896, 2005.

MORAES-DE-SOUZA, R.A.; OLDONI, T.L.C.; CABRAL, I.S.R.; ALENCAR, S.M.; Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de chás comercializados no Brasil. **B. CEPPA**, v. 29, n. 2, p. 229-236, 2011.

MORAES, F.P.; COLLA, L.M. Alimentos Funcionais e Nutraceuticos: Definições, Legislação e Benefícios à Saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.3(2), p. 109-122, 2006.

MORAES, S.M.; CAVALCANTI, E.S.B.; COSTA, S.M.O.; AGUIAR, L.A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 19(1B): 315-320, 2009.

MUELLER-HARVERY, I. Analysis of hydrolysable tannins. **Animal. Food Science and Technology**, v.91, p.03-20, 2001.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, 1054, 1-2, p.95-111, 2004.

NANTITANON, W.; YOTSAWIMONWAT, S.; OKONOGLI, S. Factors influencing antioxidant activities and total phenolic content of guava leaf extract. **Food Science and Technology**, 43, p.1095-1103, 2010.

NGAPO, T.M.; DRANSFIELD, E.; MARTIN, J.F.; MAGNUSSON, M.; BREDAHL, L.; NUTE, G.R. Consumer perceptions: pork and pig production. Insights from France, England, Sweden and Denmark. **Meat Science**, v. 66, n. 1, p. 125-134, 2003.

NISHIYAMA, M.F.; COSTA, M.A.F.; COSTA, A.M.; SOUSA, C.G.M.; BÔER, C.G.; BRACHT, C.K.; PERALTA, R.M. Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a

eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 30(supl. 1): 191-196, 2010.

NOZELLA, E.F. **Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes**. Tese (Mestre em Ciências/Área de concentração: Energia Nuclear na Agricultura). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 58p., 2001.

OSZMIANSKI, J.; WOJDYLO, A.; LAMER-ZARAWSKA, E.; SWIADER, K. Antioxidants tannins from Rosaceae plants roots. **Food Chemistry**, 100, p. 579-583, 2007.

PARRON, L.M.; AGUIAR, E.M. de S.; DUBOC, E.; OLIVEIRA FILHO, E.C.; CAMARGO, A.J.A.; AQUINO, F. de G. **Cerrado: desafios e oportunidades para o desenvolvimento sustentável**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. 464 p.

PEREIRA, A.V.; ALMEIRA, T.C.; BELTRAME, F.L.; COSTA, M.E.; GARRIDO, L.H. Determinação de compostos fenólicos em amostras comerciais de chá verde e preto – *Camelia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. Acta Scientiarum. **Health Sciences**, v. 31, n. 2, p. 119-124, 2009.

PEREIRA, C.A.M.; YARIWAKE, J.H.; LANÇAS, F.M.; WAUTERS, J.N.; TITS, M.; ANGENOT, L. A HPTLC densitometric determination of flavonoids from *Passiflora alata*, *P. edulis*, *P. incarnata* and *P. caerulea* compararison with HPLC method. **Phytochemical Analysis**, v.15, p. 241-248, 2004.

PIETTA, P.; SIMONETTI, P.; MAURI, P. Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plants. **Journal of agricultural and Food Chemistry**, v.46, n.11, 1998.

PIMENTEL, B.M.V.; FRANCKI, M.; GOLLÜCKE, B.P. **Alimentos funcionais: introdução as principais substâncias bioativas em alimentos**. São Paulo: Editora Varela, 2005.

PINELI, L. L. O. **Qualidade e Potencial Antioxidante *in vitro* de Morangos *in natura* e Submetidos a Processamentos**. Tese (Doutor em Ciências da Saúde/Faculdade de Ciências da Saúde). Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde – UNB, Brasília, 2009. 222p.

PINTO, M. S. **Compostos bioativos de cultivares brasileiras de morango (*fragaria x ananassa* Duch.): caracterização do estudo da biodisponibilidade dos derivados de ácido elágico**. Tese (Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas) Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos - Área de Bromatologia, 2008, 138p.

PRESCOTT, J.; YOUNG, O.; O'NEILL, L.; YAU, N.J.N.; STEVENS, R. Motives for food choice: a comparison of consumers from Japan, Taiwan, Malaysia and New Zealand. **Food Quality and Preference**, v. 13, n. 7-8, p. 489-495, 2002.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.48, n.8, p. 3396-3402, 2000.

QUELHAS, I., PETISCA, C.; VIEGAS, O.; MELO, A.; PINHO, O.; FERREIRA, I.M.L.V.O. Effect of green tea marinades on the formation of heterocyclic aromatic amines and sensory quality of pan-fried beef. **Food Chemistry**, 122, p. 98-104, 2010.

RACHWAL, M.F.G.; CURCIO, G.R.; DEDECEK, R.A.; NIETSCHKE, K.; RADOMSKI, M.I. **Influência da luminosidade sobre os teores de macronutrientes e tanino em folhas de erva-mate.** In: II° CONGRESSO SUL-AMERICANO DE ERVA MATE. III° REUNIÃO TÉCNICA DE ERVA MATE. 2000, Encantado/RS, Anais... Porto Alegre: Edição dos Organizadores, p. 417-420, 2000.

RIBEIRO, A.Q.; LEITE, J.P.V.; DANTAS-BARROS, A.M. Perfil de utilização de fitoterápicos em farmácias comunitárias de Belo Horizonte sob a influência da legislação nacional. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.15, n.01, p.65-70, 2005.

RIBEIRO, E.P.; SERAVALLI, E.A.G. **Química de Alimentos**. 1.ed. São Paulo: Edgard Blücher LTDA, 2004.

RIBEIRO, S.; MATOS, G.; MARQUES, M.; LIMA, A. **Caracterização físico-química, fenólicos totais e capacidade antioxidante de uvas Benitaka cultivadas no estado do Piauí-Brasil.** In: CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE E NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA, Belém, PA, 2009.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**. v. 34, Supple. 2, p S105 – 10, 2002.

RONINEN, K.; LAHTEENMAKI, L.; TUORILA, H. Quantification of consumer attitudes to health and hedonic characteristics of foods. **Appetite**, v. 33, p. 71-88, 1999.

RONCATTO, G.; OLIVEIRA, J.C.; RUGGIERO, C.; FILHO, G.C.N.; CENTURION, M.P.P.C.; FERREIRA, F.R. Comportamento de maracujazeiros (*Passiflora* ssp.) quanto à morte prematura. **Rev. Bras. Frutic.** v.26, n.3, p.552-554, Jaboticabal, 2004.

RÚA, N.E.R. **Desempenho das escalas híbridas e autoajustável no perfil livre associado a consumidores.** Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, 2003, 173p.

RUDNICKI, M.; OLIVEIRA, M.R.; PEREIRA, T.V.; REGINATTO, F.H.; DAL-PIZZOL, F.; MOREIRA, J.C.F. Antioxidant and antiglycation properties of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* extracts. **Food Chemistry**, v. 100, p. 719-724, 2007.

RUDNICKI, M.; SILVEIRA, M.M.; PEREIRA, T.V.; OLIVEIRA, M.R.; REGINATTO, F.H.; DAL-PIZZOL, F.; MOREIRA, J.C.F.; Protective effects of *Passiflora alata* extract pretreatment on carbon tetrachloride induced oxidative damage in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v.45, p. 656-661, São Paulo, 2007.

RUGGGIERO, C. Situação da cultura do maracujazeiro no Brasil. **Informe Agropecuário**, v.21, n.205, p. 5-9, Belo Horizonte, 2000.

SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P. ed. **Cerrado: Ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, p. 289-556,1998.

SANTOS, M.A.T. **Caracterização química das folhas de brócoli e couve-flor (Brassica oleracea L.) para utilização na alimentação humana**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000, 96p.

SANTOS, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R (ed), **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. Editora da UFRGS/Editora da UFSC, Porto Alegre, 2007. 1104 p.

SCHMIDT, P.C. & GONZÁLEZ-ORTEGA, G. Passionsblumenkraut: Bestimmung des Gesamtflavonoidgehaltes von Passiflorae herba. **Deutsche Apotheker Zeitung**, 133: 4457-4466, 1993.

SCHOFIELD, P.; MBUGUA, A.N.; PELL, A.N. Analysis of condensed tannins: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.92, p.21-40, 2001.

SENGER, A.E.V.; SCHWANKE, C.H.A.; GOTTLIEB, M.G.V. Chá verde (*Camellia sinensis*) e suas propriedades funcionais nas doenças crônicas não transmissíveis. **Scientia Medica**, v. 20, n. 4, p. 292-300, 2010.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects and Applications. **Technomic Pub. Co.**, Basel, Switzerland, 1995.

SILVA, J. A. da; SILVA, D. B. da; JUNQUEIRA, W. T. V; ANDRADE, L. R. M. de. **Frutas nativas dos Cerrados**. Brasília: EMBRAPA – CPAC, 1994. 166p.

SILVA, M.I.G.; GONDIM, A.P.S.; NUNES, I.F.S.; SOUSA, F.C.F. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 16, n.04, p. 455-462, 2006.

SILVA, R.P.; PEIXOTO, J.R.; JUNQUEIRA, N.T.V. Influência de diversos substratos no desenvolvimento de mudas de maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis* Sims f. *falvicarpa* Deg.). **Revista Brasileira de Fruticultura**. 23: 377-381, 2001.

SINGLETON, V.L.; ROSSI JR, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, n.16, p.144-158, 1965.

SOARES, L.L.S.; DELIZA, R.; GONÇALVES, E.B.; Escalas atitudinais utilizadas em estudo de consumidor: tradução e validação para a língua portuguesa. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 17, n. 1, p. 51-64, 2006.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista Nutrição de Campinas**, v. 1, n. 15, p. 71-81, São Paulo, 2002.

SOARES, W.S.; REGO, M.M.; REGO, E.R.; BARROSO, P.A.; MEDEIROS, L.R.N. Caracterização de frutos e sementes em acessos de maracujá silvestre (*Passiflora foetida* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. spe, Botucatu, 2011.

SOULIMANI, R.; YOUNOS, C.; JARMOUNI, S.; BOUSTA, D.; MISSLIN, R.; MORTIER, F. Behavioural effects of *Passiflora incarnata* L. and its indole alkaloid and flavonoid derivatives and maltol in the mouse. **J. Ethnopharmacol.**, v. 57, n.1, p. 11-20, 1997.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA JR, G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; OSZMIANSKI, J.; WOJDYLO, A.; LAMER-ZARAWSKA, E.; SWIADER, K. Antioxidants tannins from Rosaceae plants roots. **Food Chemistry**, 100, p. 579-583, 2007.

SOUZA, J.S.I.; MELETTI, L.M.M. Maracujá: espécies, variedades e cultivo. **Piracicaba: FEALQ**, 179 p., 1997.

STEWART, B., OLSON, D., GOODY, C., TINSLEY, A., AMOS, R., BETTS, N., GEORGIU, C., HOERR, S., IVATURI, R. and VOICHICK, J. Converting focus group data on food choices into a quantitative instrument. **J. Nutr. Educ.** 26, 34–36, 1994.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory Evolution Practices**. 2 ed. San Diego: Academic Press, 336 p., 1993

STONE, H.; SIDEL, J.L.; OLIVER, S.; WOOLSEY, A.; SINGLETON, R.C. Sensory Evaluation by Quantitative Descriptive Analysis. **Food Technology**, 28(11),24-33, 1974.

STRINGHETA, P.C.; OLIVEIRA, T.T.; GOMES, R.C.; AMARAL, M.P.H.; CARVALHO, A.F.; VILELA, M.A.P. Políticas de saúde e alegações de propriedades funcionais e de saúde para alimentos no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 43, (2), 181-194, 2007.

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**, 19, 669-675, 2006.

TORRES, L.B.V. **Qualidade e Conservação Pós-colheita de Mangas oriundas de Sistema de Produção Orgânica ou Integrada**. Tese (Doutor em Fisiologia Pós-colheita/Agricultura Tropical). Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-graduação em Agronomia – UFPB, Paraíba, 2010. 239p.

VAN KLEEF, E.V.; VAN TRIJP, H.C.M.V.; LUNING, P. **Food Quality and Preference**, n. 16, p. 181-20, 2005.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, 111(4), 816-823, 2008.

VAZ, C. **Enraizamento de estacas herbáceas de passifloras silvestres e sua utilização como porta-enxertos de maracujazeiro-azedo**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)-Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília-DF, 2008, 118p.

VEDANA, M.I.S.; ZIEMER, C.; MIGUEL, O.G.; PORTELLA, A.C.; CANDIDO, L.M.B. Efeito do processamento na atividade antioxidante de uva. **Alim. Nutr.** v. 19, n.2, p. 159-165, Araraquara, 2009.

VENNAT, B.; GROSS, D.; POURRAT, A.; POURRAT, H. Hamamelis virginiana: Identification and assay of proanthocyanidins, phenolic acids and flavonoids in leaf extracts. **Pharm. Acta Helv.**, 67(1), 11-14, 1992.

VERRUMA-BERNARDI, M.R.; DAMÁSIO, M.H. Análise descritiva de perfil livre em queijo mozzarella de leite de búfala. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, vol. 24, n. 04, p. 536-542, 2004.

VERRUMA-BERNARDI, M.R.; MORAES, C.W.S.; MACHADO, C.A.; KAJISHIMA, S.; COSTA, E.Q. Análise Descritiva Quantitativa do palmito de pupunheira. **Acta Amazônica**, v. 37, n. 4, p. 507-512, 2007.

VIEIRA, M. A.; MARASCHIN, M.; PAGLIOSA, C. M.; PODESTÁ, R.; AMBONI, R. D. M. Análise de compostos fenólicos, metilxantinas, tanino e atividade antioxidante de resíduo de processamento de erva-mate: uma nova fonte potencial de antioxidantes. In: INTERNATIONAL WORKSHOP – ADVANCES IN CLEANER PRODUCTION, 2., 2009, São Paulo. **Anais**...São Paulo: UNIP, p. 1-11, 2009.

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M.C. **Metodologia Científica: Otimização de Processos de Extração de Compostos Fenólicos Antioxidantes de Mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade)**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Embrapa Clima Temperado. Pelotas. 2009.

VOLP, A.C.P.; RENHE, I.R.T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P.C. Flavonoides anthocyanins: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 23, n. 2, p. 141-149, São Paulo, 2008.

XLSTAT. **What is Preference Mapping?** New York, 1995. Disponível em: <http://www.xlstat.com/en/support/tutorials/prefmap.htm>. Acesso em: agosto 2012.

ZERAIK, M.L.; PEREIRA, C.A.M.; ZUIN, V.G.; YARIWAKI, J.H. Maracujá: Um alimento funcional? **Revista Brasileira de Farmagnósia**, v.20, n.3, Curitiba, 2010.

WILLIAMS, A.A.; ARNOLD, G.M. A comparison of the aromas of six coffees characteristics by conventional profiling, free-choice profiling and similarity scaling methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 36, p. 204-214, 1985.

WILLIAMS, A.A.; LANGRON, S.P. The use of free-choice for evolution of commercial ports. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.35, p. 558-568, 1984.

WOISKY, R.G. **Métodos de controle químico da amostra de própolis**. Dissertação (Mestrado em Fármacos de Medicamentos)-Faculdade de Ciência Farmacêuticas da USP, São Paulo, 1996, 74p.

WOLLGAST, J.; ANKLAN, E. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? **Food Research International**, n. 33, p. 449-459, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO. **Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases**. Report of Joint WHO/FAO Expert Consultation. (WHO Technical Report Series, 916). Geneva. 149 p. 2003. Disponível em: [http://whqlibdoc.who.int/trs/who\\_TRS\\_916.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/who_TRS_916.pdf). Acesso em: 01 de março 2011.

## **ANEXO 1 MODO DE PREPARO DO CHÁ DE FOLHA DE PASSIFLORA POR INFUSÃO**

### **Modo de preparo:**

- Pesar 5 gramas de folhas secas (sache preparado);
- Medir 1 litro de água;
- Colocar a água no recipiente de aquecimento e aquecer a água até a fervura e desligar o aquecimento;
- Adicionar imediatamente o sachê;
- Mexer suavemente, tampar o recipiente e deixar o infuso descansando por aproximadamente 10 minutos;
- Com o auxílio de uma peneira, coar o infuso, passando-o para outro recipiente, pressionando o sachê para que saia o excesso de água retido dentro do sachê;

**Importante:** Foi feita a padronização das amostras para a realização de todas as análises. Ao final da infusão, o produto final foi avolumando para 1 litro com água.

## **ANEXO 2 PREPARO DOS EXTRATOS HIDROALCOÓLICO DE FOLHA DE PASSIFLORA**

**FONTE:** RUDNICKI, M.; OLIVEIRA, M. R.; PEREIRA, T. V.; REGINATTO, F. H.; DAL-PIZZOL, F.; MOREIRA, J. C. F. Antioxidant and antiglycation properties of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* extracts. 2007. Food Chemistry, v. 100, p. 719-724.

### **1. Reagentes**

- Álcool etílico 40%: com auxílio de uma proveta, medir 50mL de álcool, transferir para um balão volumétrico de 100mL e completar com água destilada;
- Metanol P.A;

### **2. Preparo do extrato**

- Pesar 5 gramas de folha seca (desidratada em estufa) em béquer de 250 ml
- Adicionar 100 ml de etanol 40%
- Submeter ao homogeneizador Ultraturraz (102 E) em velocidade moderada durante 3 min para extração
- Transferir o conteúdo para um balão de fundo redondo
- Submeter o conteúdo sob refluxo em banho de glicerina (80°C) durante 30 min
- Filtra à vácuo o conteúdo com auxílio de um funil revestido de lã de vidro
- Transferir o extrato para um balão de rotaevaporação
- Rotaevaporar a 60°C durante, aproximadamente, 5 min
- Transferir o conteúdo para um balão volumétrico de 50 ml
- Avolumar com metanol

## **ANEXO 3 ANÁLISE DE FENÓLICOS TOTAIS**

FONTE: PINELI, L. L. O. Qualidade e Potencial Antioxidante *in vitro* de Morangos *in natura* e Submetidos a Processamentos. Tese (Doutor em Ciências da Saúde/Faculdade de Ciências da Saúde). Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde – UNB, Brasília, 2009. 222p.

### **SOLUÇÕES**

#### **1. Acetona 80%**

Com o auxílio de uma proveta, medir 800mL de acetona e transferir para um balão de 1L. Completar o volume com água destilada

#### **2. solução de carbonato de sódio a 7,5%**

Pesar em um béquer 7,5g de carbonato de sódio. Transferir para um balão de 100mL com auxílio de 1 funil e de água destilada. Lavar o béquer 3 vezes com pequenas porções de água destilada. Completar o volume.

### **ANÁLISE DE FENÓLICOS TOTAIS**

- Diluir o reagente Folin-Ciocalteu 1:10
- Diluir a amostra (entre 5 e 500  $\mu\text{L}/\text{mL}$  – dependendo da folha e do tipo de extração)
- Pipetar 200 $\mu\text{L}$  da amostra diluída
- Pipetar 1mL da solução Folin em cada repartição e no branco
- Incubar por 1 minuto
- Adicionar 0,8mL de carbonato de sódio a 7,5%
- Incubar por 2 horas a temperatura ambiente
- Ler a absorbância a 765nm.

## ANEXO 4 ANÁLISE DE TANINOS CONDENSADOS

FONTE: BROADHURST, R. B.; JONES, W. T. 1978, adaptado

### REAGENTES

- Acetona 70%: com auxílio de uma proveta, medir 700 mL de acetona, transferir para um balão volumétrico de 1000 mL e completar com água destilada;
- Metanol P.A;
- Metanol 72%: com auxílio de uma proveta, medir 720 mL de metanol, transferir para um balão volumétrico de 1000 mL e completar com água destilada;
- Vanilina reagente (recém preparada em vidraria recoberta com alumínio): 4g de vanilina, 56 mL de HCL Merck, 83 mL de metanol; Total = 139 mL – para 4 amostras;
- Padrão: catequina 40 mg/250 mL de metanol P.A (somente quando fizer a curva de calibração)

### PROCEDIMENTOS

- Pipetar 1 mL do extrato (chá ou extrato hidroalcoólico), em tubos de ensaio de 25 mL recoberto com papel alumínio (triplicata)
- Adicionar 5 mL de reagente vanilina em cada tubo (para a amostra)
- Fazer duplicata para o branco vanilina, adicionando 5 mL de reagente vanilina em cada tubo
- Preaquecer os reagentes a 30°C por 30 minutos
- Adicionar 1 mL de extrato (pipeta volumétrica), devidamente homogeneizado, e agitar em vortex
- Marcar todos os tempos de adição do extrato e cronometrar
- Adicional 1 mL de metanol 72% nos 2 tubos de branco da vanilina
- Fazer o branco da amostra (duplicata) – 1 mL de extrato e 5 mL de metanol 72%
- Manter a reação a 30°C por 20 minutos
- Fazer a leitura da absorbância de todos os tubos a 510 nm, dentro de um prazo máximo de 1 hora.
- Zerar o espectrofotômetro com metanol 72%

### CUIDADOS ESPECIAIS

- A estocagem dos extratos deve ser a temperatura ambiente, e não por mais que 24 horas
- A vanilina reagente deve ser preparada no momento do uso e deve apresentar cor amarelada, sendo que a alteração de cor indica vidraria e/ou reagentes contaminados

- Para a manutenção da estabilidade da reação, é fundamental que a vidraria seja protegida da luz e que a temperatura seja controlada durante a reação

### CURVA PADRÃO DE CATEQUINA

- Padrão: catequina 40 mg/250 mL de metanol P.A (0,16mg/ mL)
- Vanilina reagente (recém preparada em vidraria recoberta com alumínio): 4g de vanilina, 56 mL de HCL Merck, 83 mL de metanol; Total = 139 mL – para 4 amostras;
  - Adicionar 5 mL de vanilina reagente em cada tubo (pipeta volumétrica)
  - Preaquecer os reagentes a 30°C por 30 minutos
  - Adicionar 1 mL as solução de catequina (pipeta volumétrica), devidamente homogeneizado
  - Marcar todos os tempos de adição da catequina e cronometrar
  - Manter a reação a 30°C por 20 minutos
  - Fazer a leitura da absorbância de todos os tubos a 510 nm, dentro de um prazo máximo de 1 hora.
  - Zerar o espectrofotômetro com metanol 72%

### TRIPLICATA

Concentrações das soluções de catequina (mg/ mL)	Volume das soluções de catequina (mL)	Volume da solução de vanilina (mL)
0,02	1	5
0,04	1	5
0,06	1	5
0,08	1	5
0,10	1	5
0,12	1	5
0,14	1	5
0,16	1	5

Cada solução de catequina utilizada na curva padrão deverá ter um branco (duplicata). Adicionar 1 mL da solução de catequina no tubo de ensaio e 5 mL de metanol 72%.

A solução de vanilina tem o seu branco preparado da seguinte forma (duplicata): adicionar 5 mL da solução de vanilina e 1 mL de metanol 72% no tubo de ensaio (preaquecer também essa solução de vanilina para o branco).

## ANEXO 5 ANÁLISE DE FLAVONOIDES

**FONTE:** PEREIRA, A.V.; ALMEIRA, T.C.; BELTRAME, F.L.; COSTA, M.E.; GARRIDO, L.H. Determinação de compostos fenólicos em amostras comerciais de chá verde e preto – *Camelia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. *Acta Scientiarum. Health Sciences*, v. 31, n. 2, p. 119-124, 2009.

### REAGENTES

- 100 mL de solução metanólica de ácido acético a 5% (v v-1): Em um balão volumétrico, medir 5 mL (pipeta volumétrica) de ácido acético e completar com metanol (solução mãe)
- 50 mL de solução metanólica de cloreto de alumínio a 2% (m v-1): Em um balão volumétrico pesar 1g de cloreto de alumínio e completar o volume com metanol

### PROCEDIMENTOS

- Pipetar 5 mL de extrato aquoso ou entre 100 e 400 µL de extrato hidroalcoólico em tubos de ensaio
- Adicionar 500 µL da solução metanólica de cloreto de alumínio a 2%
- Completar o volume para 10 mL com solução metanólica de ácido acético a 5%
- Deixar descansar durante 30 minutos a temperatura ambiente
- Fazer a leitura em espectrofotômetro a 425 nm

### CURVA PADRÃO DE CATEQUINA

- Padrão: quercetina 0,1 g/100 mL mãe (1 mg/mL)  
Obs: para a concentração de 100 µg/mL: pegar 10 mL da solução padrão e avolumar para 100 mL com a solução mãe.

## TRIPLICATA

Concentrações das soluções de quercetina (mL)	Volume da solução de cloreto de alumínio a 2% ( $\mu$ L)	Volume da solução mãe (mL)
1	500	8,5
0,8	500	8,7
0,6	500	8,9
0,4	500	9,1
0,2	500	9,3
0,1	500	9,4

- Fazer as leituras dos tubos a 425 nm.

## ANEXO 6 DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES TOTAIS: MÉTODO DO FENOL-SULFÚRICO

**FONTE:** DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Determinação colorimétrica formulário Método de Açúcares e Substâncias relacionadas. *Nature*, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

### REAGENTES

- Fenol 80%: pesar 80 g de fenol e completar para 100 mL de água destilada.
- Glicose anidra
- HCl P.A

### PROCEDIMENTOS

- Pipetar 0,4 mL de extrato em tubo de ensaio
- Adicionar 1,6 mL de água destilada, 0,8 mL de fenol 80% e 5 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) P.A
- Aguardar 10 minutos (tempo de a reação ficar a temperatura ambiente)
- Fazer a leitura da absorbância de todos os tubos a 490 nm

### CURVA PADRÃO DE CATEQUINA

- Padrão: glicose anidra 60 µg/mL

#### TRIPLICATA

Concentrações das soluções de glicose (mL)	Água (mL)	Fenol (µL)	Ácido sulfúrico (mL)
0,2	1,8	50	5
0,5	1,5	50	5
0,8	1,2	50	5
1,0	1,0	50	5
1,2	0,8	50	5
1,5	0,5	50	5

## ANEXO 7 ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL POR DPPH

**FONTE:** Rufino *et al.*, (2007). Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007 (Comunicado Técnico).

### 1. SOLUÇÕES

- Álcool metílico 50%: com auxílio de uma proveta, medir 50mL de álcool, transferir para um balão volumétrico de 100mL e completar com água destilada.
- Acetona 70%: com auxílio de uma proveta, medir 70mL de álcool, transferir para um balão volumétrico de 100mL e completar com água destilada.
- Solução controle: em um balão volumétrico de 100mL, adicionar 40mL da solução de álcool metílico 50% e 40mL da solução de acetona 70%. Completar o volume com água metílica.

### 2. CURVA DE CALIBRAÇÃO DE DPPH

- Pesar 0,0024gde DPPH em béquer de 10mL
- Transferir quantitativamente (lavar o béquer com metanol 3 vezes) para balão de 100mL (concentração de 0,06mM) e completar o volume com água
- Preparar soluções da curva padrão de acordo com a Tabela 1

Tabela 1: curva padrão de DPPH

Solução de DPPH (mL)	Álcool metílico (mL)	Concentração final do DPPH (uM)
0	10	0
1,7	8,3	10
3,3	6,7	20
5	5	30
6,7	3,3	40
8,3	1,7	50
10	0	60

### 3. DETERMINAÇÃO DA CURVA DE DPPH

Em ambiente escuro transferir uma alíquota de, aproximadamente, 4mL de cada solução de DPPH (10 $\mu$ M, 20 $\mu$ M, 30 $\mu$ M, 40 $\mu$ M, 50 $\mu$ M, 60 $\mu$ M) para cubetas de vidro e realizar a leitura em espectrofotômetro a 517nm. Utilizar álcool metílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro.

Plotar as concentrações de DPPH ( $\mu\text{M}$ ) no eixo X e as respectivas absorbâncias no eixo Y e calcular a equação da reta.

#### 4. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL

TUBO CONTROLE: 0,1mL de água e 3,9mL de DPPH 0,06mM. Ler a absorbância.

#### 5. DETERMINAÇÃO DO TEMPO EC50

A partir do extrato obtido, preparar em tubos de ensaio no mínimo três diluições diferentes em triplicata.

Em ambiente escuro, transferir uma alíquota de 0,1mL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio com 3,9mL de DPPH (0,06mM) e homogeneizar em agitador de tubos.

Utilizar 0,1mL da solução controle com 3,9mL da solução de DPPH (0,06mM) e homogeneizar.

Utilizar álcool metílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro. As leituras das absorbâncias (517nm) devem ser monitoradas a cada minuto, onde é observada a redução da absorbância até sua estabilização. A leitura da absorbância final para o cálculo do EC50 só deve ser feita após a estabilização da absorbância (tempo EC50).

Para experimentos posteriores, com uma mesma amostra, a leitura pode ser feita apenas no tempo estabelecido anteriormente (tempo EC50), acompanhado, também, da leitura inicial do controle.

#### 6. CURVA BHT

- Pesar 0,010g de BHT em béquer de 10mL
- Transferir quantitativamente (lavar o béquer 3 vezes com metanol)
- Completar o volume (50mL). Esta é a solução Mãe.
- Diluir a solução mãe, obtendo-se as seguintes concentrações:
  1. 0,2 mg/mL: pipetar 10mL de BHT e 0mL de metanol
  2. 0,15mg/mL: pipetar 7,5mL de BHT e 2,5mL de metanol
  3. 0,10mg/mL: pipetar 5mL de BHT e 5mL de metanol

Cada diluição deverá ser pipetada e lida em triplicata

Usar 4 cubetas, sendo 1 para o branco

**BRANCO = 0,1mL de BHT + 3,9mL de metanol** (cada concentração tem seu branco).

Nas outras cubetas:

0,1 mL da solução de BHT + 3,9mL de DPPH (0,06mM), incubar pelo tempo determinado no EC50 e ler as absorbâncias

## 7. CURVA DOS EXTRATOS/CHÁS

Dos extratos/chás, fazer as seguintes diluição:

40% → 40mL de extrato + 60mL de água destilada

50% → 50mL de extrato + 50mL de água destilada

60% → 60mL de extrato + 40mL de água destilada

Usar 4 cubetas, sendo 1 para o branco

Deixar incubado pela tempo determinado no EC50

Ler a absorbância a 517nm.

## **ANEXO 8 ANÁLISE DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL POR FRAP**

**FONTE:** Rufino et al., (2006). Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Método de Redução do Ferro (FRAP). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006 (Comunicado Técnico).

### **SOLUÇÕES**

#### **1. Solução de metanol a 50%**

Adicionar 500mL de álcool metílico em balão volumétrico de 1L e completar o volume com água destilada. Homogeneizar e armazenar em temperatura ambiente por tempo indeterminado.

#### **2. Solução de HCl 40mM**

Adicionar 3,34mL de HCl concentrado em balão volumétrico de 1L e completar o volume com água destilada. Homogeneizar e armazenar em temperatura ambiente por tempo indeterminado.

#### **3. Solução de TPTZ 10mM**

Dissolver 3,12 de TPTZ em, aproximadamente 5mL de HCl (40mM) e completar o volume com HCl (40mM). Homogeneizar e armazenar sob refrigeração por até 1 mês.

#### **4. Solução de Cloreto Férrico 20mM**

Dissolver 5,4g de cloreto férrico em água destilada, transferir para um balão volumétrico de 1L e completar até o volume final com água destilada. Homogeneizar e armazenar sob refrigeração por até 1 mês.

#### **5. Tampão acetato 0,3M, pH 3,6**

Dissolver 3,1g de acetato de sódio em 16mL de ácido acético glacial, transferir para um balão volumétrico de 1L e completar o volume final com água destilada. Homogeneizar e armazenar sob refrigeração por tempo indeterminado.

#### **6. Solução de reagente FRAP**

O reagente FRAP é obtido a partir da combinação:

(usar imediatamente após sua preparação)

- 25mL de tampão acetato 0,3M;
- 2,5mL de solução TPTZ 10mM;
- 2,5mL de solução aquosa de cloreto férrico 20mM;

## 7. Solução padrão de Sulfato Ferroso 2mM

Dissolver 27,8mg de sulfato ferroso em água destilada, transferir para um balão volumétrico de 50mL e completar o volume final com água destilada. Homogeneizar e armazenar sob refrigeração por até 1 mês.

### CURVA-PADRÃO DO SULFATO FERROSO

A partir da solução padrão de sulfato ferroso (2mM), preparar em balões volumétricos de 10mL, soluções variando a concentração de 500 $\mu$ M a 1500 $\mu$ M, conforme a tabela 1.

Solução padrão de sulfato ferroso (mL)	Água destilada (mL)	Concentração final ( $\mu$ L)
2,5	7,5	500
5,0	5,0	1000
7,5	2,5	1500
10	0	2000

Fonte: Rufino et al., 2006.

### DEFINIÇÃO DA CURVA-PADÃO

- Transferir em ambiente escuro um alíquota de 90 $\mu$ L de cada solução de sulfato ferroso (500 $\mu$ L, 1000 $\mu$ L, 1500 $\mu$ L, 2000 $\mu$ L) para tubos de ensaio;
- Acrescentar 270 $\mu$ L de água destilada;
- Misturar 2,7mL de reagente FRAP;
- Homogeneizar em agitador de tubos e manter em banho-maria a 37°C;
- Realizar leitura a (595nm) após 30 minutos de banho;
- Utilizar o reagente FRAP para calibrar o espectrofotômetro;
- Plotar em planilhas as concentrações de sulfato ferroso (mM) no eixo X, e as respectivas absorbâncias no eixo Y e calcular a equação da reta;
- A partir da equação da reta, calcular a absorbância referente a 1000 $\mu$ L de sulfato ferroso, de acordo com a equação de regressão: **(Y = aX + b)**

**Em que:** X = 1000 $\mu$ L de sulfato ferroso

Y = Absorbância correspondente a 1000 $\mu$ L de sulfato ferroso

## DETERMINAÇÃO DO FRAP

- Transferir em ambiente escuro, uma alíquota de 90µL de cada diluição do extrato/chás para tubos de ensaio (em triplicata)
- Acrescentar 270µL de água destilada;
- Misturar 2,7mL de reagente FRAP;
- Homogeneizar em agitador de tubos e manter em banho-maria a 37°C;
- Realizar leitura a (595nm) após 30 minutos de banho;
- Utilizar o reagente FRAP para calibrar o espectrofotômetro;
- A partir das absorbâncias obtidas nas diferentes diluições, plotar as absorbâncias do eixo Y e a diluição (mg/L) no eixo X.
- Determine a equação da reta:
- Para calcular a AAT, deve-se substituir na equação da reta a absorbância equivalente a 1000µM do padrão de sulfato ferroso. O valor obtido no termo X , corresponde a diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1000µM de sulfato ferroso, de acordo com a equação de regressão: **(Y = aX + b)**

**Em que:** X = 1000µL de sulfato ferroso

Y = Absorbância correspondente a 1000µL de sulfato ferroso

- A partir do resultado encontrado (X) na equação de regressão, dividir por 1000 para ter o valor em g. O resultado final é calculado pela divisão de 1000µM pelo valor de X(g) e multiplicado por 1(g) para encontrar o valor final (Z) que é expresso em µM sulfato ferroso/g de fruta (porção comestível).

$$\mathbf{X(g) = X/1000}$$

$$\mathbf{Z = 1000/X(g).1}$$

## ANEXO 9 APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



Universidade de Brasília  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/FS

### PROCESSO DE ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

Registro do Projeto no CEP: **191/11**

Título do Projeto: “Infusões a base de folhas de Passifloras do cerrado: Compostos fenólicos, atividade antioxidante in vitro e perfil sensorial dessas bebidas.”

Pesquisadora Responsável: Juliana da Silva Quintiliano Rodrigues

Data de Entrada: 29/11/11

Com base na Resolução 196/96, do CNS/MS, que regulamenta a ética em pesquisa com seres humanos, o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, após análise dos aspectos éticos e do contexto técnico-científico, resolveu **APROVAR** o projeto **191/11** com o título: “Infusões a base de folhas de Passifloras do cerrado: Compostos fenólicos, atividade antioxidante in vitro e perfil sensorial dessas bebidas” analisado na 1ª reunião ordinária realizada no dia 7 de fevereiro de 2011.

A pesquisadora responsável fica, desde já, notificada da obrigatoriedade da apresentação de um relatório semestral e relatório final sucinto e objetivo sobre o desenvolvimento do Projeto, no prazo de 1 (um) ano a contar da presente data (item VII.13 da Resolução 196/96).

Brasília, 09 de fevereiro de 2012.

  
Prof. Natan Monsóres de Sá  
Coordenador do CEP-FS/UnB

**ANEXO 10 FICHA DE RECRUTAMENTO PARA ANÁLISE DESCRITIVA****PAINEL SENSORIAL  
IDENTIFICAÇÃO**

DATA \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_

—

Idade \_\_\_\_\_

Profissão \_\_\_\_\_ Cargo e/ou função: \_\_\_\_\_

E-mail: \_\_\_\_\_

Telefones p/ contato: \_\_\_\_\_ Celular: \_\_\_\_\_

1. Você sabe o que é ou tem idéia do que seja análise sensorial?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

2. Você gostaria de ser provador em uma equipe de análise sensorial de chá gelado de maracujá?

\_\_\_\_\_

3. Existe algum dia ou horário em que você **não** poderá participar das sessões de degustação? Quais? Qual a sua disponibilidade de horários para você para participar das sessões sensoriais (3 sessões semanais de 20 a 30 minutos)?\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

4. Indique os períodos em que você pretende tirar férias ou ausentar-se de suas atividades

\_\_\_\_\_

5. Cite alimentos ou ingredientes que você desgosta muito:

\_\_\_\_\_

6. Você tem algum tipo de problema (alergia, desconforto, etc) com alguns Alimentos? Especifique quais. \_\_\_\_\_

7. Cite um alimento ácido: \_\_\_\_\_

8. Cite um alimento adstringente (que trava ou aperta):

\_\_\_\_\_

9: Cite uma bebida turva: \_\_\_\_\_

10. Você está fazendo alguma dieta especial? \_\_\_\_\_ Qual ?

que alimentos ou bebidas você não pode ingerir em função da dieta?

11. Indique marcando com um X se tem os seguintes problemas de saúde :

- Prótese dentária
- Problemas de percepção de cor (daltonismo, ...)
- Diabetes
- Colesterol
- Hipoglicemia
- Hipertensão
- Freqüentes estados febris
- Freqüentes inflamações dos sinus (sinusites)
- Freqüentes inflamações da cavidade bucal
- Quadros asmáticos leves ou agudos

12. Você está tomando algum remédio?

Qual? \_\_\_\_\_

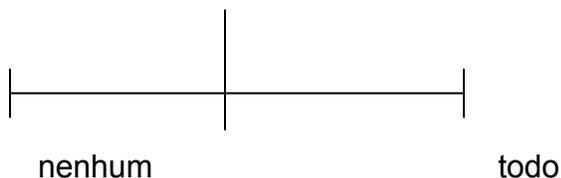
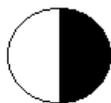
Você acha que este medicamento atrapalha sua percepção de aroma e sabor dos alimentos?

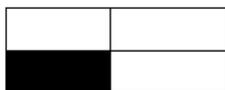
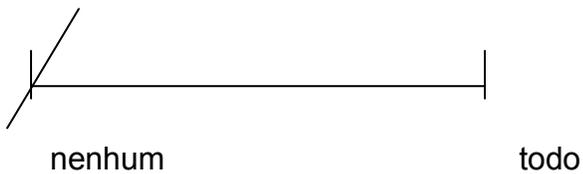
Sim     Não

13. Fumante? em caso afirmativo indicar a quantidade. \_\_\_\_\_

14. Exercícios de escala:

Instruções: marque na linha à direita a proporção da área que está sombreada, assim como nos exemplos abaixo:





***Agora é a sua vez:***



***Muito  
obrigada!!!***

**ANEXO 11 FICHA DE AVALIAÇÃO DE TESTE TRIANGULAR****Ficha de avaliação de teste triangular**

Nome:

Data:

Você está recebendo três amostras de refresco de maracujá, sendo que duas amostras são iguais e uma amostra é diferente. Prove-as da esquerda para a direita e escreva o código da amostra **diferente**. Beba água e aguarde alguns segundos entre cada amostra.

Código da amostra diferente:

Comentários:

## ANEXO 12 FICHA REPERTORY GRID

### Levantamento de atributos para análise de chá de passifloras do Cerrado (Exemplo).

**Nome:**

**Data:**

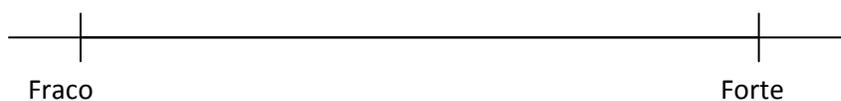
Por favor, avalie as amostras de chás de passifloras e indique similaridades e diferenças entre as amostras quanto à aparência, sabor, aroma e textura.

Amostras	Similaridades	Dissimilaridades
633 e 148	Aparência: Aroma: Sabor: Consistência/textura:	Aparência: Aroma: Sabor: Consistência/textura:
633 e 992	Aparência: Aroma: Sabor: Consistência/textura:	Aparência: Aroma: Sabor: Consistência/textura:
633 e 525	Aparência: Aroma: Sabor: Consistência/textura:	Aparência: Aroma: Sabor: Consistência/textura:
148 e 992	Aparência: Aroma: Sabor: Consistência/textura:	Aparência: Aroma: Sabor: Consistência/textura:

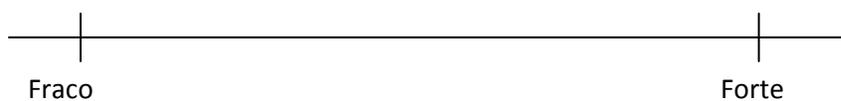
## ANEXO 13 AVALIAÇÃO DOS ATRIBUTOS LEVANTADOS INDIVIDUALMENTE PARA CHÁS DE FOLHAS DE PASSIFLORAS.

Ficha para análise definitiva dos produtos do Perfil Livre (Exemplo).

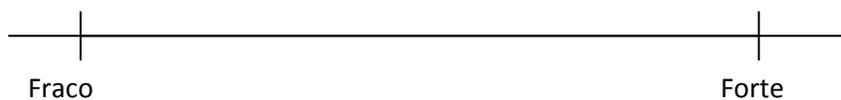
(nome do atributo levantado pelo provador)



(nome do atributo levantado pelo provador)



(nome do atributo levantado pelo provador)



## ANEXO 14 QUESTIONÁRIO DE RECRUTAMENTO PARA O TESTE DE ACEITAÇÃO DOS CHÁS DE FOLHAS DE PASSIFLORAS.

### Avaliação da aceitabilidade de chás gelados

Estamos realizando um estudo de aceitabilidade. Se você consome chás gelados e deseja participar deste estudo, por favor preencha a ficha a seguir e me devolva. Se tiver qualquer dúvida e necessitar de informações adicionais, estou à disposição.

Nome: \_\_\_\_\_

Telefone residencial: \_\_\_\_\_ celular: \_\_\_\_\_

E-mail: \_\_\_\_\_

Por favor, responda as perguntas a seguir:

1. Idade: \_\_\_\_ anos
2. Sexo:  Masculino  
 Feminino
3. Ocupação:  Aluno , curso: \_\_\_\_\_  
 Funcionário  
 Professor  
 Outro \_\_\_\_\_
4. Escolaridade:  1° grau completo  
 2° grau completo  
 Superior incompleto  
 Superior completo  
 Outro \_\_\_\_\_
5. Renda familiar:  1 a 5 Salário/mês  
 > 5 a 10 Salário/mês  
 > 10 a 20 Salário/mês
6. Gosta de chás gelados:  Sim  Não
7. Gosta do sabor maracujá:  Sim  Não
8. Você conhece chá gelado de maracujá:  Sim  Não
9. Você consome chá gelado em geral:  
 3 vezes/semana ou mais  2 vezes/mês  
 2 vezes/semana  Raramente  
 1 vez/semana  Não consome
10. Você costuma ler o rótulo dos produtos que consome:  
 Sempre  Frequentemente  
 Às vezes  Ocasionalmente  
 Nunca

11. O que você observa nos rótulos dos alimentos e bebidas:

- |   |   |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Marca                    | <input type="checkbox"/> Informações sobre ingredientes |
| <input type="checkbox"/> Preço                    | <input type="checkbox"/> Informações sobre aditivos     |
| <input type="checkbox"/> Prazo de validade        | <input type="checkbox"/> Outras: _____                  |
| <input type="checkbox"/> Informações nutricionais |   |

12. Quem faz compras de supermercado na sua casa:

- |                                     |  |
|-------------------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> Você mesmo | <input type="checkbox"/> Outros: _____ |
|-------------------------------------|--|

## ANEXO 15 DELINEAMENTO PARA O TESTE DE ACEITABILIDADE

Amostras

725 – Alata (P1)

034 – Tenuifila (P2)

301 – Nitida (P3)

229 – Setacia (P4)

155 – Gigante Amarelo (P5)

591 – Ouro Vermelho (P6)

219 – Sol do Cerrado (P7)

017 – Maracujá comercial (P8)

403 – Chá verde (P9)

### 1º TEMPO – 5 AMOSTRAS (P1, P2, P3, P4 e P5)

1	301	725	034	155	229
2	301	725	155	034	229
3	034	229	155	725	301
4	034	301	155	229	725
5	301	725	034	229	155
6	725	034	301	229	155
7	155	229	301	725	034
8	155	229	034	301	725
9	301	155	229	725	034
10	725	229	155	301	034
11	034	155	301	725	229
12	034	301	229	725	155
13	155	034	229	301	725
14	301	229	034	155	725
15	725	034	301	229	155
16	034	229	155	301	725
17	229	034	155	301	725
18	229	301	725	155	034
19	725	034	155	229	301
20	725	229	155	034	301
21	229	155	725	034	301
22	229	301	155	725	034
23	034	301	725	229	155

24	229	301	034	155	725
25	725	229	301	034	155
26	725	229	301	034	155
27	229	725	155	034	301
28	155	034	725	229	301
29	229	034	725	301	155
30	034	301	155	229	725
31	229	725	034	301	155
32	155	725	229	034	301
33	725	155	301	229	034
34	034	155	725	301	229
35	034	725	229	301	155
36	155	301	229	725	034
37	301	229	034	155	725
38	155	301	034	229	725
39	301	725	155	229	034
40	301	034	155	229	725
41	725	301	155	034	229
42	229	155	301	725	034
43	034	229	301	155	725
44	301	155	725	229	034
45	229	301	725	034	155
46	229	725	301	155	034
47	155	725	229	034	301
48	301	229	725	155	034
48	155	301	034	229	725
50	155	725	034	301	229
51	725	034	301	229	155
52	229	301	034	155	725
53	034	229	301	725	155
54	725	155	229	034	301
55	034	725	301	155	229
56	034	229	725	155	301
57	155	034	725	301	229
58	725	301	229	155	034
59	229	155	301	034	725
60	155	034	301	725	229
61	725	301	034	155	229
62	155	725	301	229	034
63	034	725	155	301	229
64	155	725	229	301	034
65	034	725	229	301	155
66	155	034	725	229	301
67	155	229	725	301	034
68	725	301	155	229	034

69	301	155	229	034	725
70	301	229	034	725	155
71	301	034	725	155	229
72	229	155	034	725	301
73	301	034	725	155	229
74	229	301	034	725	155
75	301	155	229	725	034
76	725	155	301	034	229
77	034	155	725	229	301
78	229	155	725	301	034
79	301	155	725	034	229
80	301	155	229	034	725
81	034	229	725	155	301
82	034	301	155	725	229
83	155	034	229	725	301
84	229	034	155	301	725
85	725	155	034	301	229
86	155	301	229	034	725
87	034	155	229	725	301
88	725	229	034	155	301
89	229	725	301	034	155
90	229	155	034	725	301
91	301	034	725	229	155
92	034	229	155	301	725
93	155	034	301	725	229
94	229	725	034	155	301
95	725	034	229	301	155
96	725	301	229	155	034
97	301	229	034	725	155
98	301	725	155	034	229
99	725	034	229	155	301
100	155	725	301	034	229

**2º TEMPO – 4 AMOSTRAS (P6, P7, P8 e P9)**

1	403	219	591	017
2	219	403	017	591
3	591	403	017	219
4	403	219	591	017
5	591	017	219	403
6	219	403	017	591
7	017	591	403	219
8	403	219	591	017
9	591	017	219	403
10	403	017	219	591
11	017	591	403	219
12	219	591	403	017
13	591	017	219	403
14	219	403	017	591
15	017	591	403	219
16	403	219	591	017
17	017	219	591	403
18	219	403	017	591
19	591	403	017	219
20	403	219	591	017
21	591	017	219	403
22	219	403	017	591
23	017	591	403	219
24	403	219	591	017
25	591	017	219	403
26	403	017	219	591
27	017	591	403	219
28	219	591	403	017
29	591	017	219	403
30	219	403	017	591
31	017	591	403	219
32	403	219	591	017
33	017	219	591	403
34	219	403	017	591
35	591	403	017	219
36	403	219	591	017
37	591	017	219	403
38	219	403	017	591
39	017	591	403	219
40	403	219	591	017
41	591	017	219	403

42	403	017	219	591
43	017	591	403	219
44	219	591	403	017
45	591	017	219	403
46	219	403	017	591
47	017	591	403	219
48	403	219	591	017
48	017	219	591	403
50	219	403	017	591
51	591	403	017	219
52	403	219	591	017
53	591	017	219	403
54	219	403	017	591
55	017	591	403	219
56	403	219	591	017
57	591	017	219	403
58	403	017	219	591
59	017	591	403	219
60	219	591	403	017
61	591	017	219	403
62	219	403	017	591
63	017	591	403	219
64	403	219	591	017
65	017	219	591	403
66	219	017	403	591
67	591	403	017	219
68	017	591	219	403
69	591	219	017	403
70	219	017	403	591
71	017	403	591	219
72	403	591	219	017
73	591	219	017	403
74	219	017	403	591
75	017	403	591	219
76	403	591	219	017
77	591	219	017	403
78	219	017	403	591
79	017	403	591	219
80	403	591	219	017
81	591	219	017	403
82	219	017	403	591
83	017	403	591	219
84	403	591	219	017
85	591	219	017	403
86	219	017	403	591

87	017	403	591	219
88	403	591	219	017
89	591	219	017	403
90	219	017	403	591
91	017	403	591	219
92	403	591	219	017
93	591	219	017	403
94	219	017	403	591
95	017	403	591	219
96	403	591	219	017
97	591	219	017	403
98	219	017	403	591
99	017	403	591	219
100	403	591	219	017

## ANEXO 16 QUESTIONÁRIO ATITUDINAL SOBRE SAÚDE

### Questionário

**Nome completo:**

*Instruções:* Estamos interessados em saber sua opinião sobre alimentação e como você decide sobre os alimentos que vai comer. Por favor, responda cada uma das afirmações assinalando uma das sete alternativas.

Parte 1:

1. Eu sou muito preocupado o quão saudável os alimentos são.  
        
 Concordância    Concordância    Concordância    Não concordo    Discordância    Discordância    Discordância  
 intensa            moderada            leve            nem discordo            leve            moderada            intensa
  
2. Eu sempre sigo uma dieta saudável e balanceada.  
        
 Concordância    Concordância    Concordância    Não concordo    Discordância    Discordância    Discordância  
 intensa            moderada            leve            nem discordo            leve            moderada            intensa
  
3. É importante pra mim que minha dieta seja pobre em gordura.  
        
 Concordância    Concordância    Concordância    Não concordo    Discordância    Discordância    Discordância  
 intensa            moderada            leve            nem discordo            leve            moderada            intensa
  
4. É importante pra mim que minha alimentação diária contenha muitas vitaminas e minerais.  
        
 Concordância    Concordância    Concordância    Não concordo    Discordância    Discordância    Discordância  
 intensa            moderada            leve            nem discordo            leve            moderada            intensa
  
5. Eu como o que eu gosto e não me preocupo com o quão saudável o alimento é.  
        
 Concordância    Concordância    Concordância    Não concordo    Discordância    Discordância    Discordância  
 intensa            moderada            leve            nem discordo            leve            moderada            intensa
  
6. O quão saudável é o alimento tem pouco impacto nas minhas escolhas.  
        
 Concordância    Concordância    Concordância    Não concordo    Discordância    Discordância    Discordância  
 intensa            moderada            leve            nem discordo            leve            moderada            intensa

7. O quão saudável os petiscos são não faz nenhuma diferença pra mim.

( )	( )	( )	( )	( )	( )	( )
Concordância intensa	Concordância moderada	Concordância leve	Não concordo nem discordo	Discordância leve	Discordância moderada	Discordância intensa

8. Eu não evito nenhum alimento, mesmo aqueles que podem elevar meu colesterol.

( )	( )	( )	( )	( )	( )	( )
Concordância intensa	Concordância moderada	Concordância leve	Não concordo nem discordo	Discordância leve	Discordância moderada	Discordância intensa