

Estabilidade de uma bebida funcional de frutas tropicais e yacon (*Smallanthus sonchifolius*) durante o armazenamento sob refrigeração

Ana Paula Dionisio, Nedio Jair Wurlitzer, Talita de Souza Goes, Maria de Fatima Borges, Deborah Garruti, Idila Maria da Silva Araújo.

Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, Brazil. Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará – Fortaleza – CE - Brasil.

RESUMO. O desenvolvimento de bebidas com perfil funcional deve considerar também a conservação dos compostos ou propriedades funcionais durante o período de armazenamento. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a estabilidade de uma bebida funcional de frutas tropicais e yacon durante o armazenamento em refrigeração (5°C). A bebida, composta por 50% de extrato de yacon e 50% de blend de frutas tropicais (camu-camu, acerola, caju, cajá, açaí e abacaxi) foi pasteurizada (90 segundos/85°C) e armazenada sob refrigeração (5°C). No tempo inicial, e a cada 45 dias do período de estocagem, foram determinados os compostos bioativos (ácido ascórbico e polifenóis extraíveis totais), atividade antioxidante total, sólidos solúveis totais, acidez total titulável, pH, cor (L*, a* e b*), açúcares totais, sacarose, glicose e frutose, sendo que as análises físicas e químicas foram limitadas pela diminuição da atividade antioxidante total e de seus componentes bioativos. A bebida manteve relativa qualidade física e química durante o período de armazenamento, sendo que em 225 dias de estocagem, os teores de polifenóis extraíveis totais e atividade antioxidante total apresentaram uma queda mais acentuada, e desta forma, estes parâmetros foram avaliados somente até este período. Porém, o principal limitante para o armazenamento da bebida foi devido a aceitabilidade sensorial e segurança microbiológica, que embora de acordo com a legislação vigente, limitou o período de armazenamento para 90 dias.

Palavras-chave: *Smallanthus sonchifolius*, estocagem, qualidade.

SUMMARY. Stability of a functional beverage composed by tropical fruits and yacon (*Smallanthus sonchifolius*) under refrigerated storage. The development of beverages with functional properties must consider the preservation of the bioactive or functional properties during storage. For this reason, the aim of this study was to evaluate the stability of a functional beverage of tropical fruits and yacon, stored under refrigeration. The beverage, composed by 50% of yacon and 50% of a blended tropical fruits (camu-camu, acerola, cashew-apple, yellow mombin, acai and pineapple), was pasteurized (90 seconds/ 85°C) and stored under refrigeration (5°C). After processing and on 45 day intervals until the end of storage, were assayed the bioactive compounds (ascorbic acid and total extractable polyphenols), antioxidant activity, total soluble solids, titratable total acidity, pH, color (L*, a* and b*), total sugar content, sucrose, glucose and fructose, and the physical and chemical analyzes were limited by decreased total antioxidant activity and their bioactive components. The beverage showed relative physical and chemical quality during storage period, and in the 225 days of storage, the total extractable polyphenols and total antioxidant activity showed a significantly decline, and thus, these parameters were evaluated only until this period. However, the main limitation for the beverage storage was due to sensory acceptability and microbiological safety, which although in accordance with Brazilian legislation, limited storage period for 90 days.

Key words: *Smallanthus sonchifolius*, storage, quality.

INTRODUÇÃO

As frutas tropicais são excelentes fontes de vitaminas hidrossolúveis, fitoesteróis, polifenóis, e outros compostos antioxidantes. Dentre as frutas que apresentam elevadas concentrações de compostos bioativos, destacam-se camu-camu (*Myrciaria dubia*), acerola

(*Malpighia puniceifolia*), caju (*Anacardium occidentale*), cajá (*Spondias mombin* L.) e açaí (i) (1-3). Embora os efeitos benéficos do consumo de frutas já tenham sido extensivamente reportados, os consumidores buscam por alimentos práticos e convenientes, que permitem a economia de tempo e esforço. Nesse sentido, uma alternativa prática do consumo dessas fru-

tas seriam as bebidas mistas prontas para o consumo.

Bebida mista ou suco misto, segundo o Decreto 6.871, de 4 de junho de 2009 (4), é aquela não gaseificada, não fermentada, obtida pela “mistura de fruta e vegetal, combinação das partes comestíveis de vegetais ou mistura de suco de fruta e vegetal, sendo a denominação constituída da expressão suco misto, seguido da relação de frutas ou vegetais utilizados, em ordem decrescente das quantidades presentes na mistura”. Recentemente, a Embrapa Agroindústria Tropical desenvolveu uma bebida composta por frutas de elevado apelo funcional: acerola, açaí, caju, cajá, camu-camu e abacaxi (2). O produto apresentou efeitos benéficos comprovados em diversos ensaios in vivo e in vitro, demonstrando potencial antioxidante, antimutagênico e antiproliferativo (1-3), sendo de grande interesse no controle do estresse oxidativo e consequentemente, na prevenção de diversas doenças, como câncer.

Os resultados alcançados com essa bebida mista despertaram o interesse na continuidade dessa linha de pesquisa, resultando na substituição da água por yacon (*Smallanthus sonchifolius*), uma raiz tuberosa que apresenta elevada concentração de inulina e fruto-oligosacarídeos (FOS), incorporando à bebida um caráter prebiótico. É importante ressaltar que os açúcares prebióticos possuem elevada importância no organismo humano, pois não são digeríveis pelas enzimas do trato digestivo humano, estimulam seletivamente o crescimento e atividade de bactérias intestinais promotoras de saúde, influenciam os parâmetros lipídicos e, principalmente, têm sido associados a mecanismos de controle glicêmico, sendo especialmente importantes para indivíduos diabéticos (5-6). Neste sentido, estudos realizados por Dionisio et al. (5) visaram a otimização da concentração de yacon a ser adicionada à esta bebida de frutas tropicais, bem como a concentração de edulcorante utilizado, tendo como resposta a aceitabilidade sensorial da bebida.

Os efeitos benéficos da ingestão desta bebida de frutas tropicais com yacon, cuja formulação otimizada foi aquela composta de 50% de extrato de yacon e 0,07% de edulcorante, foram comprovados através de ensaios in vitro e in vivo demonstrando seu potencial antioxidante e prebiótico, pelo estímulo seletivo de micro-organismos do gênero *Lactobacilos* em animais que receberam a bebida durante 30 dias (6). No entanto, nenhuma informação acerca da estabilidade dos

componentes bioativos dessa bebida foram ainda reportados. Essas informações são de extrema importância, uma vez que é necessário garantir ao consumidor a manutenção das características desejáveis do produto (tanto de seus componentes funcionais, assim como suas características sensoriais), além de garantir a segurança microbiológica do produto.

Considerando-se o exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a estabilidade de uma bebida de frutas tropicais e yacon pasteurizada e armazenada à temperatura de refrigeração (5°C), através de análises físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais.

MATERIAL E MÉTODOS

Frutas tropicais e yacon: Foram utilizadas raízes de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) in natura e polpas das frutas acerola, caju, cajá, camu-camu, açaí e abacaxi, adquiridas no mercado local de Fortaleza-CE. As polpas de frutas foram armazenadas sob congelamento (-18°C) até o momento do uso, e as raízes foram processadas imediatamente para obtenção do extrato de yacon.

Processamento das raízes de yacon para obtenção do extrato: As raízes de yacon foram sanitizadas em água clorada (200 ppm de cloro ativo), descascadas manualmente e cortadas em cubos de 1 cm³. Para inativação das enzimas polifenoloxidasas, os cubos foram imediatamente imersos em uma solução de ácido cítrico (2,4%, por 8 minutos). Após drenagem, o yacon foi triturado em triturador doméstico com lâminas tipo faca de inox e peneira (0,5mm) para separação dos sólidos (Mondial, Brasil). O material sólido foi descartado e a fração líquida foi denominada de “extrato de yacon” e mantida sob congelamento (-18°C) até o momento do uso.

Processamento da bebida funcional de frutas tropicais e yacon: A bebida foi formulada pela mistura das polpas de frutas (10% acerola, 5% cajá, 5% caju, 5% camu-camu, 5% açaí e 20% de abacaxi) em 50% de extrato de yacon. As proporções de frutas tropicais seguem formulação indicada por Pereira et al. (2), indicando uma bebida com alto teor de polifenóis e capacidade antioxidante. Após homogeneização, edulcorante *Stevia* foi adicionado à bebida na concentração de 0,07%, conforme descrito por Dionisio et al. (5). Após formulação, a bebida foi submetida ao tratamento térmico (90 segundos/85°C), utilizando um trocador

tubular Armfield FT74X, e efetuado o enchimento a quente em garrafas de vidro de 200 mL, previamente higienizadas com cloro (200 ppm). As garrafas foram fechadas com tampa plástica rosqueável, mantidas deitadas por 2 minutos, e então resfriadas em água sob temperatura ambiente e depois mantidas sob refrigeração ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) até o momento das análises.

Estabilidade física, química, microbiológica e sensorial da bebida mista pasteurizada: A bebida mista foi avaliada através de análises físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais realizadas no tempo 0 e a cada 45 dias de armazenamento da bebida. As análises físicas e químicas da bebida foram acompanhadas até diminuição acentuada da atividade antioxidante total (AAT) e compostos bioativos do produto.

Análises físicas e químicas: os teores de sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$) e o pH (leitura direta das amostras em potenciômetro) foram determinados diretamente da bebida. A acidez total titulável (ATT) foi realizada titulando-se a amostra com solução de NaOH 0,1M. A cor foi determinada através de um colorímetro, obtendo-se os parâmetros L^* , a^* e b^* , responsáveis pela luminosidade e cromaticidade, respectivamente.

- Açúcares: para determinação de glicose, frutose e sacarose foi utilizado um sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), Varian 3380, equipado com duas bombas (modelo ProStar 210), injetor automático (modelo 410), detector de índice de refração (IR - modelo ProStar 355), coluna analítica Hipler Pb ($8\mu\text{m}$, $300 \times 7,7\text{mm ID}$) e pré-coluna Hipler Pb ($50 \times 7,7\text{mm ID}$). A temperatura da coluna foi de 65°C , fluxo isocrático de $0,6\text{ mL/min}$, água grau CLAE como fase móvel e tempo de análise de

35 minutos. Para a determinação dos açúcares totais, foi utilizado o método da antrona (7).

- Polifenóis extraíveis totais (PET): determinados através do reagente de Folin-Ciocalteu, utilizando uma curva padrão de ácido gálico como referência, conforme metodologia descrita por Larrauri et al. (8).
- Ácido ascórbico: quantificado utilizando método de titulometria com solução de DFI (2,6 diclorofenolindofenol a 0,02%) até coloração rósea clara permanente, de acordo com Strohecker & Henning (9).
- Atividade antioxidante total (AAT): determinada por meio de três métodos distintos, com modificações, sendo eles: (a) método de captura do radical livre ABTS (10); (b) ensaio com radical DPPH (11) e (c) método de redução do ferro - FRAP (12). Todas as análises realizadas seguiram as modificações propostas por Rufino et al. (13).

Análises microbiológicas: A qualidade microbiológica da bebida formulada foi avaliada pela contagem de fungos filamentosos e leveduras, coliformes totais, *E. coli* e pesquisa de *Salmonella sp.*, conforme a metodologia descrita no manual FDA's Bacteriological Analytical Manual (14). Os resultados foram expressos em ufc/g para *E.coli* e, fungos filamentosos e leveduras. Para coliformes fecais e *Salmonella sp.*, o resultado foi expresso como ausência em 50 e 25 mL de bebida, respectivamente.

Análise sensorial: Foram aplicados os testes afetivos de aceitação global e aceitação dos atributos aparência, aroma e sabor, utilizando a escala hedônica estruturada mista de 9 pontos, variando de "Desgostei

TABELA 1. Análises físicas e químicas da bebida funcional de frutas tropicais e yacon durante o armazenamento por 225 dias sob refrigeração (5°C).

Parâmetro	Armazenamento (dias)						R^2	p	
	0	45	90	135	180	225			
Sólidos solúveis totais ($^{\circ}\text{Brix}$)	$9,40 \pm 0,10$	$9,63 \pm 0,25$	$8,90 \pm 0,00$	$8,90 \pm 0,00$	$9,93 \pm 0,06$	$9,07 \pm 0,12$	0,04	0,7164	
pH	$3,38 \pm 0,01$	$3,28 \pm 0,01$	$3,15 \pm 0,00$	$3,15 \pm 0,01$	$3,08 \pm 0,01$	$3,10 \pm 0,01$	0,97	<0,0001	
Acidez total titulável (% ácido cítrico)	$0,69 \pm 0,00$	$0,65 \pm 0,01$	$0,66 \pm 0,01$	$0,68 \pm 0,02$	$0,69 \pm 0,01$	$0,73 \pm 0,01$	0,72	<0,0001	
Cor	L^*	$28,16 \pm 0,75$	$29,84 \pm 0,66$	$26,60 \pm 0,55$	$25,75 \pm 0,81$	$30,03 \pm 0,06$	$30,9 \pm 0,30$	0,47	0,0081
	a^*	$9,52 \pm 0,13$	$8,48 \pm 0,07$	$7,51 \pm 0,15$	$8,81 \pm 0,12$	$7,34 \pm 0,04$	$7,13 \pm 0,03$	0,63	0,0002
	b^*	$10,13 \pm 0,37$	$11,74 \pm 0,54$	$10,77 \pm 0,41$	$11,51 \pm 0,35$	$13,84 \pm 1,65$	$13,2 \pm 0,22$	0,58	0,0004

muitíssimo”=1 a “Gostei muitíssimo”=9. Foram recrutados, 50 consumidores de suco de frutas, não-treinados. Os testes foram realizados em cabines individuais climatizadas (24°C), sob iluminação controlada (luz branca, fluorescente) e equipada com terminais de computadores para registro/coleta de dados por meio do software FIZZ. Os protocolos dos testes sensoriais foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Ceará sob protocolo nº 11044529-5.

Análise Estatística: Os dados obtidos em cada período experimental foram avaliados por análise de regressão, utilizando-se o programa estatístico SAS (SAS Use's Guide: Version 6.11. Edition 1996, Institute Inc, n. C. USA), e os gráficos e equações com uso de planilha eletrônica Excel.

RESULTADOS

As Tabelas 1 e 2 apresentam os valores médios para as análises físicas e químicas durante o armazenamento da bebida, bem como o R² e o resultado da análise de variância do modelo (valor p).

No decorrer do armazenamento, não foi observada variação para os teores de sólidos solúveis totais (p = 0,7164). Porém, foi registrado diminuição significativa do pH e aumento significativo da acidez, ambos parâmetros com p < 0,0001. Um decréscimo nos valores de pH das bebidas ocorreram a partir do primeiro tempo de armazenamento, enquanto que a acidez elevou-se pronunciadamente no último tempo de análise (225 dias). Com relação à cor das bebidas, pode-se observar que os valores de L* e b* aumentaram (p = 0,0081 e p = 0,0004, respectivamente), enquanto que os valores de a* diminuíram com o tempo (p = 0,0004).

Os dados apresentados na Tabela 2 mostram que, dentre os três métodos utilizados para análise de Atividade Antioxidante Total (AAT) na bebida, apenas o método ABTS apresentou significância, com alteração no valor de AAT com o passar do tempo de estocagem (p = 0,0004). Para este método, ao longo do armazenamento, a AAT apresentou uma redução de aproximadamente 17%, sendo mais expressiva após os 180 dias. Para os métodos FRAP e DPPH, os valores de p não

TABELA 2. Análises de açúcares e compostos antioxidantes da bebida funcional de frutas tropicais e yacon durante o armazenamento sob refrigeração (5°C).

Parâmetro	Armazenamento (dias)					R ²	p	
	0	45	90	135	180			225
DPPH (g suco/g DPPH)	749,88 ± 60,17	806,08 ± 59,24	804,87 ± 5,13	735,24 ± 36,80	722,04 ± 18,99	817,86 ± 39,74	0,02	0,9467
Atividade Antioxidante Total (AAT)								
FRAP (µM Fe2SO4/g)	35,70 ± 1,19	36,71 ± 2,07	37,54 ± 0,87	35,41 ± 0,05	34,87 ± 0,31	35,26 ± 1,10	0,22	0,1289
ABTS (µM Trolox/g)	10,46 ± 0,38	9,94 ± 0,87	10,16 ± 0,18	9,95 ± 0,57	9,30 ± 0,56	8,70 ± 0,17	0,61	0,0004
Ácido ascórbico (mg/100g)	190,88 ± 2,21	178,38 ± 5,58	178,03 ± 2,36	176,94 ± 2,25	173,24 ± 3,49	172,59 ± 1,53	0,74	<0,0001
Compostos Bioativos								
Polidifenóis extraiáveis totais (mg ácido gálico equivalente/ 100g)	127,27 ± 7,30	125,53 ± 1,63	130,23 ± 10,36	132,70 ± 2,95	129,73 ± 4,81	103,73 ± 8,57	0,57	0,0018
Açúcares (g/100g)								
Sacarose	0,12 ± 0,01	0,033 ± 0,01	0,098 ± 0,01	0,031 ± 0,01	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,66	<0,0001
Glicose	0,18 ± 0,01	0,429 ± 0,02	0,491 ± 0,01	0,296 ± 0,05	0,206 ± 0,01	0,158 ± 0,01	0,66	0,0003
Frutose	0,15 ± 0,01	0,322 ± 0,02	0,345 ± 0,01	0,201 ± 0,02	0,183 ± 0,01	0,152 ± 0,01	0,56	0,0022
Açúcar total	7,91 ± 0,20	6,97 ± 0,04	6,89 ± 0,13	6,51 ± 0,18	6,55 ± 0,19	6,68 ± 0,09	0,94	<0,0001

foram significativos ($p = 0,1289$ e $0,9467$).

Com relação ao ácido ascórbico, pode-se observar que seu conteúdo diminuiu com o armazenamento ($p < 0,0001$) desde o primeiro tempo de análise, ou seja, em 45 dias de estocagem. Porém, ao final dos 225 dias, a bebida ainda apresentou cerca de 90% do conteúdo inicial desta vitamina, com valores aproximados de 173 mg/100 mL. Porém, para os Polifenóis Extraíveis Totais (PET) foi observada uma redução significativa destes componentes bioativos ao longo do período de estocagem ($p = 0,0039$), porém mais pronunciado em 225 dias de estocagem, o que limitou a continuidade da vida de prateleira do produto. Para os açúcares, pode-se verificar que, nos primeiros 135 dias de estocagem, houve redução nos valores de açúcares totais ($p < 0,0001$) e sacarose ($p = 0,003$), e aumento nos valores de glicose ($p = 0,0003$) e frutose ($p = 0,002$) (Tabela 2). Após esse período (135 dias), a glicose e a

frutose sofreram redução, decaindo até o final do período de armazenamento.

Com relação às análises microbiológicas, pode-se observar que durante todo o período de estocagem, a bebida apresentou ausência para coliformes fecais e *Salmonella* sp em 50 e 25 mL de bebida, respectivamente (Tabela 3). A partir de 90 dias, observou-se um crescimento de leveduras e bolores ainda dentro da legislação, porém no seu limite (104 ufc/g). A análise sensorial foi conduzida no próximo período (135 dias), porém já pode ser verificada uma menor aceitação do produto devido, possivelmente, a formação de compostos oriundos do processo fermentativo (ácidos, dentre outros). Isso pode ser confirmado pelo modelo de regressão significativo que foi estabelecido para a aceitação global e para a aceitação do sabor, com valores de $p = 0,0139$ e $p = 0,0014$, respectivamente (Figura 1). Porém, não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$)

TABELA 3. Avaliação da qualidade microbiológica durante a vida de prateleira das amostras de bebida funcional de frutas tropicais e yacon armazenadas sob refrigeração (5°C).

Armazenamento (dia)	Coliformes fecais e E.coli (ufc/mL)	Fungos filamentosos e leveduras (ufc/mL)	Salmonella sp. (Ausência/25g)
1	0,0	0,0	Ausência
45	0,0	$1,4 \times 10^1$	Ausência
90	0,0	$3,4 \times 10^1$	Ausência
135	0,0	$1,0 \times 10^4$	Ausência
180	0,0	$7,2 \times 10^2$	Ausência
225	0,0	$3,0 \times 10^3$	Ausência

durante o período de armazenamento para a aceitação dos atributos aparência e aroma. Desta forma, por razões práticas, considerou-se a estabilidade sensorial e microbiológica da bebida até 90 dias de armazenamento refrigerado, mesmo que os componentes bioativos tenham se mantido relativamente estáveis

até 225 dias de estocagem.

DISCUSSÃO

Estabilidade química e físico-química

Segundo Chim et al. (15), acidez é um importante parâmetro de qualidade de um produto, onde reações envolvidas na decomposição como de hidrólise, oxidação e fermentação, geram compostos ácidos que, por conseqüência, aumentam a acidez do meio. Durante o armazenamento da bebida o pH decaiu de

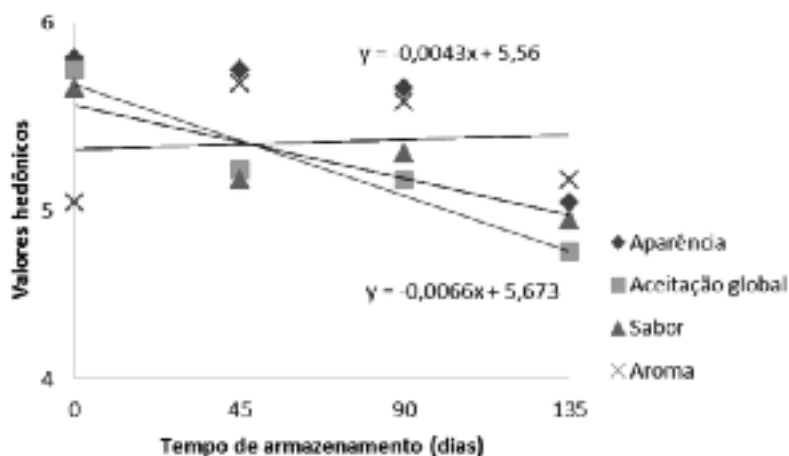


FIGURA 1. Valores hedônicos médios de aceitação sensorial da bebida funcional de frutas tropicais e yacon armazenada sob temperatura de refrigeração (5°C).

3,4 para 3,1 e a acidez aumentou de 0,69 para 0,73. Estas alterações podem estar associadas ao crescimento de fungos e leveduras, que ocorreram após 90 dias de armazenamento refrigerado (5°C) (veja item “Análises Microbiológicas”). Embora essas alterações tenham sido significativas, os valores de sólidos solúveis totais (SST) mantiveram-se estáveis ao longo do período de armazenamento, mostrando que a estocagem não interferiu na manutenção da qualidade final da bebida com relação a este parâmetro.

É interessante ressaltar que a cor, expressa no sistema CIELAB (L*, a* e b*), é definida por três eixos perpendiculares; o eixo “L*” (luminosidade) varia do preto (0%) ao branco (100%); o eixo “a*”, do verde (-a) ao vermelho (+a) e o eixo “b*”, do azul (-b) ao amarelo (+b). Considerando esse sistema, as características cromáticas da bebida demonstram que ela se localiza dentro do primeiro quadrante, apresentando valores positivos de a* e b*, ou seja, as cores vermelha e amarela, respectivamente. Ao longo do período de estocagem, houve aumento nos valores de b* que demonstra que a bebida ficou mais amarelada; assim como houve decréscimo nos valores de a*, mostrando uma perda de coloração vermelha da amostra. Segundo Gomes et al. (16), a diminuição dos valores de a* pode ser devido à reação das antocianinas com o ácido ascórbico e que desta reação resultariam perdas de ambos os componentes, com formação de pigmentos levemente escuros. Assim, essa modificação na coloração da bebida está associada a oxidações e, conseqüentemente, diminuição da atividade antioxidante total (AAT) do produto ao longo do período de estocagem.

Os métodos de atividade antioxidante mais utilizados são o FRAP, ABTS, DPPH e ORAC. Recomenda-se que pelo menos dois (ou mesmo todos) destes ensaios ser combinados para fornecer uma informação confiável da capacidade antioxidante total de um alimento (13). Desta forma, três destes métodos (FRAP, ABTS e DPPH) foram utilizados para acompanhar a vida de prateleira da bebida funcional. Os resultados mostraram que, em 225 dias de estocagem, ocorreram perdas mais pronunciadas nos valores de ABTS, enquanto que pelos métodos FRAP e DPPH não foram visualizadas estas alterações, não sendo significativas ao longo do período de estocagem.

Diversos são os fatores que contribuem para a redução dos teores de compostos bioativos nos alimentos processados, com especial destaque para a temperatura,

exposição a luz e oxigênio, e o pH do meio, que apresentam forte influência em diversas vitaminas, incluindo a vitamina C. É importante ressaltar que, na presença de oxigênio, o ácido ascórbico é oxidado ao ácido dehidroascórbico, que é bastante estável em pH menor que 4. O ácido dehidroascórbico apresenta 75-80% da atividade vitamínica do ácido ascórbico. Em pH superior a 4, o ácido dehidroascórbico sofre rearranjo irreversível a material biológico inativo (17). Desta forma, o pH baixo da bebida, aliado ao seu armazenamento refrigerado (5°C), pode ter contribuído para uma menor degradação desta vitamina na bebida.

Diversos trabalhos podem ser encontrados na literatura sobre o efeito de distintos processos térmicos e de diferentes condições de armazenamento na estabilidade da vitamina C. Chim et al. (15) avaliaram a estabilidade da vitamina C em néctar de acerola sob diferentes condições de armazenamento: temperatura ambiente (25°C), sob refrigeração (8°C) e sob congelamento (-18°C). Os autores concluíram que o armazenamento à temperatura ambiente foi crítico para a estabilidade da vitamina C, ocorrendo as maiores perdas vitamínicas e maiores taxas de hidrólise de açúcares.

Dentre os polifenóis presentes na bebida, tem-se destaque para as antocianinas, incorporadas a bebida principalmente através da adição de acerola e camucamu (1). Segundo Schiozer et al. (18), a estabilidade da cor destes pigmentos é afetada fortemente pelo pH e temperatura (sendo normalmente mais estáveis sob condições ácidas), com formação de compostos menos coloridos, compostos escuros e/ou insolúveis através da sua degradação. Aquino et al. (19), avaliando a estabilidade de antocianinas de frutos de acerola congelados por métodos criogênicos, verificou uma degradação das antocianinas dos frutos congelados pelo método mecânico e, em decorrência da degradação desses pigmentos, observou decréscimo no parâmetro a* de cor, diminuição que também foi observada no presente trabalho. Esta variação pode ser atribuída à hidrólise da sacarose (açúcar não redutor), que em solução aquosa e em meio ácido é facilmente hidrolisada em monossacarídeos redutores D-glucose e D-frutose. Nos 90 dias iniciais, ocorreu um aumento dos teores de glicose e frutose. Porém, após este período os valores destes monossacarídeos diminuíram até o final do período de armazenamento. Esse fato pode ser explicado pelo consumo de açúcares simples (glicose e

frutose) por bolores e leveduras, fato que pode ser observado pelas análises microbiológicas.

Estabilidade microbiológica

De acordo com o pH, os alimentos são classificados como de baixa acidez ($\text{pH} > 4,5$), ácidos (pH de 4,0 a 4,5) e muito ácidos ($\text{pH} < 4,0$). Essa classificação se baseia no pH mínimo para a multiplicação e produção de toxina do *Clostridium botulinum* ($\text{pH} = 4,5$) e no pH mínimo para a multiplicação da grande maioria das bactérias ($\text{pH} = 4,0$). Dessa forma, a bebida pode ser considerada como “muito ácida”, o que favorece a estabilidade microbiológica da bebida e, consequentemente, sua segurança de consumo. A Tabela 3 apresenta os valores médios ($n=5$) para as análises microbiológicas durante 225 dias de armazenamento da bebida, em temperatura de refrigeração (5°C).

Durante todo o período de estocagem, a bebida atendeu aos critérios de segurança microbiológica preconizados pela legislação brasileira para suco (20), cujo padrão é de ausência em 50 e 25 mL de bebida, respectivamente para coliformes fecais e *Salmonella* sp. A legislação brasileira estabelece uma tolerância de 104 ufc/g para bolores e leveduras em alimentos como sucos e néctares de frutas pasteurizados. Mesmo com o crescimento de leveduras nas amostras, manteve-se ainda dentro do limite permitido para bebidas. O crescimento destas leveduras pode estar associado à diminuição do pH e aumento da acidez da bebida, bem como com a diminuição nos valores de sacarose, glicose e frutose após esse período de estocagem. Porém, por razões práticas, a análise sensorial foi conduzida apenas até 135 dias de armazenamento, pois a contagem de bolores e leveduras já estavam no limite permitido pela legislação brasileira até este período.

A bebida não apresentou, no início do armazenamento, elevada aceitação sensorial para os atributos avaliados, com médias em torno de 5 da escala hedônica (“nem gostei, nem desgostei”) para a aceitação da aparência e aroma e em torno de 6 (“gostei pouco”) para aceitação do sabor e aceitação global. É importante ressaltar que a bebida é composta por frutas como acerola e camu-camu, que apresentam elevadas concentrações de compostos bioativos e, consequentemente, contribuem para a AAT da bebida. Porém, o sabor exótico e elevada acidez dessas frutas prejudicam sua aceitabilidade sensorial (21). Estudos realizados por Pereira (2) mostraram que a bebida composta por estas mesmas proporções de frutas tropicais também

apresentaram aceitabilidade em torno de 6. Além disso, no trabalho realizado por Dionisio (5), foi observado que, nas concentrações testadas, a adição de extrato de yacon à bebida de frutas tropicais não influenciou na aceitabilidade sensorial das bebidas, levando a confirmar a hipótese de que as frutas como acerola e camu-camu que poderiam prejudicar a aceitabilidade da bebida. Em posse dos dados, pode-se limitar a aceitabilidade sensorial da bebida até 90 dias de estocagem, pois a partir deste período ocorreu uma diminuição mais expressiva nos “aceitação global” e “aroma” da bebida.

CONCLUSÕES

A bebida funcional de frutas tropicais e yacon, embora tenha apresentado níveis consideráveis de compostos bioativos durante o período de armazenamento refrigerado (5°C), com queda acentuada dos valores de atividade antioxidante total (método ABTS) e valores de polifenóis extraíveis totais somente em 225 dias de armazenamento, apresentou como limitante a qualidade microbiológica e sensorial do produto, devendo ser armazenada por até 90 dias sob estas condições.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelo financiamento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Pereira, A.C.S, Dionisio, A.P., Wurlitzer, N.J., Alves, R.E., Brito, E.S., Silva, A.M.O., Brasil, I.M., Filho, J.M. Effect of antioxidant potential of tropical fruit juices on antioxidant enzyme profiles and lipid peroxidation in rats. *Food Chem.* 2014. 157:179-185.
2. Pereira, A.C.S., Wurlitzer, N.J., Dionisio, A.P., Soares, M.V.L., Bastos, M.S.R., Alves, R.E., Brasil, I.M. Synergistic, additive and antagonistic effects of fruit mixtures on total antioxidant capacities and bioactive compounds in tropical fruit juices. *Arch Latinoam Nutr.* 2015, 65:119-127.
3. Carvalho-Silva, L.B., Dionísio, A.P., Pereira, A.C.S., Wurlitzer, N.J., Brito, E.S., Bataglioni, G.A., Brasil, I.M., Eberlin, M.N., Liu, R.H. Antiproliferative, antimutagenic and antioxidant activities of a Brazilian tropical fruit juice. *LWT - Food Science Technol.* 2014, 59:1319-1324.
4. Brasil. Decreto 6.871, de 4 de junho de 2009, que regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro,

- a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 5 de junho de 2009.
5. Dionisio, A.P., Wurlitzer, N.J., Borges, M.F., Araujo, I.M.S., Goes, T.S., Vieira, N.M., Figueiredo, R.W. Bebida prebiótica de frutas tropicais e yacon com elevada capacidade antioxidante. Fortaleza - CE: Embrapa Agroindústria Tropical, 2014 (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento).
 6. Vieira, N.M. Desenvolvimento de bebidas mistas de frutas tropicais e yacon como fonte de oligossacarídeos prebióticos. Dissertação de Mestrado (Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza – Ceará. 117p. 2014.
 7. Dische, Z. Color reactions of carbohydrates. In: Whistler, R.L. e M.L. Wolfram. *Methods in Carbohydrate Chemistry*. CRC Press, New York. 1962. 477-512.
 8. Larrauri, J.A., Rupérez, P., Saura-Calixto, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *J Agric Food Chem*, 1997, 45:1390-1393.
 9. Strohecker, R., Henning, H.M. *Análisis de vitaminas: métodos comprobados*. Madrid: Paz Montalvo, 1967, 428p.
 10. Miller, N.J., Diplock, A.T., Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gopinathan, V., Milner, A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Science*, 1993, 84:407-412.
 11. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science Technol*, 1995, 28:25-30.
 12. Benzie, I.F.F.; Strain, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Anal Biochem*, 1996, 239:70-76.
 13. Rufino, M.S.M., Alves, R.E., Brito, E.S., Perez-Jimenez, E.S.J., Saura-Calixto, F., Mancini-Filho, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 nontraditional tropical fruits from Brazil. *Food Chem*, 2010, 121:996-1002.
 14. Andrews, W.H.; Jacobson, A.; Hammack, T.S. Salmonella. In: UNITED STATES FOOD DRUG ADMINISTRATION (Ed.). *Bacteriological analytical manual online*. 8th ed. Rockville: FDA, 2014. Chap. 5. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/ebam/bam-5.html>>. Acesso em 26 out. 2015.
 15. Chim, J.F., Zambiasi, R.C., Rodrigues, R.S. Estabilidade da vitamina C em néctar de acerola sob diferentes condições de armazenamento. *Rev Bras Prod Agroind*, 2013, 15:321-327.
 16. Gomes, P.M.A., Figueirêdo, R.M.F., Queiroz, A.J.M. Armazenamento da polpa de acerola em pó a temperatura ambiente. *Ciênc Tecnol Aliment*, 2004, 24:384-389.
 17. Fiorucci, A.R., Soares, M.H.F.B., Cavalheiro, E.T.G. A vitamina C através dos tempos. *Quím Nova Escola*, 2003, 17.
 18. Schiozer, A.L., Barata, L.E.S. Estabilidade de corantes e pigmentos de origem vegetal. *Rev Fitos*, 2007, 3.
 19. Aquino, A.C.M.S., Mões, R.S., Castro, A.A. Estabilidade de ácido ascórbico, carotenoides e antocianinas de frutos de acerola congelados por métodos criogênicos. *Braz J Food Technol*, 2011, 14:154-163.
 20. Brasil. Aprova regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001.
 21. Vidigal, M.C.T.R., Minim, V.P.R., Carvalho, N.B., Milagres, M.P., Gonçalves, A.C.A. Effect of a health claim on consumer acceptance of exotic Brazilian fruit juices: açai (*Euterpe oleracea Mart.*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), cajá (*Spondias lutea L.*) and umbu (*Spondias tuberosa Arruda*). *Food Res Int*, 2011, 44:1988-1996.

Recibido: 28-12-2015

Aceptado: 29-03-2016