

**Compostos voláteis de bebidas à base de  
erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e a relação com  
o aroma e o sabor**

**Carla Carolina Batista Machado**



Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em Saúde  
Pública para obtenção do título de  
Mestre em Saúde Pública.

Área de Concentração: Nutrição  
Orientadora: Profa. Dra. Deborah Helena  
Markowickz Bastos

São Paulo  
2005

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processos fotocopiadores.

Ao usa-lo, cite a fonte.

Assinatura: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

46286/2005 doc

## **BANCA EXAMINADORA**

---

**Profa. Dra. Deborah Helena Markowicz Bastos**  
**ORIENTADORA**

---

**Dra. Natália Soares Janzanti**  
**MEMBRO**

---

**Profa. Dra. Maria Elisabeth Machado Pinto e Silva**  
**MEMBRO**

---

**Dra. Márcia Ortiz Mayo Marques**  
**SUPLENTE**

---

**Profa. Assoc. Elizabeth Aparecia Ferraz da Silva Torres**  
**SUPLENTE**

*À Elizabeth Batista Machado, minha mãe e amiga,  
exemplo de vida e sabedoria, que sempre acreditou em mim  
e me apóia em todos os momentos de minha vida.*

*“Depois de algum tempo... você aprende que as circunstâncias e os ambientes têm influências sobre nós, mas só somos responsáveis por nós mesmos. Começa a aprender que não se deve comparar com os outros, mas com o melhor que pode ser. Descobre que se leva muito tempo para se tornar a pessoa que se quer, e que o tempo é curto. Aprende que não importa onde já chegou, mas para onde se está indo.”*

*Willian Shakespeare*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, que com seu amor, me capacitou profissionalmente para sustentar e prosperar em mais este objetivo.

À Santa Terezinha do Menino Jesus, que me assiste em todos os perigos e necessidades, que me socorre em todas as aflições e me faz alcançar todas as graças.

À minha amada família, que sempre esteve presente, me apoiando e me incentivando, não permitindo com que eu desistisse deste sonho.

À Dra. Deborah Helena Markowicz Bastos, a quem Deus abençoou como instrumento de sabedoria para a minha vida, pela orientação e paciência.

À Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição, pela oportunidade de executar este trabalho.

Às secretárias da sessão de Pós-graduação e do Departamento de Nutrição pelos esclarecimentos e apoio.

À FAPESP (Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo) pela concessão da bolsa de mestrado (processo nº 03/03225-1) e apoio financeiro à pesquisa (processo nº 02/07645-2).

À Empresa Leão Júnior, pelo apoio financeiro e doação de amostras para realização do trabalho.

À Dra. Márcia Ortiz Mayo Marques e sua orientada Roselaine Facanalli do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), pela realização da parte de identificação dos compostos voláteis.

À Nátaíia Soares Janzantti da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP pela ajuda na realização de algumas partes do trabalho e grande colaboração científica.

À Dra. Patrícia de Oliveira Carvalho e seus orientados da Universidade São Francisco / Bragança Paulista – SP pela disponibilidade para uso do Cromatógrafo Gasoso.

Aos provadores, que participaram da análise sensorial, pela paciência e colaboração, principalmente à Vanessa Illison pela amizade e consideração.

À todos do Laboratório de Bromatologia, em especial Rosana Manólio Soares, Yara Severino Queiroz e Luciane Arias Saldanha pela amizade, apoio, aprendizado e longas conversas.

À Renata Galhardo Borguini e Ana Carolina Conti e Silva pela amizade, companheirismo, revisão da dissertação, colaboração científica, conselhos e bons momentos de solidariedade.

Às amigas da Faculdade de Saúde Pública, Ilana Elman, Maria Carolina Von Atzingen, Carla Caratin, entre outras, pela amizade, colaboração, incentivo e apoio.

Às minhas amigas Andréia Rodrigues, Érika Machado, Kamila Moarais, Raquel Arietti e Rosângela Fernandes, que acompanharam toda a minha jornada; pelo companheirismo, orações, apoio, momentos maravilhosos que passamos juntas e principalmente por me fazerem acreditar que eu era capaz.

À Dra. Patrícia Constante Jaime, pelo apoio e amizade.

Ao Dr. Eneo Alves da Silva Júnior, grande Mestre e Amigo. E a todos que trabalham na Central de Diagnósticos Laboratoriais pelo carinho e amizade.

Aos membros da banca examinadora pela participação e valiosas sugestões.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente colaboraram e cruzaram meu caminho nesta fase, que por algum momento me esqueci, meu MUITO OBRIGADA!

## RESUMO

Machado, C.C.B. **Compostos voláteis de bebidas à base de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e a relação com o aroma e o sabor**. São Paulo: 2005, [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

**Introdução.** As bebidas à base de erva-mate contêm compostos bioativos que podem auxiliar na manutenção da saúde. **Objetivos.** Caracterizar sensorialmente o aroma e o sabor de bebidas à base de erva-mate (chá-mate e chimarrão); e identificar compostos voláteis presentes nestas bebidas. **Métodos.** O isolamento dos voláteis foi efetuado por “headspace dinâmico” e hidrodestilação. Cromatografia gasosa/DIC e cromatografia gasosa / espectrometria de massas e índice de Kovats foram usados para separar e identificar os voláteis. Provadores selecionados e treinados realizaram a análise sensorial. Os dados foram submetidos à análise de variância, teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e Análise dos Componentes Principais. **Resultados.** O chimarrão apresentou maior intensidade nos atributos de sabor (amargo, adstringente e residual) e aroma característico de chimarrão e o chá-mate nos atributos aroma (característico de chá-mate e adocicado). As bebidas diferiram significativamente ( $p \leq 0,05$ ) entre si para os atributos julgados. Os compostos voláteis majoritários identificados em chá mate foram: isômero do 2,4heptadienal (13%), 5-metilfurfural (9%), 2,4heptadienal (8%), z-óxido de linalool (5%), t-óxido de linalool (5%). No chimarrão foram identificados: linalool (57%),  $\alpha$ -terpineol (12%) e acetato de dihidrocaveol (7%). A presença do 5-metilfurfural, dos óxidos de linalool e da t- $\beta$ -damascenona em chá-mate parecem ter importância na descrição sensorial, enquanto o  $\alpha$ -terpineol e o linalool, presentes no chimarrão, respondem pela sua descrição sensorial. **Conclusões.** As bebidas à base de erva-mate apresentaram características sensoriais distintas entre si. A torrefação da erva produz modificações importantes nos compostos voláteis, os quais determinarão a sua qualidade sensorial.

**Palavras-chave:** *Ilex paraguariensis*, erva-mate, aroma, compostos voláteis, análise sensorial.



## SUMMARY

Machado, C.C.B. **Compostos voláteis de bebidas à base de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e a relação com o aroma e o sabor [Volatile compounds of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) beverages and the relation with their aroma and flavor ]** São Paulo (BR): 2005, [Master Dissertation – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, Brazil].

**Introduction.** Yerba mate beverages have bioactive compounds that can help the maintenance of human health. **Objective.** Characterize flavor and aroma of yerba mate beverages (mate tea and “chimarrão”) and identify volatile compounds presents in these beverages. **Methods.** Dynamic headspace and hydrodistillation were used to isolate yerba mate volatiles. High-resolution gas chromatography, mass spectrometry and Kovats index were used to separate and identify those compounds. Trained panelists evaluated the sensory attributes of yerba mate infusions. Analysis of variance was applied to each descriptor considering assessors and beverages. Means were compared using Tukey test ( $p \leq 0,05$ ). Averages over assessors were used to perform principal component analysis. **Results.** “Chimarrão” showed higher intensity on the flavor attributes (bitter, astringent and residual) and chimarrão like aroma. Mate tea showed higher intensity on the aroma attributes (mate tea like and sweet). The statistic showed differences ( $p \leq 0,05$ ) between samples for all descriptors. The majority volatile compounds identified in mate tea were: 2,4-heptadienal isomer (13%), 5-methylfurfural (9%), 2,4-heptadienal (8%), (Z) linalool oxide (5%), (t) linalool oxide (5%) and in chimarrão were: linalool (57%),  $\alpha$ -terpineol (12%), and dihydrocarveol acetate (7%). The presence of 5-methylfurfural, linalool oxides and t- $\beta$ -damascenone in mate tea can contribute for its sensorial description. Linalool and  $\alpha$ -terpineol founded in “chimarrão” can be responsible for its sensorial description. **Conclusions.** The two yerba mate beverages evaluated showed differences in sensory characteristics. The heating-drying manufacturing process can make important alterations in the volatile compounds, which will determine their sensorial quality.

**Keywords:** *Ilex paraguariensis*, yerba mate, aroma, volatile compounds, sensory analysis.

# ÍNDICE

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1 Erva-mate.....	1
1.2 Pesquisa de sabor e aroma.....	4
1.2.1 Isolamento dos compostos voláteis.....	7
1.2.2 Separação dos compostos voláteis.....	10
1.2.3 Identificação dos compostos voláteis.....	10
1.2.4 Análise sensorial.....	13
1.2.4.1 Análise descritiva quantitativa (ADQ).....	13
1.3 Compostos voláteis e análise sensorial em chá.....	15
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	22
2.1 Objetivo geral.....	22
2.2 Objetivos específicos.....	22
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	23
3.1 Material.....	23
3.2 Análise instrumental do aroma e do sabor de bebidas à base de erva-mate.....	23
3.2.1 Isolamento dos compostos voláteis.....	23
3.2.1.1 "Headspace" dinâmico.....	23
3.2.1.2 Hidrodestilação (Clevenger).....	26
3.2.2 Separação e quantificação dos compostos voláteis.....	28
3.2.2.1 "Headspace" dinâmico.....	28
3.2.2.2 Hidrodestilação (Clevenger).....	29
3.2.3 Identificação dos compostos voláteis.....	30
3.3 Análise sensorial do aroma e do sabor de bebidas à base de erva-mate.....	31
3.3.1 Preparo das bebidas.....	31
3.3.2 Análise descritiva quantitativa (ADQ).....	32
3.3.2.1 Recrutamento dos provadores (entrevista).....	32

3.3.2.2	Pré-seleção.....	32
3.3.2.3	Desenvolvimento da terminologia descritiva.....	35
3.3.2.4	Treinamento e seleção de provadores.....	37
3.3.2.5	Avaliação das amostras e análise dos resultados.....	38
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>39</b>
4.1	Análise instrumental do aroma e do sabor de bebidas à base de erva-mate.....	39
4.1.1	Isolamento dos compostos voláteis.....	39
4.1.1.1	“Headspace” dinâmico.....	39
4.1.1.2	Hidrodestilação (Clevenger).....	41
4.1.2	Separação e quantificação dos compostos voláteis.....	42
4.1.2.1	Isolados obtidos por “headspace” dinâmico.....	42
4.1.2.2	Isolados obtidos por hidrodestilação (Clevenger).....	46
4.1.3	Identificação dos compostos voláteis.....	48
4.1.3.1	Isolados obtidos por hidrodestilação (Clevenger).....	48
4.2	Análise sensorial do aroma e do sabor de bebidas à base de erva-mate.....	52
4.2.1	Análise descritiva quantitativa (ADQ).....	52
4.2.1.1	Pré-seleção dos provadores.....	52
4.2.1.2	Desenvolvimento da terminologia descritiva.....	54
4.2.1.3	Treinamento e seleção de provadores.....	62
4.2.1.4	Avaliação das amostras e análise dos resultados.....	74
4.3	Relação entre as análises instrumental e sensorial.....	77
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>78</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>80</b>

<b>ANEXOS</b> .....	86
Anexo I - Fluxograma de produção da erva-mate.....	i
Anexo II - Ficha de avaliação da intensidade de aroma característico (“headspace” dinâmico).....	ii
Anexo III - Ficha de avaliação da intensidade de aroma característico (hidrodestilação).....	iii
Anexo IV - Questionário para pré-seleção de provadores.....	iv
Anexo V - Termo de Consentimento Esclarecido.....	v
Anexo VI - Ficha utilizada para o teste de reconhecimento de gostos básicos.....	vii
Anexo VII -Ficha utilizada para o teste de reconhecimento de odores.....	viii
Anexo VIII -Ficha utilizada para o teste de ordenação.....	ix
Anexo IX - Ficha utilizada para o método de rede.....	x
Anexo X - Íons majoritários provenientes da fragmentação por espectrometria de massas dos compostos voláteis presentes em chimarrão.....	xi
Anexo XI - Íons majoritários provenientes da fragmentação por espectrometria de massas dos compostos voláteis presentes em chá-mate.....	xii

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Intensidade de aroma característico de chá-mate obtidos por eluição com diferentes solventes.....	39
Tabela 2 – Intensidade de aroma característico dos isolados de chá-mate e chimarrão, obtidos por hidrodestilação.....	42
Tabela 3 – Porcentagens relativas dos picos representativos dos compostos voláteis de chimarrão e de chá-mate e índice de kovats.....	44
Tabela 4 – Porcentagens relativas dos picos representativos dos compostos voláteis de chimarrão e chá-mate.....	47
Tabela 5 – Identificação dos compostos voláteis encontrados em chimarrão.....	49
Tabela 6 – Identificação dos compostos voláteis encontrados em chá-mate. .....	50
Tabela 7 – Resultados da ordenação por intensidade de odor característico de amostras de chá-mate.....	53
Tabela 8 – Módulos das diferenças entre as somas das ordens das amostras.....	53
Tabela 9 - Termos descritivos desenvolvidos individualmente pelos provadores para descrever similaridades e diferenças entre as amostras de bebidas a base de erva-mate e o número de vezes que foram citados.....	55
Tabela 10 - Definições e referências utilizadas para descrever os atributos de chá-mate e chimarrão.....	57
Tabela 11 – Valores de $p$ de $F_{amostra}$ e $p$ de $F_{repetição}$ (vermelho) para cada provador em cada atributo julgado no teste de seleção da equipe descritiva quantitativa.....	63
Tabela 12 – Médias da Equipe Sensorial (ES) e de cada provador para os atributos de amostras de chimarrão (1) e chá-mate (2) julgados na etapa de seleção da equipe descritiva quantitativa.....	64
Tabela 13 - Definições e referências utilizadas para descrever os atributos de chá-mate e chimarrão.....	66

Tabela 14 – Valores de $p$ de $F_{amostra}$ e $p$ de $F_{repetição}$ (vermelho) para cada provador em cada atributo julgado no teste de seleção da equipe descritiva quantitativa.....	72
Tabela 15 – Médias da Equipe Sensorial (ES) e de cada provador para os atributos de amostras de chimarrão (1) e chá-mate (2) julgados na etapa de seleção da equipe descritiva quantitativa.....	73
Tabela 16 – Médias da equipe sensorial para a intensidade dos atributos de aroma e sabor das amostras de bebidas à base de erva-mate.....	74

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Amostras de erva-mate utilizadas na pesquisa.....	23
Figura 2 - Isolamento de compostos voláteis por "headspace" dinâmico....	25
Figura 3 - Isolamento de compostos voláteis por hidrodestilação.....	27
Figura 4 - Amostras codificadas oferecidas no teste de reconhecimento de gostos básicos.....	33
Figura 5 - Amostras oferecidas no teste de ordenação sob luz verde.....	35
Figura 6 - Amostras de chá-mate (734) e chimarrão (256) utilizadas para o método de rede.....	37
Figura 7 - Cromatograma do isolado de voláteis de chá-mate após duas horas de captura e eluição com diclorometano.....	40
Figura 8 - Cromatograma do isolado de voláteis de chá-mate após duas horas de captura e eluição com acetona.....	41
Figura 9 - Cromatograma de chimarrão obtido por CG-DIC.....	43
Figura 10 - Cromatograma de chá-mate obtido por CG-DIC.....	43
Figura 12 - Cromatograma de chimarrão obtido por CG-DIC.....	46
Figura 13 - Cromatograma de chá-mate obtido por CG-DIC.....	46
Figura 14 - Cromatograma de chimarrão obtido por CG-EM.....	48
Figura 15 - Cromatograma de chá-mate obtido por CG-EM.....	48
Figura 16 - Ficha de avaliação utilizada na seleção de provadores.....	59
Figura 17 - Ficha de avaliação utilizada na seleção de provadores.....	60
Figura 18 - Ficha de avaliação utilizada na seleção de provadores.....	61
Figura 19 - Ficha de avaliação utilizada na seleção de provadores.....	68
Figura 20 - Ficha de avaliação utilizada na seleção de provadores.....	69
Figura 21 - Gráfico aranha para os atributos de aroma e sabor.....	75
Figura 22 - Análise de Componentes Principais (ACP) para sabor e aroma de chá-mate e chimarrão.....	76

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Erva-mate

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é uma planta originária da América do Sul, da qual se extrai as folhas que, quando secas, originam a erva-mate para o tererê e o chimarrão, e quando tostadas, para o chá-mate. A planta é cultivada na Argentina, no Paraguai e no Brasil. No Brasil sua área de distribuição natural abrange cinco estados: Mato Grosso do Sul, São Paulo, Santa Catarina, Paraná e Rio Grande do Sul (DESER 2001).

No Brasil, segundo a Resolução RDC nº. 302 de 07/11/2002, “erva-mate é o produto constituído, exclusivamente, pelas folhas e ramos, das variedades de *Ilex paraguariensis*, na forma inteira ou moída, obtido através de processo de secagem e fragmentação, o qual constitui matéria-prima para chimarrão e tererê. Não é considerada erva-mate a matéria-prima que teve parcial ou totalmente retirados os princípios ativos, por qualquer processo tecnológico”.

O sistema de produção de erva-mate varia de acordo com a localidade, os aspectos ligados à tradição, as práticas de cultivo e os aspectos econômicos. Atualmente, além de sua importância ambiental e socioeconômica a produção se constitui em uma das alternativas de emprego e de geração de renda, principalmente nas pequenas propriedades rurais. Os produtos tradicionalmente obtidos da erva-mate são: erva para chimarrão, erva para tererê, chá mate em saquinhos, chá mate solúvel e bebida pronta para consumo (DESER 2001). O fluxograma de produção está apresentado no Anexo I.

No sistema de produção da erva-mate não se utiliza qualquer insumo sintético, sendo próximo ao natural. Não são empregados pesticidas nem adubos sintéticos, apenas adubos orgânicos (CORREA 2001).

Chá, palavra utilizada pela maioria dos consumidores, é caracterizado como uma bebida que consiste na infusão de folhas secas e/ou tostadas da espécie vegetal *Camellia sinensis*, popularmente



conhecida como chá verde (*green tea*). Infusões preparadas com folhas, talos, flores e frutos de outras plantas, também podem ser denominadas como chá (SUTHERLAND 1994).

O consumo do chá é um hábito muito antigo. Tradicionalmente era ingerido para “ralear” o sangue, eliminar toxinas e prevenir contra doenças. Atualmente é reconhecido como uma bebida saudável, que apresenta propriedades benéficas à saúde humana (DUFRESNE e FARNWORTH 2001).

A erva-mate consumida como chá, chimarrão ou tererê, pode ser muito mais que uma bebida agradável e estimulante. A infusão pode ser uma importante fonte de minerais essenciais e vitaminas. Conforme o Quadro 1, com base na matéria seca, os minerais que estão presentes em maior concentração são potássio, cálcio, magnésio, enxofre, fósforo e manganês. A infusão apresenta maior concentração de potássio, magnésio, enxofre, cálcio, fósforo e manganês (HEINRICHS e MALAVOLTA 2001).

Quadro 1 – Teores de minerais em erva-mate\*.

<b>Minerais</b>	<b>Matéria seca (mg/kg)</b>	<b>Infusão (mg/L)</b>
Fósforo	<b>900</b>	<b>41</b>
Potássio	<b>13000</b>	<b>683</b>
Cálcio	<b>6300</b>	<b>44</b>
Magnésio	<b>4900</b>	<b>188</b>
Enxofre	<b>900</b>	<b>58</b>
Boro	32	2,22
Cobre	8,9	0,28
Ferro	185	0,33
Manganês	<b>880</b>	<b>34</b>
Níquel	1,9	0,03
Zinco	40	0,20
Alumínio	403	2,25
Cádmio	< 0,01	3,43
Cobre	< 0,01	1,25
Cromo	1,5	0,00
Sódio	39	6,31
Chumbo	< 0,03	0,52

\* Fonte: HEINRICHS e MALAVOLTA 2001.

O chimarrão, forma de consumo mais tradicional de erva-mate, é preparado em uma cuia, na qual são adicionados aproximadamente 30 g de erva-mate verde e 400 mL de água quente (70 a 85°C). A ingestão é feita por meio de um tubo de metal, denominado como “bomba”, que contém uma “peneira” em uma das extremidades, para que a erva fique retida e ocorra apenas a passagem do líquido. O consumo geralmente ocorre em grupo, assim, várias pessoas compartilham da mesma cuia. A tradição é colocar água quente de 8 a 10 vezes sobre a mesma erva. O tererê, outra forma de consumo da erva-mate verde, é preparado do mesmo modo que o chimarrão, só que com água fria (5 a 10°C). A erva-mate torrada é consumida em forma de infusão, conhecida como chá-mate. Encontra-se em saquinhos, a granel, solúvel ou como bebida pronta para o consumo (SANTA CRUZ et. al 2002).

Na medicina popular, a erva-mate é considerada como medicamento para artrite, dor de cabeça, constipação intestinal, reumatismo, hemorróida, obesidade, fadiga, retenção de fluidos, hipertensão, dificuldades de digestão e desordens hepáticas (STAGG e MILLIN 1975). As xantinas, cafeína, teobromina, teofilina e os compostos fenólicos como ácido clorogênico, ácido cafeico e flavonóides são responsáveis por vários dos efeitos farmacológicos (BASTOS e TORRES 2003).

Além dos efeitos citados anteriormente, estudos farmacológicos têm mostrado os efeitos estimulante, diurético e antioxidante da erva-mate (FILIP et. al 2000; SCHINELLA et. al 2000; BASTOS e TORRES 2003) .

FILIP et. al (2000) estudaram a atividade antioxidante em espécies de *Ilex* e os resultados mostraram que todas as plantas apresentaram atividade antioxidante, quando preparadas como infusão. A *Ilex paraguariensis* apresentou a maior atividade antioxidante. Os autores sugerem que o consumo regular de bebidas à base de erva-mate pode ter uma contribuição significativa na defesa antioxidante do organismo humano.

Estudo, realizado por SCHINELLA et. al (2000) mostrou que infusões preparadas com erva-mate (*Ilex paraguariensis*) apresentaram

atividade antioxidante. Os resultados sugerem que a ingestão destas infusões pode contribuir para o aumento da defesa antioxidante do organismo, principalmente contra o ataque de radicais livres.

BASTOS e TORRES (2003) fizeram uma revisão bibliográfica sobre bebidas à base de erva-mate e saúde pública, na qual discutem dados a respeito da composição em compostos bioativos e da atividade antioxidante *in vivo* e *in vitro* destas bebidas. Os autores concluíram que o conhecimento quantitativo e qualitativo da composição de bebidas à base de erva-mate, assim como a educação para o seu consumo, podem trazer benefícios à saúde da população.

As ervas têm sido amplamente estudadas para utilização no tratamento de diversas doenças. Há registros históricos do uso de plantas para tratamento de doenças em várias culturas populares. Os benefícios de uma dieta adequada, relacionados ao potencial antioxidante dos alimentos de origem vegetal, podem contribuir para a redução do risco de doenças degenerativas. Isto é sustentado por estudos científicos, com base em evidências epidemiológicas (AMES et. al 1992 citado por SCHINELLA et. al 2000).

O consumo de erva-mate tem crescido nos últimos anos, fato que pode ser confirmado pela criação de redes de *fast food* com produtos à base de erva-mate. Por ser uma planta de composição química complexa, pode-se vislumbrar muitas aplicações potenciais, as quais poderiam vir a ampliar o consumo de erva-mate e, conseqüentemente, o mercado para esta matéria-prima (ESMELINDRO et. al 2002).

## **1.2 Pesquisa de sabor e aroma**

O sabor é, principalmente, uma resposta integrada às sensações do gosto e do aroma. O gosto é atribuído aos compostos não voláteis presentes nos alimentos, tais como açúcares, sais, cafeína e ácidos, determinando os quatro gostos básicos: doce, salgado, amargo e ácido. O aroma caracteriza-

se por um sistema mais complexo e é atribuído a milhares de substâncias voláteis, de várias classes químicas, com diferentes propriedades físico-químicas. O sabor característico é conferido aos alimentos pelos compostos voláteis (THOMAZINI e FRANCO 2000).

A cadeia de percepção sensorial envolve o estímulo, que alcança o órgão sensor e é convertido em sinal nervoso transportado até o cérebro, o qual organiza e interpreta a sensação recebida em percepção. Por último, uma resposta é elaborada com base na percepção, sendo influenciada por um pré-condicionamento do indivíduo (MEILGAARD et. al 1999).

A composição de voláteis de um alimento é geralmente muito complexa, pois consiste em um grande número de diferentes substâncias orgânicas, que apresentam propriedades químicas distintas. Devido à complexidade dos constituintes do aroma de um alimento, a pesquisa sobre sabor torna-se bastante complexa, exigindo instrumentação sofisticada (IFF, 1997).

As principais etapas da pesquisa do sabor são: o isolamento e concentração dos compostos voláteis, a separação e identificação de cada composto por cromatografia gasosa e espectrometria de massas, a determinação da contribuição de cada componente para a formação do aroma característico por técnicas de olfatométrica, e a correlação entre a análise sensorial e a composição química dos compostos voláteis (THOMAZINI e FRANCO 2000).

O estudo do sabor é um tema de pesquisa que tem despertado grande interesse da comunidade científica, já que além de levar a conhecimentos básicos, ainda resulta em aplicação prática. Os produtos regionais com potencial para exportação têm recebido especial atenção. Um exemplo é o estudo realizado por ALVES e FRANCO (2003) com murici (*Bysonima crassifolia* L. Rich), em que o isolamento dos compostos voláteis foi realizado por "headspace" dinâmico, a separação por cromatografia gasosa e a identificação por cromatografia gasosa acoplada a

espectrometria de massas e índice de Kovats. Quarenta e um compostos voláteis do isolado de murici foram identificados.

Estudo sobre o aroma de licor de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Spreng) realizado por OLIVEIRA et. al (2004) é mais um exemplo. Neste trabalho a metodologia para o isolamento dos compostos voláteis foi "headspace", a separação por cromatografia gasosa, a identificação por espectrometria de massas e detecção por emissão atômica. Os autores concluíram que a composição de voláteis do cupuaçu é semelhante à do coco e seus derivados. A maior diferença foi a presença de altas concentrações de alquiperazinas, que podem ser considerados como compostos voláteis relevantes para a aceitação sensorial do cupuaçu.

Outro exemplo é o estudo sobre compostos voláteis de suco de maçã realizado por GARRUTI et. al (2003), em que foi utilizada a técnica de "headspace" para isolamento, cromatografia gasosa e espectrometria de massas para separação e identificação dos compostos voláteis da bebida. A técnica OSME foi utilizada para determinar a importância de cada composto para o aroma característico do suco de maçã. Foram encontrados ésteres importantes para caracterização do aroma doce, fruta e maçã. A relação entre análise sensorial e instrumental permitiu visualizar a importância dos voláteis para a qualidade sensorial do produto.

Por exigir instrumentação sofisticada e cara, este tipo de estudo tem sido realizado quase que exclusivamente em países desenvolvidos. Em função da modernização de vários laboratórios em países subdesenvolvidos, com a aquisição de aparelhos de cromatografia gasosa acoplados com espectrômetro de massas, a investigação de compostos responsáveis pelo aroma de alimentos deverá ser implantada e ampliada. No Brasil, existem poucos laboratórios trabalhando na pesquisa do sabor (THOMAZINI e FRANCO 2000).

### 1.2.1 Isolamento dos compostos voláteis

A etapa de isolamento de voláteis deve ser considerada criteriosamente na pesquisa de sabor e aroma, visto que, em função da metodologia empregada, pode-se obter um isolado com qualidade sensorial não correspondente ao produto original (GUICHARD e ISSANCHOUS 1988).

O isolamento dos compostos voláteis é uma etapa necessária a ser realizada anteriormente à introdução da amostra em um instrumento analítico (FRANCO e JANZANTTI 2004). A técnica de isolamento visa minimizar a degradação dos compostos voláteis de interesse e evitar a introdução de artefatos através de precauções simples, tais como a redução do tempo de análise e o uso de pouca quantidade de solvente orgânico. (THOMAZINI e FRANCO 2000). Existem duas abordagens para o isolamento dos compostos voláteis. A primeira denominada análise total compreende uma análise de todos os compostos voláteis presentes no alimento, realizada freqüentemente pelo emprego da unidade de destilação-extração simultânea (SDE) desenvolvida por NICKERSON e LIKENS (1996). Nesta técnica o aparato promove simultaneamente a condensação do destilado e de um solvente orgânico imiscível. Ambos os líquidos são continuamente reciclados e, assim, os compostos solúveis em uma fase aquosa são transferidos para um solvente orgânico (BERNARDO-GIL et. al 2002).

A destilação é um processo de separação de misturas líquidas, baseado na diferença de composições dos constituintes nas fases líquida e de vapor em equilíbrio, devido à diferença de volatilidade entre os componentes do líquido. Na hidrodestilação tipo Clevenger a matriz a ser avaliada é imersa em água. O aquecimento até fervura provoca a formação de vapor, o qual arrasta os compostos mais voláteis. Após condensação, estes compostos separam-se da água por decantação (BERNARDO-GIL et. al 2002).

Esta técnica estuda a composição qualitativa e quantitativa de todos os componentes voláteis do alimento. O isolado obtido apresenta compostos

de médio e alto ponto de ebulição. Ao ser utilizada devem ser observadas modificações dos compostos de interesse pelo calor ou ainda pela introdução de artefatos provenientes do solvente ou vidraria. Deve-se, também, observar após cada etapa do isolamento, se o aroma original mantém-se inalterado (TERANISHI et. al 1971).

Na destilação com arraste por vapor, o vapor de água atravessa a matriz arrastando os componentes voláteis, sendo a separação semelhante à destilação Clevenger. Após a destilação deve-se concentrar os voláteis da solução aquosa. O procedimento mais empregado é a extração com solvente orgânico, embora algumas outras técnicas; como a crioconcentração e adsorção em carvão ativo, já tenham sido estudadas (BERNARDO-GIL et. al 2002).

A segunda abordagem envolve a análise do "headspace" de uma amostra (líquida ou sólida). Dois tipos diferentes de análise do "headspace" são comumente empregados: "headspace" estático e "headspace" dinâmico. No primeiro, a amostra é mantida em um recipiente fechado até que se atinja um equilíbrio termodinâmico dos compostos voláteis entre a fase líquida e a fase gasosa, a uma determinada temperatura. Uma alíquota da fase gasosa é recolhida e injetada no cromatógrafo gasoso (THOMAZINI e FRANCO 2000).

No "headspace" dinâmico há uma coleta contínua dos compostos voláteis, realizada por um sistema a vácuo ou pela passagem de um gás inerte. Uma armadilha recheada com material adsorvente coleta e concentra os compostos voláteis (THOMAZINI e FRANCO 2000). Como material adsorvente têm sido usados polímeros porosos como Tenax, Chromosorb e Porapak, dependendo do tipo de amostra em estudo (SINGLETON e PATTE 1978). Posteriormente, os compostos são eluídos da armadilha por um solvente orgânico adequado ou então são dessorvidos termicamente (THOMAZINI e FRANCO 2000).

FRANCO e RODRIGUES-AMAYA (1983) desenvolveram uma metodologia para a captura dos compostos voláteis em suco de graviola e

mamão, utilizando polímero Porapak Q e um vácuo baixo (0,64 psi) e constante. A amostra era misturada com NaCl para prevenir reações enzimáticas e colocada em um balão sob agitação magnética lenta. O balão foi conectado a uma armadilha contendo o polímero que, por sua vez, foi conectado a um kitassato e a uma trompa de vácuo. Os voláteis capturados foram desorvidos com solvente. Para a armadilha foi utilizada uma coluna de vidro de borossilicato, a qual servia como um tubo guia no injetor do cromatógrafo, permitindo um eficiente condicionamento do Porapak. Esta técnica mostrou que a captura dos voláteis em uma armadilha de Porapak Q por sucção é aplicável à amostras complexas, desde que padronizadas as condições de captura. O método é reprodutível e representativo do aroma original da amostra.

Este método foi utilizado também para estudar os compostos voláteis de frutas brasileiras (FRANCO e SHIBAMOTO 2000), suco de maçãs (JANZANTTI et. al 2000), vinho de caju (GARRUTI 2001), mel (BASTOS et. al 2002) e murici (ALVES e FRANCO 2003) após a devida padronização das condições de captura para cada uma das amostras.

A análise dinâmica do "headspace" destaca-se como um dos melhores métodos disponíveis, pois, além de fornecer reprodutibilidade, permite a manutenção da integridade química das moléculas, eliminando a formação de artefatos. Dessa forma, os voláteis retidos a partir desta técnica podem representar mais fielmente o aroma de um produto (THOMAZINI e FRANCO 2000).

Entre outras técnicas de isolamento de voláteis destaca-se a microextração em fase sólida (SPME). O método envolve dois processos: a partição dos compostos entre a fase estacionária da fibra (fibras de sílica fundida quimicamente modificadas) e a amostra; e a desorção térmica dos compostos no injetor do cromatógrafo, equipado com um insersor apropriado. Este método tem sido utilizado para caracterização de compostos voláteis de alimentos e, principalmente, como método de rotina



para verificar mudanças no aroma e no sabor durante processamento (THOMAZINI e FRANCO 2000).

### **1.2.2 Separação dos compostos voláteis**

A mistura complexa de compostos voláteis, obtida através da etapa de isolamento, requer para a sua separação a aplicação de técnicas bastante seletivas, sensíveis e eficientes (THOMAZINI e FRANCO 2000).

A cromatografia gasosa de alta resolução constitui-se na técnica de separação mais indicada para análise dos componentes do aroma dos alimentos, pois apresenta um poder de resolução excelente, tornando possível a análise de várias substâncias de uma mesma amostra. Outro importante fator é sua alta sensibilidade, necessitando de apenas pequenas quantidades de amostra para a obtenção de resultados quantitativos em concentrações que variam de picograma a miligramas (COLLINS et. al 1990).

Esta técnica pode aliar o emprego de coluna capilar de sílica com injetores de geometria específica para injeção tipo "splitless" de Grob (GROB e ROMAN 1981), própria para análise de traços. Com este tipo de injeção, a amostra injetada é introduzida na coluna e só então o injetor é limpo por um fluxo de gás puro. A alta flexibilidade desse tipo de coluna permite que ela seja inserida diretamente no detector do cromatógrafo, evitando o emprego de conexões que poderiam introduzir artefatos ou diminuir a resolução da separação cromatográfica (GROB e ROMAN 1981).

### **1.2.3 Identificação dos compostos voláteis**

A identificação de compostos responsáveis por aromas desejáveis e indesejáveis em produtos alimentícios possibilita o conhecimento e o controle de reações químicas de alto impacto na qualidade dos alimentos, a obtenção de aromatizantes naturais e sintéticos, a otimização e o controle de

operações envolvidas no processamento dos alimentos, dentre outras aplicações (SILVA et. al 2004).

A cromatografia gasosa não é uma técnica qualitativa eficiente, necessitando de técnicas auxiliares para a identificação segura das substâncias presentes na amostra (GARRUTI 2001). A associação do cromatógrafo gasoso ao espectrômetro de massas foi um grande avanço na identificação de compostos voláteis. O espectrômetro de massas apresenta características que permitem o acoplamento ao cromatógrafo gasoso, como detector. O emprego de computadores que ao mesmo tempo controlam o equipamento, analisam os dados e comparam com o material de referência explica a grande utilidade da cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM) nas pesquisas científicas (GARRUTI 2001).

Os espectrômetros de massas fornecem boa estabilidade e sensibilidade para análise de compostos voláteis. As moléculas no estado gasoso são bombardeadas, sob vácuo ( $10^{-8}$  atm), por um fluxo de elétrons produzidos por filamentos de tungstênio ou rênio. O impacto dos elétrons (70 eV ou 1600 kcal/mol) com as moléculas produz íons, que são fragmentos da molécula, os quais são encaminhados para um analisador de massas. Os três analisadores de massas, freqüentemente citados, compreendem o filtro de massa quadrupolar, o "time of flight" (TOF) e o "ion trap" (STEVEN 1957 citado por THOMAZINI e FRANCO 2000).

Os espectrômetros de massas são usados na identificação e confirmação de uma grande variedade de compostos orgânicos, as relações massa/carga obtidas podem ser transformadas em informação estrutural, a partir de estudos sobre os mecanismos de fragmentação dos compostos (MCLAFFERTY e TURECEK 1993).

O espectro de massas de uma substância desconhecida é insuficiente para determinar sua identidade, pois existem outras substâncias que apresentam espectros de massas com alto grau de similaridade (JENNINGS 1980). O índice de retenção tem sido usado como um parâmetro auxiliar de identificação desde o início do emprego da

cromatografia gasosa. Seu princípio baseia-se em tempo de retenção, sendo influenciado pela fase estacionária, pela temperatura e pelo fluxo de gás na coluna, assim, apenas quando estes parâmetros são bem controlados, o método apresenta alta reprodutibilidade (MILLER 1988).

Entre os índices de retenção propostos, o mais empregado é o Índice de Kovats, que descreve o comportamento de retenção de um composto comparativamente ao de uma mistura de alcanos, contendo moléculas com diferentes números de átomos de carbono (JENNINGS 1980).

O índice de Kovats (I) é definido como cem vezes um número hipotético, que é igual ao número de átomos de carbono de um alcano saturado de cadeia normal, que tem o mesmo tempo de retenção ajustado ( $t'_r$ ) que o composto em estudo. Esse índice pode ser determinado usando-se um gráfico que relaciona o número de carbonos de alcanos saturados normais com o logaritmo dos tempos de retenção ajustados desses alcanos, ou pelo cálculo da seguinte equação (JENNINGS 1980):

$$I = 100 z + 100 \frac{\log t'_R x - \log t'_R z}{\log t'_R (z+1) - \log t'_R z}$$

Onde:

$t'_R x$  = tempo de retenção ajustado do composto x

$t'_R z$  e  $t'_R (z+1)$  = tempos de retenção ajustados de alcanos de cadeia normal, sendo que  $t'_R x$  é intermediário a  $t'_R z$  e  $t'_R (z+1)$

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, aliada ao cálculo do índice de Kovats, tem sido empregada com sucesso nas pesquisas visando à identificação de compostos voláteis. Ocasionalmente, mesmo após a obtenção do espectro de massas e do Índice de Kovats do composto de interesse, não se consegue fazer uma identificação segura. Nesse caso, deve-se lançar mão de padrões e do índice de Kovats do composto, em colunas de diferentes polaridades. (MCLAFFERTY e TURECEK 1993).

#### **1.2.4 Análise sensorial**

Análise sensorial pode ser definida como um conjunto de técnicas para medida e avaliação de determinadas propriedades dos alimentos por um ou mais dos sentidos humanos (SILVA e DAMÁSIO 1994).

A análise sensorial utiliza-se da habilidade humana natural de comparar, diferenciar e quantificar os atributos sensoriais, para avaliar alimentos e bebidas, empregando a metodologia apropriada aos objetivos do estudo e o tratamento estatístico dos dados obtidos (SBCTA 2000).

As análises sensorial e instrumental devem estar correlacionadas a fim de produzir resultados com aplicações práticas. Técnicas de análise sensorial irão contribuir para a verificação de certificação da semelhança entre o aroma do alimento e o aroma presente no isolado, garantindo sempre a manutenção da composição do aroma típico (BASTOS et. al 1998).

##### **1.2.4.1 Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)**

Uma vez que a qualidade dos produtos alimentícios é fortemente influenciada por suas características sensoriais, vários métodos descritivos foram desenvolvidos com o objetivo de determinar o perfil sensorial de alimentos. Entre estes, a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) é muito utilizada pela indústria alimentícia, porque descreve e quantifica com precisão todos os atributos sensoriais que configuram a qualidade de um alimento (POLETTTO et. al 1996).

Os componentes de uma análise descritiva quantitativa podem ser agrupados em quatro grandes aspectos de igual importância (MEILGAARD et. al 1999):

- aspecto qualitativo – descrição e definição dos atributos sensoriais que caracterizam o produto;
- aspecto quantitativo – medida da intensidade com que os atributos são percebidos;

- aspecto temporal – ordem com que os atributos são percebidos;
- integração das percepções – impressões globais sobre um conjunto de atributos.

Na Análise Descritiva Quantitativa é feito o monitoramento de cada provador e da equipe de maneira contínua por meio de testes sucessivos. É assumido que para determinada característica, cada provador dará contribuição relevante e a magnitude da contribuição será refletida no nível de significância estatística e no grau de confiança atribuído ao resultado. A performance dos provadores e a consistência dos resultados podem ser avaliadas ao longo dos testes. O tratamento dos dados é feito por análise de variância de um ou dois fatores e também pelo grau de interação entre as respostas dos provadores (ASTM 1981).

As etapas relacionadas com a aplicação da ADQ, segundo SILVA e DAMÁSIO (1994) são:

- 1ª - Seleção dos provadores: a equipe de provadores é composta por 10 a 12 indivíduos previamente selecionados.
- 2ª - Desenvolvimento de terminologia descritiva: os provadores avaliam sensorialmente o produto e verbalizam as sensações percebidas, discutindo-as em grupo, com a ajuda do líder da equipe.
- 3ª - Treinamento e seleção de provadores: o treinamento é realizado com os próprios produtos a serem avaliados e com os materiais de referência.
- 4ª - Teste sensorial: deve ser conduzido em condições que garantam a individualidade dos provadores, bem como os demais requisitos necessários à avaliação sensorial das amostras.
- 5ª - Análise dos resultados: são avaliados por Análise de Variância (ANOVA) e/ou Análise Multivariada (MANOVA).

Alguns estudos mostram a importância da ADQ na descrição de termos sensoriais, relacionados ao sabor e ao aroma de alimentos. MURRAY et. al (2001) avaliou metodologias descritivas utilizadas em análise sensorial, como perfil de sabor, perfil de textura, análise descritiva

quantitativa, análise tempo-intensidade, entre outros. Os autores concluíram que a análise descritiva quantitativa continua sendo o processo mais compreensivo, flexível e útil, pois fornece informações detalhadas de todas as propriedades sensoriais dos produtos analisados.

FRANK (2002) estudou as respostas dos julgadores ao analisarem uma característica específica de um alimento ou bebida, como doçura. O autor finalizou seu estudo recomendando que se tenha cuidado ao realizar análises sensoriais, pois mesmo julgadores treinados não conseguem focar apenas em um atributo ou estímulo, ele vai analisar o alimento por inteiro. Assim, as instruções para os testes e o treinamento dos julgadores devem ser bem desenvolvidas.

A diferença entre os métodos que podem ser utilizados para caracterizar ou selecionar um produto de qualidade e aqueles destinados a definir os padrões de qualidade apropriados para um produto foram discutidos por COSTELL (2002). O autor concluiu que todos os métodos propostos para avaliar a qualidade sensorial de um alimento podem integrar os programas de controle de qualidade de alimentos. A característica do produto, o perfil de qualidade e o nível de controle que se deseja obter irão contribuir para a escolha do método a ser utilizado.

### **1.3 Compostos voláteis e análise sensorial em chá**

O conhecimento sobre a composição de voláteis e das características sensoriais de infusões, principalmente de chá, tem evoluído nos últimos 15 anos, com a utilização de técnicas sensíveis para o isolamento e para a identificação dos compostos voláteis (DUDAREVA et. al 2004).

REIF et. al (1975) isolaram compostos voláteis de chá preto por uma extração com CO<sub>2</sub> sob pressão, seguidos de destilação atmosférica a vapor e captura dos voláteis em Porapak Q. Um total de 56 componentes foi encontrado, compreendendo as classes químicas: piridinas, pirazinas,

quinolinas, tiazoles, aminas aromáticas e hidrocarbonetos. Estes compostos foram identificados por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas.

HOWARD (1978) estudou a química dos compostos voláteis presentes em chá preto. Os principais precursores de aroma encontrados foram: aminoácidos (a concentração de aminoácidos livres na folha verde de chá aumenta durante o sapeco e diminui durante a fermentação), ácidos linoléicos (é o maior constituinte lipídico da folha verde de chá), carotenóides (estão presentes nas folhas verdes e diminuem durante a fermentação) e álcoois.

Outro estudo sobre a composição de voláteis de infusões de chá preto foi realizado por MICK e SCHREIER (1984). O isolamento dos compostos foi realizado por destilação a vácuo seguido de extração com solvente (diclorometano). A identificação foi realizada por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas. Foram identificados 133 compostos, de diferentes classes químicas (hidrocarbonetos, ésteres, álcoois, carbonilas, lactonas, fenóis e miscelâneas).

FINGER et. al (1992) estudaram a determinação dos constituintes naturais do chá e observaram que a maioria dos compostos voláteis do produto são formados durante o processamento, a partir de precursores como carotenóides, aminoácidos e lipídios. Os terpenos pertencem a maior classe de metabólitos secundários das plantas e representam grande parte dos compostos voláteis (DUDAREVA et. al 2004).

TOGARI et. al (1995a) analisaram os compostos voláteis presentes em três categorias de chás (verde, semitorrada e torrada) da planta *Camellia sinensis*. Os compostos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas. Os três tipos de chás apresentaram diferenças significativas relacionadas à presença de compostos voláteis, mesmo tendo sido obtidos da mesma planta.

TOGARI et. al (1995b) analisaram 44 amostras de chá de três categorias, coletadas em diferentes etapas de processamento (verde,

semitorrada e torrada) de uma mesma planta (*Camellia sinensis*). As amostras foram avaliadas por provadores utilizando-se os 16 termos sensoriais que foram descritos por YAMANISHI (1977) citado por TOGARI et. al (1995a). Depois de selecionarem os principais termos descritores baseados nos resultados das análises sensorial e estatísticas multivariadas, foram realizadas análises cromatográficas, para relacionar os compostos aromáticos com os termos sensoriais. Os autores concluíram que os termos descritos sugerem importantes diferenças na caracterização das três categorias de chá e que o uso da cromatografia gasosa e, posteriormente, da análise multivariada podem relacionar as características aromáticas com os compostos voláteis.

SHIMODA et. al (1995a) compararam dois métodos de isolamento de voláteis de chá verde (*Camellia sinensis*), o método de destilação extração simultâneos (SDE), conduzido a 70°C, em pressão reduzida (150 mmHg) e o método de adsorção em coluna de Porapak Q seguido de dessorção com uma mistura de éter dietílico e isopentano. Os autores verificaram que a SDE levou à decomposição de alguns compostos e à formação de outros, ou seja, houve alteração no aroma original da infusão. Enquanto, o método de extração em fase sólida permitiu a separação dos compostos voláteis sem alteração do aroma do chá.

SHIMODA et. al (1995b) compararam a composição de voláteis em diferentes amostras de chá verde. O isolamento foi realizado pelo método de adsorção em coluna de Porapak Q (extração em fase sólida) e dessorvidos com uma mistura de éter dietílico e isopentano. Alguns compostos voláteis foram relacionados com os descritores sensoriais para aroma de chá verde. Os compostos D-nerolidol, 6-metil-alpha-ionona, metil jasmonato, indol e cumarina foram contribuintes ao aroma típico de chá verde enquanto, linalool, 2,6-dimetil-1,37-octatrien-6-ol, benzenoacetaldéido e hexanoato de 3-hexila foram relacionados ao aroma floral e fruta.

O impacto de diversas técnicas de cultivo e de processamento na composição de voláteis de chá preto, com o intuito de otimizar as condições



de processamento para melhor qualidade e aroma do produto final, foi pesquisado por RAVICHANDRAN e PARTHIBAN (1998). Foram utilizados três cultivares de chá (Assam, China e Campod) e para análise dos compostos voláteis foram utilizadas SDE - destilação extração simultâneos - com diclorometano, cromatografia gasosa e cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas para identificação dos compostos. Os voláteis encontrados variaram em sua contribuição odorífera nas diversas fases de processamento. Os compostos voláteis identificados foram divididos em dois grupos: Grupo I (1-penten-3-ol; n-hexanal; n-hexanol; *cis*-3-hexenal; *trans*-2-hexenal; *cis*-3-hexenol; e pentanol) e Grupo II (linalool; óxidos de linalool; salicilato de metila; fenilacetaldéido; geraniol; álcool benzílico; 2-peniletanol; benzaldeido;  $\alpha$ -ionona;  $\beta$ -ionona). Este estudo mostrou que a composição de voláteis de chá pode ser alterada pelas diferentes técnicas de processamento e de cultivo.

KUMAZAWA e MASUDA (1999) isolaram e identificaram compostos voláteis importantes para o chá verde de alta qualidade (*Sen-cha – Camellia sinensis* L. var. Yabukita) proveniente do Japão. Os isolados foram obtidos pela percolação da infusão das folhas de chá verde a 40°C e por uma coluna de Porapak Q. Os compostos adsorvidos foram eluídos com diclorometano. Esse extrato foi concentrado primeiramente em rota evaporador e depois sob fluxo de nitrogênio. O extrato foi submetido à análise olfatométrica (AEDA – *Aroma Extract Dilution Analysis*), que identifica quais, entre os compostos voláteis presentes, apresentam contribuição odorífera importante ao produto. Foram identificados 36 compostos importantes ao aroma desse produto, entre os quais, 4-metoxi-2-metil-2-butanetiol (carne), (Z)-1,5-octadien-3-ona (metálico), 4-mercapto-4-metil-2-pentanona (carne), (E, E)-2,4-decadienal (gorduroso),  $\beta$ -damascona (mel), (Z)-metil jasmonato (floral) e indol (animal) mostraram os maiores fatores de diluição (FD).

Características do sabor relacionadas aos compostos voláteis de chá verde foram estudadas por KATO e SHIBAMOTO (2001). Foram utilizadas quinze amostras comerciais de chá verde, preparadas com folhas verdes frescas obtidas de três países asiáticos. Entre centenas de

compostos encontrados, onze foram escolhidos para comparação entre as variedades de chá: hexanal, 1-penten-3-ol, heptanal, 1-pentanal, (Z)-2-penten-1-ol, (Z)-3-penten-1-ol, oxido de linalol, linalol, propanoato de linalila e geraniol. As concentrações de linalool e hexanal parecem ter uma contribuição importante na qualidade sensorial do chá verde. A presença de compostos heterocíclicos em algumas amostras sugerem que a temperatura usada no processamento do chá é um fator a ser considerado na formação dos compostos voláteis de chá verde.

KUMAZAWA e MASUDA (2001) avaliaram a mudança no sabor de chá preto (*Darjeeling*) durante o processamento térmico, necessário para produção da bebida pronta comercializada em lata. Foram detectados 10 compostos odoríferos pela técnica AEDA, para os quais o fator de diluição (FD) mudou. Sete desses compostos foram identificados, entre os quais, 3-metilbutanal (estimulante), metional (batata),  $\beta$ -damascenona (doce), dimetil trissulfito (podre) e 2-metoxi-4-vinilfenol (cravo), mostraram os maiores FD após o processamento térmico do chá preto. O composto 3-hidroxi-7,8-dideidro- $\beta$ -ionol foi identificado como um dos precursores da  $\beta$ -damascenona, indicando que a liberação de agliconas durante o processamento de chá preto, está relacionada com a formação desse composto.

Trabalho similar foi feito por KINUGASA e TAKEO (2001), que procuraram identificar a causa do aparecimento de *off-flavors* após a pasteurização (120°C/8 minutos) de chá em lata. Os autores verificaram que ocorre a destruição de algumas classes de compostos como os álcoois e ésteres e a formação de monoterpenos a partir de precursores não voláteis, por processos enzimáticos, envolvendo os glicosídeos presentes no chá verde. Essas mudanças destroem o equilíbrio aromático do chá preto, levando ao aparecimento de *off flavor*.

A contribuição dos compostos derivados de carotenóides para a qualidade do chá preto foi estudada por RAVICHANDRAN (2002), que identificou a  $\beta$ -ionona como o maior produto de degradação da  $\beta$ -caroteno. O

dihidro-actinidiolida, 2,2,6-trimetil-6-hidroxiciclohexanona e teaspirano são, provavelmente, formados a partir da primeira oxidação do caroteno. Os compostos derivados de carotenóides têm uma importante contribuição na formação do aroma do chá, pois as folhas verdes contêm grande quantidade de  $\beta$ -caroteno, entretanto, estes compostos decrescem durante o processo de produção, contribuindo para a formação de outros compostos voláteis.

Compostos voláteis presentes em erva-mate verde e torrada foram estudados por KAWAKAMI e KOBAYASHI (1991). Foi avaliada a composição de voláteis presentes em uma amostra de erva-mate proveniente da Argentina e outra proveniente do Brasil. Os compostos foram isolados utilizando-se o aparato desenvolvido por Lickens-Nickerson (SDE – destilação e extração simultâneos). Foram identificados 196 compostos voláteis em erva-mate por cromatografia gasosa e espectrometria de massas.

Consumidores de produtos à base de erva-mate, freqüentemente fazem comentários sobre aparência e sabor, alegando a falta da qualidade desejada. Sugere-se que, para resolver o problema da qualidade do produto final, os produtores poderiam utilizar como instrumento a análise sensorial (SANTA CRUZ et. al 2002). Sabe-se que a qualidade sensorial de um produto esta diretamente relacionada com o seu sabor característico, que é conferido pelos compostos voláteis.

Deste modo, SANTA CRUZ et. al (2002) realizaram um estudo com o objetivo de desenvolver termos descritivos sensoriais e suas referências para produtos à base de erva-mate vendidos na Argentina. Foram utilizadas nove marcas de erva-mate de companhias argentinas, com as quais foram preparados as infusões, o mais próximo do real do consumido, com 75 g de erva-mate para cada litro de água a 80°C. Após agitação, a infusão foi colocada em banho-maria por três minutos e, posteriormente, filtrada em duas etapas. As infusões foram preparadas quinze minutos antes da análise sensorial e permaneceram em banho-maria (75°C) até serem servidas. Oito provadores foram selecionados e treinados. Teste de reconhecimento de gostos básicos, reconhecimento de aromas, de diferença utilizando

triangular e escala hedônica, além dos testes descritivos utilizando produtos semelhantes ao padrão foram empregados neste trabalho. Foram oferecidas a cada provador três amostras, uma para avaliar a aparência da erva-mate seca, outra para avaliar a aparência da infusão e a terceira para avaliar sabor e aroma da infusão. Para esta avaliação foram utilizadas fichas com escala hedônica de nove pontos. Para análise estatística foram utilizados *Generalized procrustes analysis* (GPA) seguido de *Principal coordinate analysis* (PCO); além da análise de variância (ANOVA /  $p < 0,05$ ), Análise de Componentes Principais (ACP) e regressão. Foram gerados 30 termos descritores sensoriais, sendo 11 para aparência, 8 para aroma e 11 para sabor. As amostras foram caracterizadas por diferentes descritores, ou seja, apresentaram diferenças sensoriais quanto aos descritores avaliados.

SANTA CRUZ et. al (2003) mostraram que os descritores para aparência, aroma e sabor de erva-mate têm relação com as dimensões de preferência traçadas por consumidores do produto. Para isso, realizaram ADQ com um painel treinado para a descrição dos termos sensoriais e mapa de preferência para traçar o perfil de aceitação dos consumidores. As amostras utilizadas consistiam de nove marcas diferentes de produtores argentinos. Os atributos de aparência, sabor e aroma correlacionam-se com os mapas de preferências.

Considerando-se a importância deste tipo de estudo para a ciência e tecnologia de alimentos e a não existência de trabalhos que relacionem o sabor e o aroma de bebidas à base de erva-mate com compostos voláteis nelas presentes, justifica-se a presente pesquisa.

Esta pesquisa poderá fornecer subsídios para que a indústria ervateira processe o material visando a melhor qualidade sensorial do produto, o que influi amplamente na sua aceitação. Além disso, o setor ervateiro precisa acompanhar as tendências que vêm ocorrendo no mercado de consumo de bebidas e as mudanças comportamentais do consumidor, que procura produtos mais saudáveis e naturais.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Identificar os compostos voláteis de bebidas à base de erva-mate, apontando os compostos de maior relevância para a formação do aroma e do sabor, assim como, caracterizar sensorialmente as bebidas.

### **2.2 Objetivos específicos**

- I. Determinar a composição de voláteis das bebidas à base de erva-mate, utilizando para o isolamento, as técnicas “headspace” dinâmico e hidrodestilação (Clevenger); para separação e identificação, cromatografia gasosa e espectrometria de massas.
- II. Descrever sensorialmente, mediante Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), o aroma e o sabor de bebidas à base de erva-mate.
- III. Relacionar a descrição sensorial do aroma e do sabor das bebidas com a descrição odorífera dos compostos voláteis identificados.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Material

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) cancheada e torrada do mesmo lote, ou seja, parte da erva verde cancheada foi torrada, foi obtida da empresa LEÃO JÚNIOR S.A., de Curitiba, Paraná, em janeiro de 2004 (Figura 1).

As amostras foram armazenadas em sacos plásticos hermeticamente fechados, em freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$ , e foram utilizadas de acordo com a demanda da pesquisa.



Figura 1 – Amostras de erva-mate utilizadas na pesquisa.

#### 3.2 Análise instrumental do aroma e do sabor de bebidas à base de erva-mate

##### 3.2.1 Isolamento dos compostos voláteis

###### 3.2.1.1 “Headspace” dinâmico

Esta etapa foi realizada no Laboratório de Bromatologia – Departamento de Nutrição, da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

A técnica utilizada para isolar os compostos voláteis de bebidas à base de erva-mate foi "headspace" dinâmico, descrito por FRANCO e RODRIGUES-AMAYA (1983). Neste método, os voláteis são isolados por meio de adsorção em polímero poroso por sucção.

A otimização do método foi realizada conforme descrito por BASTOS et. al (1998).

Foi utilizado polímero Porapak Q (Custommade Coated Packing), 80 – 100 mesh, da VARIAN, para confecção das armadilhas. Estas foram montadas em tubos de vidro com 14 cm de comprimento. Utilizou-se 4 cm de Porapak Q (aproximadamente 0,1 g) e 1 cm de lã de vidro em cada extremidade para a montagem das armadilhas.

A limpeza do polímero foi realizada com solvente (diclorometano), depois colocado em estufa ventilada a 150°C, por 12 horas, e por último deixado sob fluxo de nitrogênio (30 mL/min) por 1 hora.

O chimarrão foi preparado segundo método descrito por SANTA CRUZ et. al (2002). Foram utilizados 75 g de erva-mate verde cancheada para cada 1 L de água a aproximadamente 80°C. A bebida foi deixada em infusão por 5 minutos em béquero tampado com vidro de relógio.

O chá-mate foi preparado conforme indicação do fabricante (LEÃO JÚNIOR S.A.), em que 12 g de erva-mate torrada foram colocados em 1 L de água a aproximadamente 80°C, por 5 minutos, em béquero tampado com vidro de relógio.

As infusões (300 mL) foram mantidas a temperatura de 60°C (temperatura em que é usualmente ingerida) durante o processo de captura, por meio de chapa aquecedora / agitadora. As análises foram realizadas em triplicata para cada bebida.

Em cada análise, a bebida (chimarrão ou chá-mate) foi colocada em balão volumétrico (500 mL) acoplado num sistema de vácuo (bomba vácuo duplo estágio com 480 mmHg de pressão), onde se encontrava uma armadilha de Porapak Q (polímero poroso) (Figura 2).

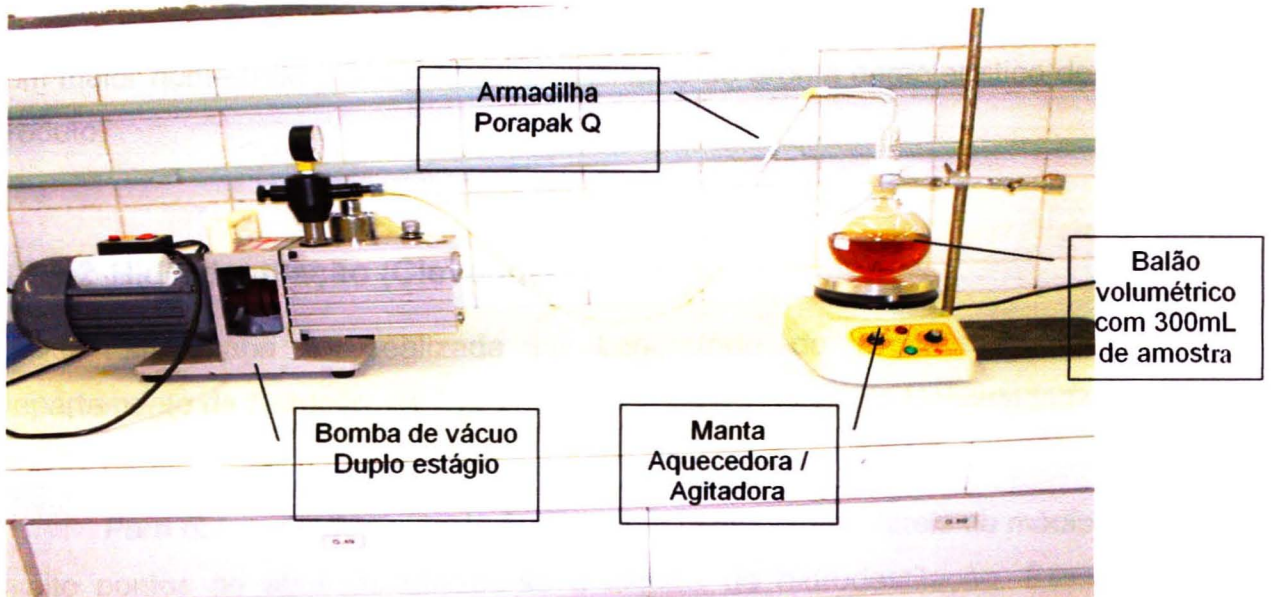


Figura 2 - Isolamento de compostos voláteis por “headspace” dinâmico.

A padronização das condições de captura dos voláteis foi realizada com chá-mate, por ser mais consumido na região sudeste do Brasil (TORMEN 1995), estado de São Paulo, onde a pesquisa foi realizada.

Os compostos foram capturados por duas horas e posteriormente eluídos com 300  $\mu$ L de solvente. Os isolados foram analisados por cromatografia gasosa de alta resolução e por análise sensorial.

Para a escolha do solvente de eluição foram testados acetona e diclorometano. Oito provadores selecionados quanto à capacidade de reconhecer a intensidade do aroma característico de bebidas à base de erva-mate, conforme item 3.3.2.2, avaliaram os diferentes solventes.

Com o auxílio de uma seringa cromatográfica, 5  $\mu$ l do isolado foi transferido para a fita de papel filtro e foi solicitado a cada provador que aspirasse este material após evaporação do solvente e indicasse a



intensidade do aroma característico de chá-mate na ficha de avaliação (Anexo II). O tempo entre a adição do isolado na fita e as avaliações de cada provador foram rigorosamente monitoradas, permanecendo o mesmo para todos os provadores em todas as repetições.

O melhor método foi definido como aquele que produziu o isolado com maior número de picos e maior intensidade do aroma característico do produto.

### **3.2.1.2 Hidrodestilação (Clevenger)**

Esta etapa foi realizada no Laboratório de Bromatologia – Departamento de Nutrição, da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

Para obtenção de um isolado contendo compostos voláteis de médio e alto pontos de ebulição utilizou-se a técnica de hidrodestilação. Essa técnica é utilizada para a obtenção de óleo essencial de plantas.

Cem gramas (100 g) de cada erva-mate (verde ou torrada) e 700 mL de água destilada foram submetidas a hidrodestilação tipo Clevenger por 1 hora (Figura 3), a temperatura acima de 100°C. O óleo essencial obtido foi retirado com 1 mL de diclorometano, desidratado com sulfato de sódio anidro e armazenado em tubos de vidro, em freezer a -18°C até o momento das análises. O diclorometano foi escolhido por ter sido o solvente utilizado no método de "headspace", além de manter a uniformidade na pesquisa.

A avaliação do aroma característico do isolado obtido por hidrodestilação foi realizada por oito provadores previamente selecionados, conforme item 3.3.2.2.

Esta avaliação foi realizada com chá-mate e chimarrão para assegurar que os isolados possuíam aroma característico das bebidas.

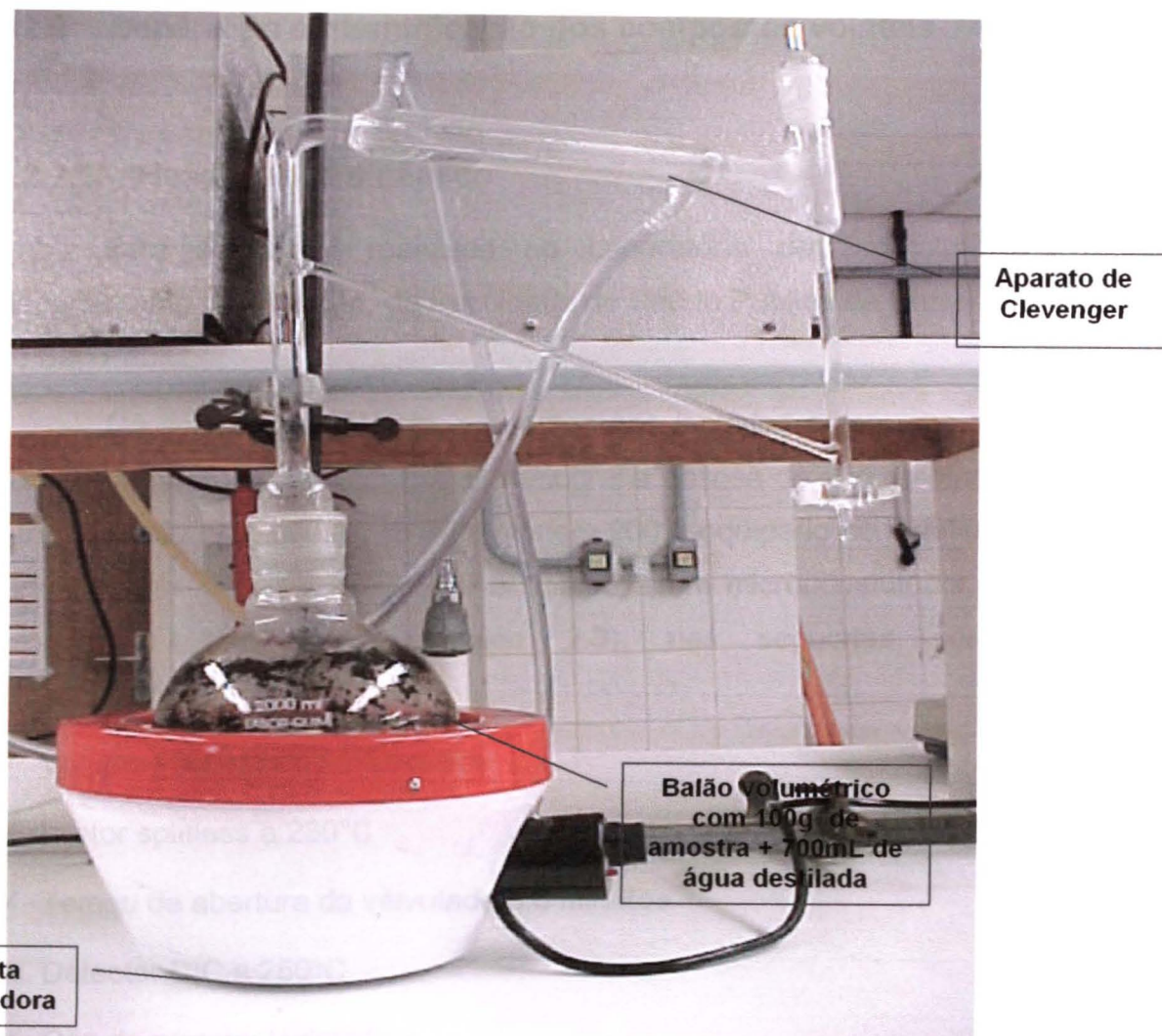


Figura 3 – Isolamento de compostos voláteis por hidrodestilação.

Os isolados foram apresentados aos provadores em fita de papel filtro, com o auxílio de uma seringa cromatográfica, 5  $\mu$ l do isolado foram transferidos para a fita e foi solicitado a cada provador que aspirasse este material após evaporação do solvente. O tempo entre a adição do isolado na fita e as avaliações de cada provador foram rigorosamente monitoradas, permanecendo o mesmo para todos os provadores em todas as repetições. A ficha utilizada para esta análise encontra-se no Anexo III.

Da mesma forma que os isolados obtidos por “headspace” dinâmico, os isolados obtidos por hidrodestilação também foram analisados por cromatografia gasosa de alta resolução.

## **3.2.2 Separação e quantificação dos compostos voláteis**

### **3.2.2.1 “Headspace” dinâmico**

Esta etapa foi realizada no Laboratório de Bromatologia – Departamento de Nutrição, da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

Os compostos voláteis, presentes nos isolados como uma mistura complexa, foram separados por cromatografia gasosa de alta resolução em Cromatógrafo Gasoso CROMPAK modelo 9002, equipado com detector de ionização de chama (CG-DIC) e acoplado a um microcomputador com o programa MAESTRO I (version 2.3), nas seguintes condições cromatográficas:

- ✓ Volume injetado de 2 microlitros
  - ✓ Injetor splitless a 230°C
  - ✓ Tempo de abertura da válvula de 0,6 minutos
  - ✓ Detector DIC a 250°C
  - ✓ Gás de arraste: Hidrogênio
  - ✓ Velocidade do gás de arraste de 45,33 cm/s
  - ✓ Pressão a 9,3 psi (65kpa)
  - ✓ Programação (Rampa) – tempo total da corrida = 57 minutos:
    - 40°C – 6 minutos
    - 40°C a 75°C - 3°C/minuto
    - 75°C a 150°C - 4°C/minuto
    - 150°C a 210°C - 6°C/minuto
    - 210°C – 10 minutos
  - ✓ Coluna Capilar (CP – SIL 8 CB)
- Diâmetro: 0,25 mm

Comprimento: 30 m

Espessura: 0,25  $\mu\text{m}$

✓ Fluxo na coluna: 1,68 mL/min

A quantificação foi expressa em porcentagem relativa de área de cada pico representativo dos compostos voláteis.

### **3.2.2.2 Hidrodestilação (Clevenger)**

Esta etapa foi realizada pela Fundação de Apoio à Universidade de São Paulo, Central Analítica do Instituto de Química.

Os isolados contendo compostos voláteis de médio e alto ponto de ebulição foram separados por cromatografia gasosa de alta resolução em Cromatógrafo Gasoso SHIMADZU modelo GC-14B, equipado com detector de ionização de chama (CG-DIC) e acoplado a um microcomputador com o programa CLASS-GC10, nas seguintes condições cromatográficas:

✓ Volume injetado de 3 microlitros

✓ Injetor split 1/32 a 250°C

✓ Detector FID a 300°C

✓ Gás de arraste: Hélio

✓ Velocidade do gás de arraste de 45,33 cm/s

✓ Pressão a 9,3 psi (65kpa)

✓ Programação (Rampa) – tempo total da corrida = 91 minutos:

60°C – 1 minuto

60°C a 300°C - 3°C/minuto

✓ Coluna Capilar (CP – SIL 8 CB)

Diâmetro: 0,25 mm

Comprimento: 30 m

Espessura: 0,25  $\mu\text{m}$

✓ Fluxo na coluna: 1,68 mL/min

A quantificação foi expressa em porcentagem relativa de área de cada pico representativo dos compostos voláteis.

### 3.2.3 Identificação dos compostos voláteis

Esta análise foi realizada no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), Campinas – SP.

Os compostos voláteis presentes nos isolados, obtidos por hidrodestilação, de bebidas à base de erva-mate foram analisados em Cromatógrafo Gasoso acoplado a espectrômetro de massas, modelo SHIMADZU / QP-5000, detector EI (70 eV), coluna capilar DB-5 (30m x 0,25mm x 0,25 $\mu\text{m}$ ).

As condições analíticas utilizadas foram:

- injetor a 240°C
- detector a 230°C
- gás de arraste: hélio
- fluxo de 1 mL/min
- injeção split / splitless
- programação: 40°C – 240°C a 3°C/min.
- Tempo de corrida: 66 minutos

A identificação das substâncias foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG – EM (Nist. 62 lib) e índice de retenção de kovats (JENNINGS e SHIBAMOTO 1980; MCLAFFERTY e TURECK 1993; ADAMS 1995; ACREE e ARN 2004).

Para o cálculo do índice de Kovats, uma mistura de padrões de alcanos (C9 ao C24) foi adicionada aos isolados e injetados, 2 microlitros, no CG - EM nas mesmas condições cromatográficas acima citadas. A fórmula utilizada para os cálculos foi a definida por JENNINGS (1980):

$$I = 100z + 100 \frac{\log t'R_x - \log t'R_z}{\log t'R_{(z+1)} - \log t'R_z}$$

Onde:

$t'R_x$  = tempo de retenção ajustado do composto x

$t'R_z$  e  $t'R_{(z+1)}$  = tempos de retenção ajustados de alcanos de cadeia normal, sendo que  $t'R_x$  é intermediário a  $t'R_z$  e  $t'R_{(z+1)}$ .

### **3.3 Análise sensorial do aroma e do sabor de bebidas à base de erva-mate**

As análises foram realizadas no Laboratório de Técnica Dietética – Departamento de Nutrição, da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

#### **3.3.1 Preparo das bebidas**

O chimarrão foi preparado segundo método descrito por SANTA CRUZ et. al (2002). Foram utilizados 75 g de erva-mate verde cancheada para cada 1 L de água mineral a aproximadamente 80°C. A bebida foi deixada em infusão por 5 minutos em béquer tampado com vidro de relógio.

O chá-mate foi preparado conforme indicação do fabricante (JÚNIOR S.A.), onde 12 g de erva-mate torrada foram colocados em 1 L de água a aproximadamente 80°C, por 5 minutos, em béquer tampado com vidro de relógio.

As bebidas foram filtradas em coador de pano. As infusões foram submetidas à análise com temperatura de 60°C (temperatura em que são usualmente ingeridas) e armazenadas em garrafa térmica por 1 hora (tempo em que a temperatura é mantida a 60°C na garrafa, depois deste tempo a temperatura abaixa relativamente).

### **3.3.2 Análise descritiva quantitativa (ADQ)**

#### **3.3.2.1 Recrutamento dos provadores (entrevista)**

Os candidatos interessados em participar da pesquisa responderam a um questionário (Anexo IV) e assinaram o termo de consentimento (Anexo V), conforme estabelecido pelo Comitê de Ética da Faculdade de Saúde Pública / USP.

#### **3.3.2.2 Pré - seleção**

##### *Υ Teste de reconhecimento de gostos básicos*

Este teste teve como objetivo verificar a habilidade ou sensibilidade dos indivíduos em reconhecer os gostos básicos (DUTCOSKY 1996).

As soluções utilizadas para o teste foram: sacarose 2,5%; cloreto de sódio 0,2%; ácido cítrico 0,07%; cafeína 0,06%; ácido tânico 0,15%. Estas foram preparadas com água deionizada (ASTM 1981).

Neste teste foi incluída a adstringência, que não é considerada como gosto básico, todavia é uma sensação percebida ao ingerir bebidas à base de erva-mate. Portanto, foi explicado a cada provador o significado de adstringência, fazendo-se comparações com a sensação percebida ao ingerir banana verde, caqui verde ou caju.

As soluções foram apresentadas em ordem aleatória, codificadas com números de 3 dígitos, em copos descartáveis de 50 mL (Figura 4). A

ficha utilizada para aplicação do teste encontra-se no Anexo VI. Por meio deste teste foram selecionados quinze indivíduos.

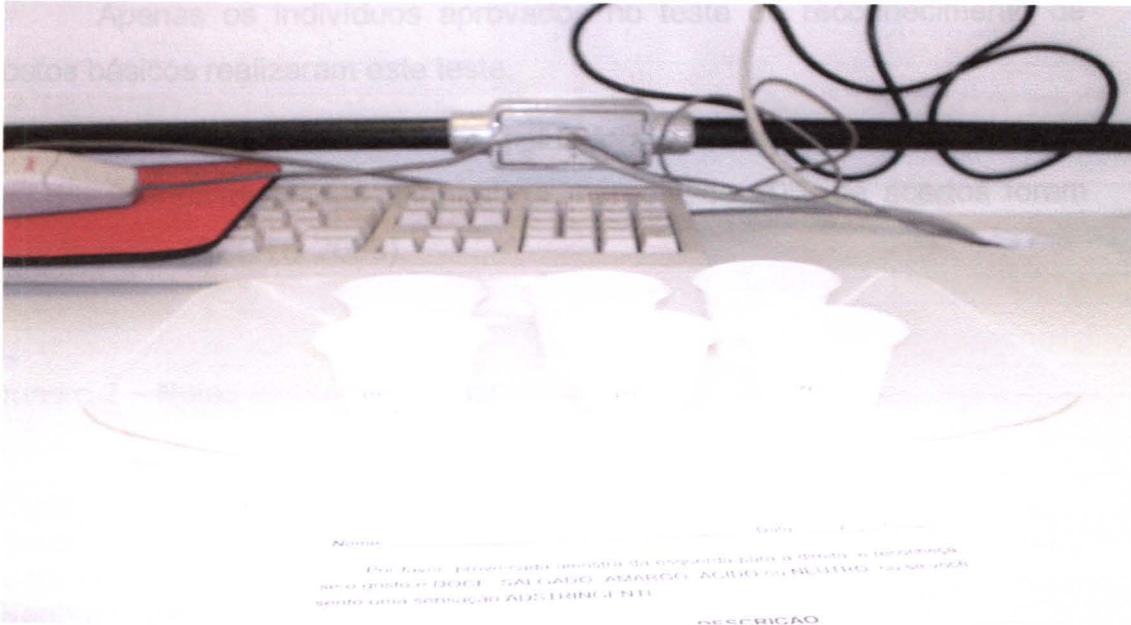


Figura 4 – Amostras codificadas oferecidas no teste de reconhecimento de gostos básicos.

#### Y *Teste de reconhecimento de odores*

Este teste tem como objetivo demonstrar a variabilidade da memória sensorial e da capacidade de verbalizar as sensações entre os indivíduos, o que pode ser atribuído às experiências anteriores do indivíduo com relação ao odor (DUTCOSKY 1996).

As substâncias utilizadas para este teste foram: essência de abacaxi, essência de baunilha, café em pó, canela, essência de coco, cravo da Índia, erva-doce, fermento biológico, louro, suco concentrado de maracujá, mel, essência de morango, orégano, pimenta do reino, queijo parmesão ralado e vinagre (DUTCOSKY 1996).

Estas substâncias foram misturadas a água morna, embebidas em algodão, colocadas em béqueres (50 mL) cobertos com papel alumínio. Foram oferecidas aos provadores, codificadas com números de 3 dígitos. No



momento da inspiração foram feitos furinhos no papel (DUTCOSKY 1996). A ficha utilizada para aplicação do teste encontra-se no Anexo VII.

Apenas os indivíduos aprovados no teste de reconhecimento de gostos básicos realizaram este teste.

As notas atribuídas às respostas foram avaliadas de acordo com o Quadro 2. Indivíduos que atingiram a margem de 60% de acertos foram selecionados (SPOTO 2003).

Quadro 2 – Notas atribuídas às respostas

<b>Identificação das amostras</b>	<b>Nota</b>
Exata	3
Associação (Produto correlacionado)	2
Caracterização	1
Nenhum descritor	0

Fonte: SPOTO 2003

### **Y Teste de ordenação**

Este teste tem como objetivo comparar diferentes amostras com relação a um determinado atributo e verificar se existem diferenças entre si (DUTCOSKY, 1996).

Uma funcionária, onze alunas de graduação e duas alunas de pós-graduação da Faculdade de Saúde Pública - USP, num total de 14 indivíduos pré-selecionados, todos do sexo feminino, com faixa etária média de 25 anos, avaliados quanto à capacidade de identificar diferenças de intensidade de aroma característico de chá-mate. Este foi escolhido, pois é mais comumente consumido pela população do estado de São Paulo (TORMEN 1995).

Foram oferecidas 4 soluções de chá-mate: água nas proporções 1:1, 1:2, 1:5 e 1:10 (Figura 5). A ficha utilizada para aplicação do teste encontra-se no Anexo VIII.

A diferença da coloração, em razão das concentrações, poderia influenciar na decisão ou percepção do provador, assim, a cor foi mascarada adicionando-se às amostras corante vermelho (Colorfuchs Carmim e Urucum APH). Estas foram apresentadas em cálices envoltos com papel alumínio sob luz verde, em cabines individuais. Solicitou-se a cada provador que inspirasse e ordenasse as amostras, colocando-as em ordem crescente, quanto à intensidade de aroma característico de chá-mate.

Os resultados foram obtidos através da soma das posições de ordenação e tratados com base no Teste de Friedman (MEILGAARD et. al 1999). A comparação entre as amostras foi realizada através do uso da tabela de Newell e MacFarlane (LINDGREN 1960).

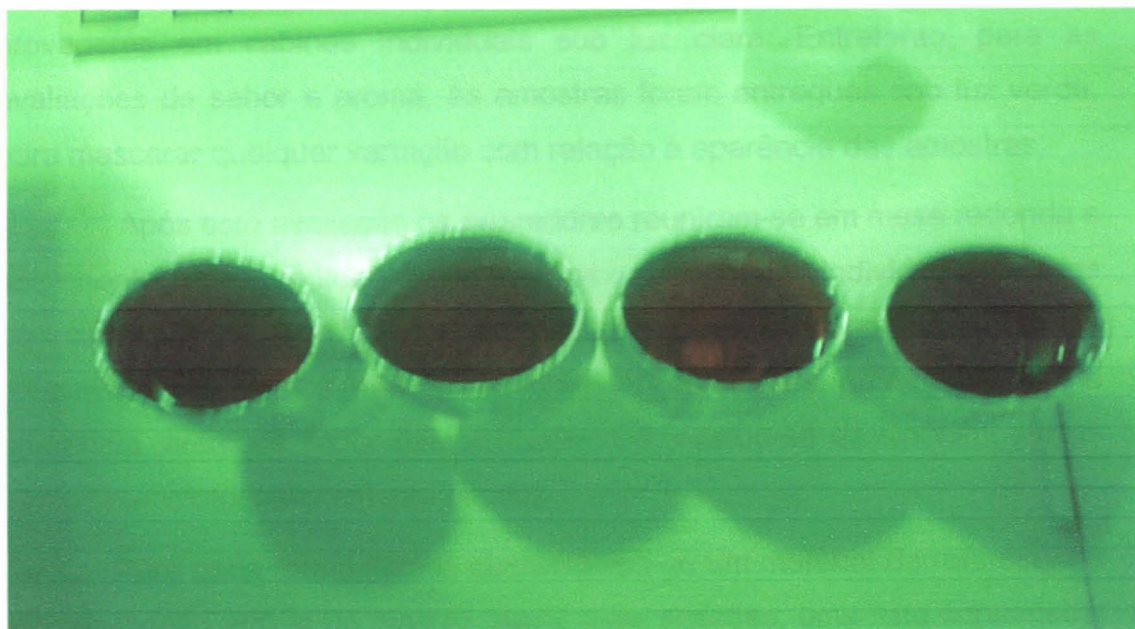


Figura 5 – Amostras oferecidas no teste de ordenação sob luz verde.

### 3.3.2.3 Desenvolvimento da terminologia descritiva

#### Y *Método de rede*

Este método tem como objetivo listar as diferenças e similaridades entre as amostras.

Aos 14 provadores selecionados por meio dos testes anteriormente descritos foi solicitada a avaliação da aparência, aroma e sabor das amostras de bebidas à base de erva-mate, empregando-se o método de rede (MOSKOWITZ 1983).

A avaliação das amostras foi direcionada de modo que os julgadores observassem as similaridades e diferenças entre as amostras e as descrevessem, de acordo com a ficha de avaliação no Anexo IX.

O teste foi realizado no período vespertino (15:00hs) e as amostras de chimarrão e chá-mate foram oferecidas aos pares, em cálices e codificadas com números de 3 dígitos (Figura 6).

Para a avaliação da aparência, as amostras foram entregues aos provadores em cabines individuais sob luz clara. Entretanto, para as avaliações de sabor e aroma, as amostras foram entregues sob luz verde, para mascarar qualquer variação com relação à aparência das amostras.

Após esta avaliação os provadores reuniram-se em mesa redonda e sob orientação de um líder, foram listados os descritores individuais gerados por cada um dos provadores. Após discussão, selecionou-se de forma consensual os termos mais freqüentes e importantes para descrever a aparência, aroma e sabor das amostras, eliminando-se os sinônimos e os termos menos freqüentemente citados.

Para cada termo listado desenvolveu-se um material de referência e uma descrição verbal do mesmo. Após duas sessões, uma lista consensual foi elaborada, contendo a definição de cada termo descritivo e respectivo material de referência.

A partir desta lista foram desenvolvidas fichas de avaliação das amostras para cada atributo – aparência, aroma e sabor –, em que ao lado de cada descritor, acrescentou-se uma escala não estruturada de 9cm, ancorada dos termos “fraco” e “forte”.

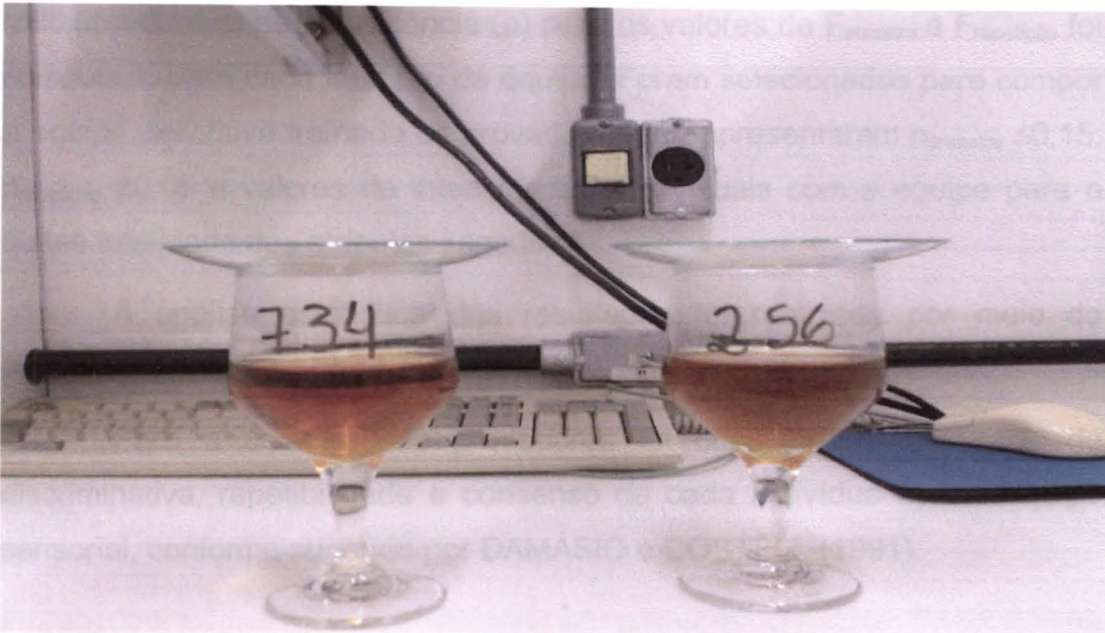


Figura 6 – Amostras de chá-mate (734) e chimarrão (256) utilizadas para o método de rede.

#### 3.3.2.4 Treinamento e seleção de provadores

O treinamento da equipe foi realizado em duas sessões, em que os provadores foram orientados a avaliar a intensidade dos atributos nas amostras de chá-mate e chimarrão, utilizando a ficha de avaliação previamente desenvolvida.

As amostras codificadas foram oferecidas em cálices, sob luz branca para a avaliação de aparência. Já para avaliação de aroma e sabor as amostras codificadas foram oferecidas em cálices envoltos com papel alumínio, sob luz verde. Tal procedimento justifica-se por eliminar qualquer interferência da aparência do produto na decisão dos provadores.

Os testes para a seleção dos provadores foram realizados em quatro repetições para cada atributo e as amostras apresentadas de forma monádica aos provadores.

Os resultados foram analisados através de análise univariada (ANOVA) (fontes de variação: amostra, repetição) e teste de Tukey

( $p \leq 0,05$ ). O nível de significância ( $p$ ) para os valores de  $F_{amostra}$  e  $F_{repetição}$  foi computado para cada membro da equipe. Foram selecionados para compor a equipe descritiva treinada os provadores que apresentaram  $p_{amostra} \leq 0,15$ ;  $p_{repetição} \geq 0,05$  e valores de intensidade consensuais com a equipe para a quase totalidade dos atributos julgados.

A análise estatística dos resultados foi realizada por meio do programa SPSS, versão 11.5 (2002).

Para a seleção dos provadores foi considerada a capacidade discriminativa, repetibilidade e consenso de cada indivíduo com a equipe sensorial, conforme sugerido por DAMÁSIO e COSTELL (1991).

### **3.3.2.5 Avaliação das amostras e análise dos resultados**

A avaliação das amostras foi realizada em quatro repetições para cada bebida à base de erva-mate. Os provadores selecionados (8 indivíduos) utilizaram a ficha de avaliação desenvolvida na etapa de treinamento para a caracterização sensorial das amostras.

As amostras foram oferecidas a 60°C (temperatura em que são usualmente consumidas), em porções de aproximadamente 50 mL, apresentadas em taças envoltas com papel alumínio, codificadas com números de 3 dígitos, de forma monádica. As análises foram realizadas em cabines individuais sob luz verde. Para eliminar o sabor residual entre uma amostra e outra foram oferecidos biscoito salgado tipo “cream cracker” e água mineral.

Para análise estatística dos dados foi realizada análise de variância (ANOVA) utilizando-se os resultados de cada provador, teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e Análise dos Componentes Principais (ACP). Todos os cálculos foram realizados por meio do programa estatístico SPSS, versão 11.5 (2002).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análise instrumental do aroma e do sabor de bebidas à base de erva-mate

#### 4.1.1 Isolamento dos compostos voláteis

##### 4.1.1.1 “Headspace” dinâmico

A escolha do solvente para eluição das amostras foi realizada através de análise sensorial para avaliação do isolado com maior intensidade de aroma característico da bebida à base de erva mate. O isolado apresenta aroma característico quando a média obtida é maior que 4,5, de acordo com a escala de intensidade, em que zero é igual a fraco e nove igual a forte. Os resultados não mostraram diferença significativa ( $p \leq 0,01$ ) entre o isolado em acetona ou diclorometano (Tabela 1).

Tabela 1 – Intensidade de aroma característico de chá-mate obtidos por eluição com diferentes solventes.

Solvente	Média <sup>1,2</sup>
Acetona	5,8 <sup>a</sup>
Diclorometano	5,8 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Médias com a mesma letra não diferem significamente ( $p \leq 0,01$ ) entre si.

<sup>2</sup> Escala de intensidade onde 0 = fraco e 9 = forte.

A análise sensorial permitiu a avaliação da intensidade do aroma dos isolados, auxiliando a determinação das condições de isolamento de compostos voláteis, necessárias para a obtenção de isolados com alta intensidade do aroma característico da erva-mate.

Os isolados também foram avaliados por cromatografia gasosa de alta resolução. O solvente mais apropriado para eluição dos compostos foi o

diclorometano, pois resultou em cromatogramas com maior número de picos em relação à acetona (Figuras 7 e 8).

A metodologia de isolamento dos compostos voláteis de bebidas a base de erva-mate em polímero Porapak Q, utilizando a técnica de "headspace" dinâmico por sucção, foi realizada por um período de 2 horas de captura, que resultou em isolado com aroma característico de erva-mate (média 5,8 em escala de 9cm). O isolamento foi realizado com a bebida a temperatura de 60°C (temperatura de consumo), e esta temperatura foi mantida por meio de aquecedor durante o período de captura.

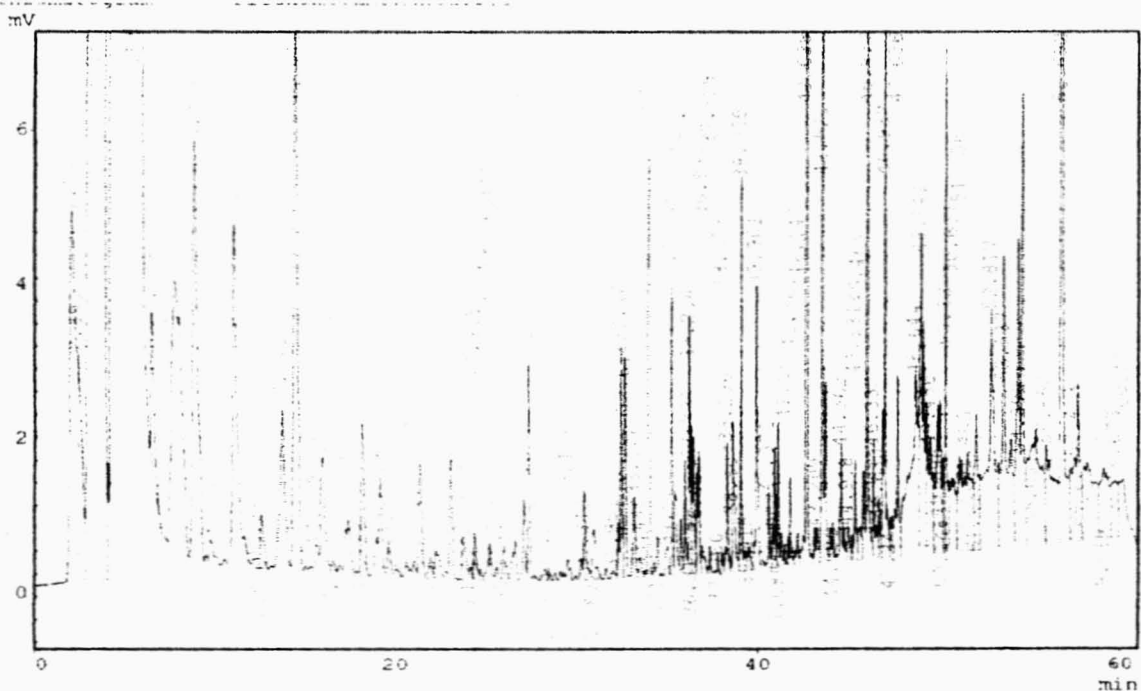


Figura 7 – Cromatograma do isolado dos compostos voláteis de chá-mate após duas horas de captura e eluição com diclorometano.

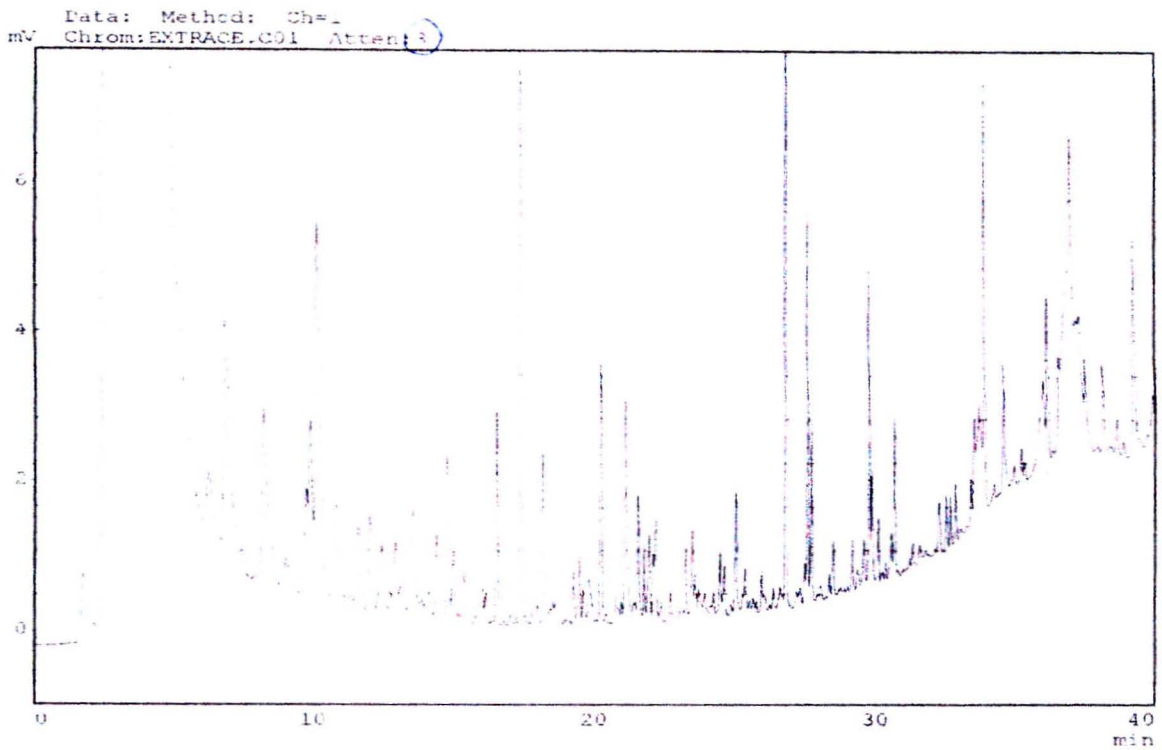


Figura 8 – Cromatograma do isolado dos compostos voláteis de chá-mate após duas horas de captura e eluição com acetona.

#### 4.1.1.2 Hidrodestilação (*Clevenger*)

Utilizou-se a técnica de hidrodestilação para a obtenção de um isolado contendo compostos voláteis de médio e alto ponto de ebulição.

A definição do solvente para este método de isolamento foi realizada com base nos resultados da padronização para o isolamento por “headspace” dinâmico.

O isolado concentrado em diclorometano foi submetido à avaliação sensorial quanto à intensidade de aroma característico pela equipe sensorial. A média obtida para cada isolado encontra-se na Tabela 2.



Tabela 2 – Intensidade de aroma característico dos isolados de chá-mate e chimarrão, obtidos por hidrodestilação.

<b>Isolado</b>	<b>Média<sup>†</sup></b>
Chá-mate	3,8
Chimarrão	4,9

<sup>†</sup> Escala de intensidade em que 0 = fraco e 9 = forte.

Os provadores relataram que o isolado de chá-mate, ao qual foi conferido menor nota, apresentava aroma de “queimado” e “café”, e não apresentava “aroma adocicado” identificado na bebida, o que justifica a nota mais baixa relativamente ao isolado obtido por “headspace”. Segundo os provadores, o isolado por hidrodestilação lembra o aroma de chá-mate forte. Esses dados confirmam a importância da avaliação sensorial de isolados contendo compostos voláteis quando o objetivo da pesquisa é analisar a relação entre os compostos e o sabor e o aroma de alimentos (BASTOS et. al 1998; SIDES et. al 2000; MURRAY et. al 2001).

#### **4.1.2 Separação e quantificação dos compostos voláteis**

##### **4.1.2.1 Isolados obtidos por “headspace” dinâmico**

O uso da cromatografia permitiu a detecção, em média, de 41 picos para chimarrão e 44 picos para chá-mate. As Figuras 9 e 10 mostram os cromatogramas obtidos.

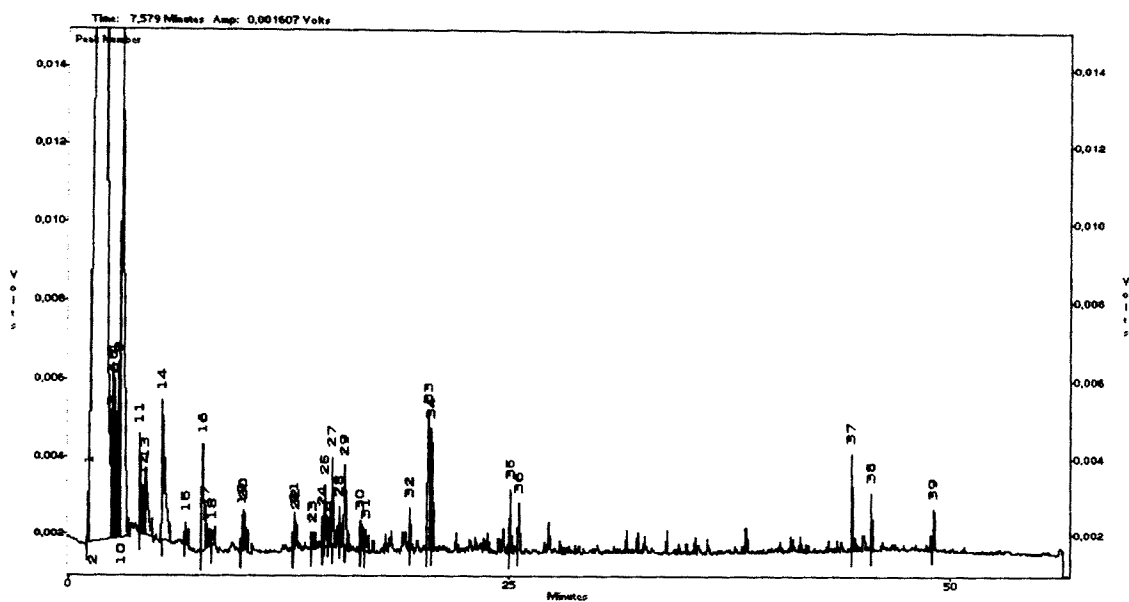


Figura 9 – Cromatograma de chimarrão obtido por CG-DIC.

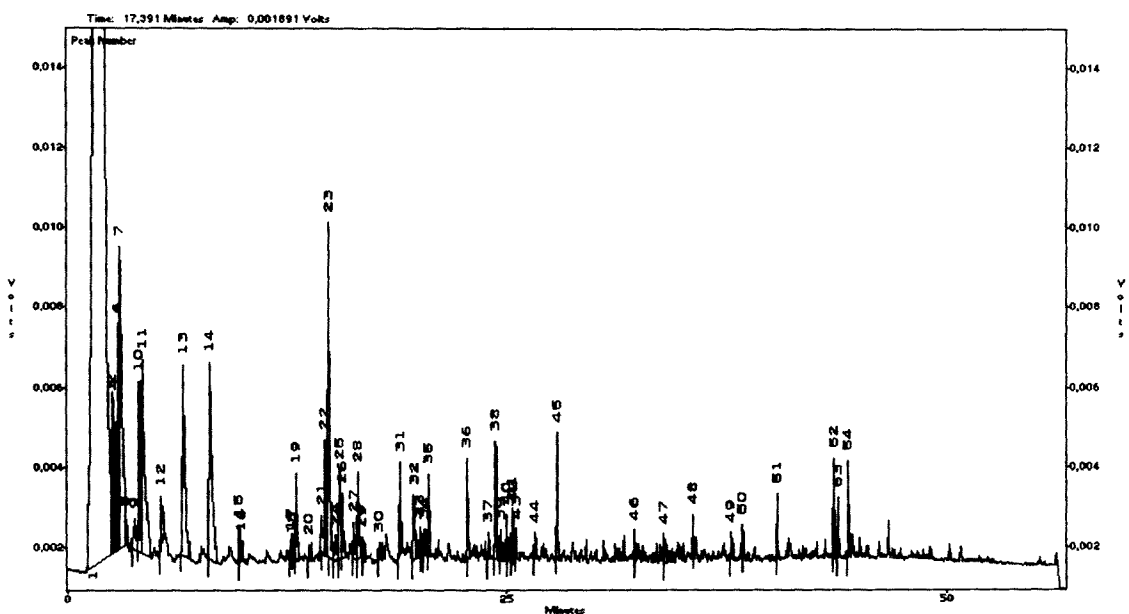


Figura 10 – Cromatograma de chá-mate obtido por CG-DIC.

A Tabela 3 mostra as porcentagens relativas dos picos representativos dos compostos voláteis de chimarrão e de chá-mate e seus respectivos índices de Kovats calculados. Os picos em **negrito** são aqueles que coincidiram o tempo de retenção nas duas bebidas.

Tabela 3 - Porcentagens relativas dos picos representativos dos compostos voláteis de chimarrão e de chá-mate e índice de Kovats.

Pico	CHIMARRÃO				CHÁ-MATE	
	IK	Tr	% área média*	desvio padrão	% área média*	desvio padrão
1	784	2,61	6,34	1,48		
2	784	2,64			2,30	0,77
3	784	2,66	1,99	0,52		
4	785	2,70	6,50	1,85		
5	786	2,71			3,51	0,92
6	785	2,87	2,40	1,46		
7	788	2,89			1,48	0,68
8	788	2,97	4,75	0,90		
9	790	2,98			6,01	0,40
10	791	3,09	46,07	1,55	18,44	1,30
11	804	3,97			1,48	0,68
12	804	4,18	3,19	0,65	5,53	0,95
13	806	4,36	2,26	0,58		
14	806	4,38			14,23	1,51
15	807	4,49	4,57	0,64		
16	918	5,43	10,05	1,34		
17	916	5,46			1,99	0,37
18	925	6,67			9,93	0,82
19	927	6,71	0,75	0,16		
20	1021	7,67	3,62	0,53		
21	1023	7,88	1,40	0,20		
22	1024	8,26			10,90	1,57
23	1025	8,27	0,64	0,25		
24	1032	9,90	1,12	0,18		
25	1033	9,95			0,90	0,29
26	1033	10,01	1,94	0,16		
27	1121	12,83	0,80	0,18		
28	1121	12,87			0,53	0,09
29	1122	12,93	0,86	0,06		
30	1122	13,12			2,69	0,42
31	1125	13,87	0,75	0,14	0,54	0,08
32	1127	14,48	0,93	0,08		
33	1127	14,59	1,87	0,03		
34	1127	14,60			1,61	0,06
35	1127	14,78			4,47	0,79
36	1128	14,79	0,69	0,09		
37	1128	14,99			12,20	1,91
38	1128	15,03	2,42	0,39		
39	1210	15,41			1,27	0,30
40	1211	15,42	1,06	0,16		
41	1211	15,59			3,10	0,50
42	1211	15,75	1,96	0,28		
43	1211	15,76			1,75	0,34
44	1212	16,00			0,39	0,06
45	1213	16,41			0,99	0,18
46	1214	16,63			2,90	0,50

Continuação da Tabela 3...

47	1214	16,64	0,78	0,19		
48	1214	16,76	0,41	0,07		
49	1214	16,92			0,50	0,02
50	1215	16,93	0,47	0,06		
51	1217	17,86			0,56	0,04
52	1217	18,06	0,36	0,03		
53	1218	18,26			0,65	0,10
54	1218	18,35	0,36	0,02		
55	1219	19,02			2,23	0,42
56	1220	19,04	0,48	0,04		
57	1220	19,15	0,39	0,04		
58	1221	19,42	1,04	0,27		
59	1221	19,80			1,48	0,75
60	1222	19,86			0,69	0,10
61	1222	20,19			0,71	0,04
62	1223	20,42	2,12	0,32		
63	1223	20,45			0,45	0,16
64	1307	20,64	1,98	0,42	0,62	0,15
65	1312	22,82			1,96	0,29
66	1314	23,98			0,62	0,09
67	1315	24,42			2,44	0,53
68	1316	24,68	0,43	0,03	0,56	0,05
69	1316	25,06	0,82	0,25		
70	1316	25,36			0,94	0,12
71	1317	25,47			0,83	0,31
72	1317	25,55	0,83	0,06		
73	1407	27,25	0,38	0,03		
74	1408	27,87			2,47	0,31
75	1411	29,76			0,41	0,03
76	1414	31,69	0,30	0,07		
77	1507	33,99	0,32	0,07		
78	1509	35,60			0,54	0,45
79	1604	37,88			0,41	0,05
80	1704	43,62			0,71	0,59

\* média de triplicata para cada amostra

Tr: tempo de retenção

IK: índice de kovats calculado

Segundo KAWAKAMI e KOBAYASHI (1991) a diferença entre o número de compostos voláteis presentes na erva-mate verde e torrada ocorre devido à reação de Maillard, processo em que são formados novos compostos.

#### 4.1.2.2 Isolados obtidos por hidrodestilação (Clevenger)

O uso da cromatografia permitiu a detecção, em média, de 11 picos para chimarrão e 23 picos para chá-mate. As Figuras 12 e 13 mostram os cromatogramas obtidos.

As porcentagens relativas dos picos representativos de chimarrão e chá-mate estão apresentadas na Tabela 4. Os picos em negrito são aqueles que correspondem ao mesmo tempo de retenção nas duas bebidas.

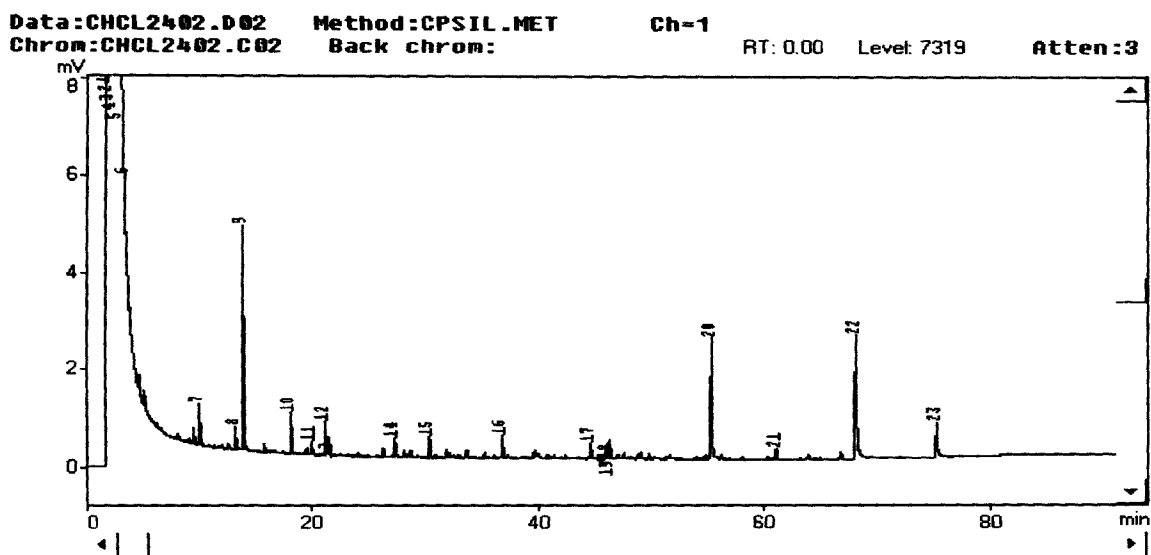


Figura 12 – Cromatograma de chimarrão obtido por CG-DIC

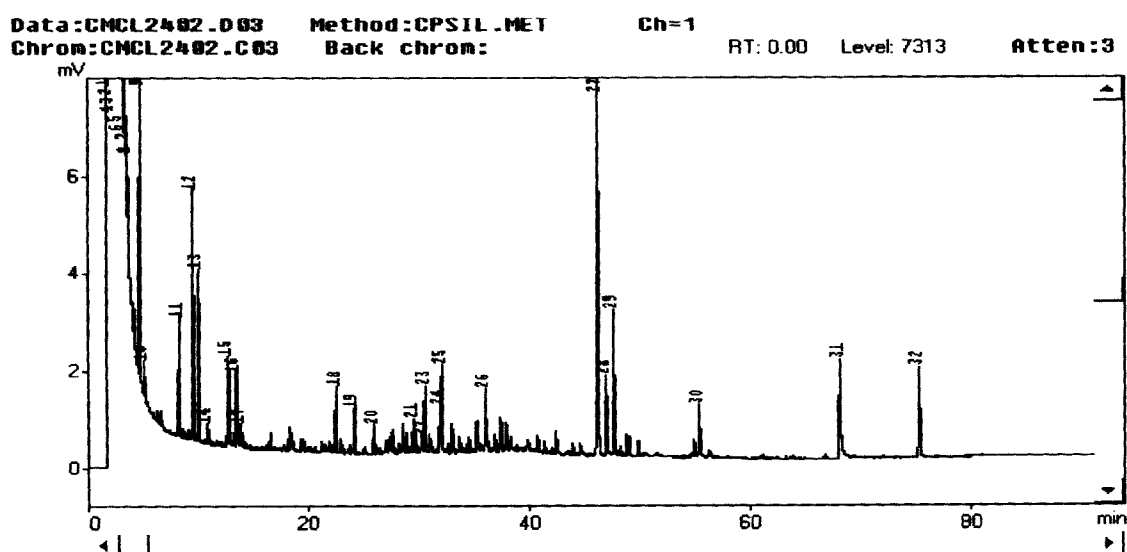


Figura 13 – Cromatograma de chá-mate obtido por CG-DIC

Tabela 4 – Porcentagens relativas dos picos representativos dos compostos voláteis de chimarrão e chá-mate.

Pico	Tr	CHIMARRÃO		CHÁ-MATE	
		% área média*	desvio padrão	% área média*	desvio padrão
1	2,57			5,48	0,38
2	3,29			6,96	0,36
3	3,47			3,21	0,90
4	4,96			1,81	0,12
5	8,11			8,46	2,07
6	9,38			17,36	1,10
7	9,86	4,98	0,44		
8	9,91			13,87	1,14
9	12,62			7,44	0,88
10	13,31			6,39	0,39
11	13,78	31,7	4,0		
12	18,02	5,5	0,7		
13	21,05	4,6	0,6		
14	21,38	3,5	0,8		
15	22,36			5,78	1,12
16	23,99			3,29	0,59
17	25,76			2,08	0,21
18	27,19	3,2	0,3		
19	29,37			2,60	0,33
<b>20</b>	<b>30,27</b>	<b>4,2</b>	<b>0,7</b>	<b>5,32</b>	<b>1,28</b>
21	31,65			2,84	0,67
22	31,81			7,11	1,33
23	35,76			5,55	0,52
24	36,63	3,9	0,7		
<b>25</b>	<b>45,94</b>	<b>3,5</b>	<b>0,2</b>	<b>36,43</b>	<b>7,45</b>
26	46,09	5,3	1,1		
27	46,84			6,86	0,96
28	47,49			13,03	2,85
<b>29</b>	<b>55,24</b>	<b>29,7</b>	<b>3,6</b>	<b>4,14</b>	<b>1,53</b>
30	67,94			12,39	2,08

\* média de triplicata para cada amostra

Tr: tempo de retenção

Da mesma forma que os isolados por “headspace”, os isolados por hidrodestilação resultaram em cromatogramas com número maior de picos para chá-mate do que para chimarrão.

### 4.1.3 Identificação dos compostos voláteis

#### 4.1.3.1 Isolados obtidos por hidrodestilação (*Clevenger*)

Foram detectados 28 picos representativos dos componentes voláteis do chá-mate e 10 do chimarrão por cromatografia gasosa de alta resolução acoplada a espectrômetro de massas. As Figuras 14 e 15 apresentam os cromatogramas obtidos por CG-EM para chimarrão e chá-mate, respectivamente.

As Tabelas 5 e 6 apresentam a identificação dos picos encontrados para chimarrão e chá-mate, os índices de Kovats calculados (determinados neste estudo), os índices de Kovats encontrados na literatura (ADAMS 1995), a contribuição odorífera de cada composto descrito na literatura (ACREE e AM 2004). Os compostos para os quais não foi possível obter o valor do índice de Kovats na literatura foram considerados como "não identificados" (n.i.).

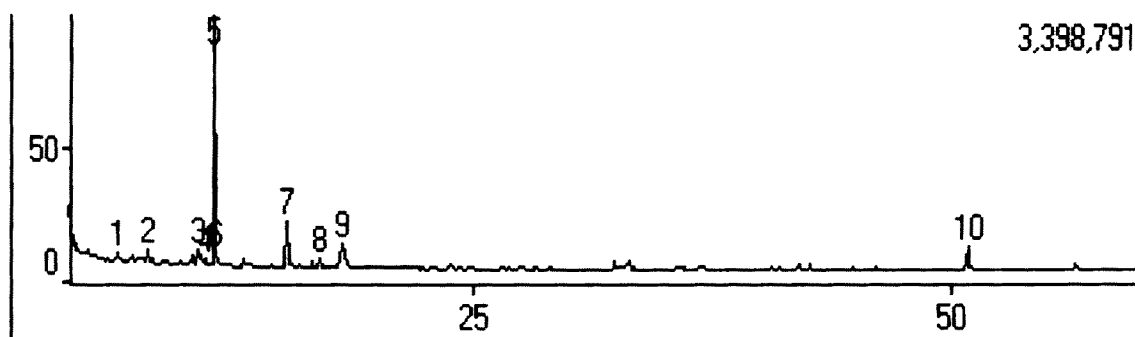


Figura 14 - Cromatograma de chimarrão obtido por CG-EM.

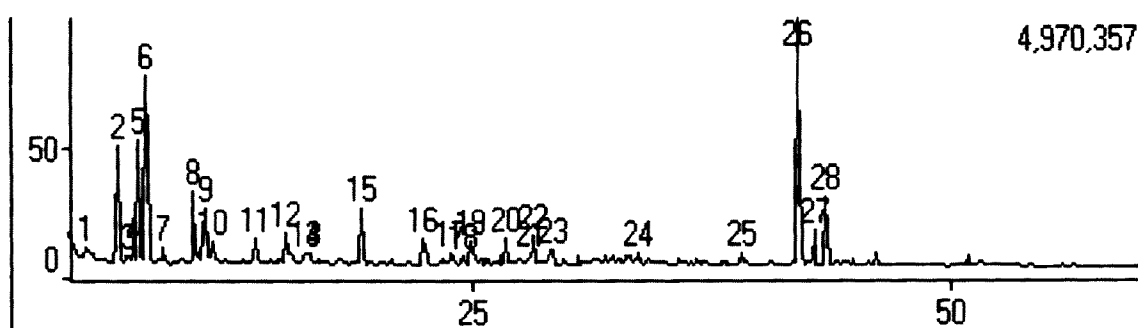


Figura 15 - Cromatograma de chá-mate obtido por CG-EM

Tabela 5 – Identificação dos compostos voláteis encontrados em chimarrão.

Pico	I. K. (Calculado)	I. K. (Literatura)	Composto	Odor	% de área
1	952	961	Benzaldeído	Amêndoa, açúcar queimado	0,64
2	1006		Isômero do 2,4-heptadienal	Noz, gordura	3,74
3	1078		n.i.	n.e.	4,31
4	1086	1088	Trans-óxido de linalol	n.e.	1,20
5	1098	1100	Linalol	Flor, lavanda, alfazema	57,43
6	1102	1103	Isovalerato de isopentila	n.e.	3,47
7	1187	1189	$\alpha$ -terpineol	Óleo, aniz, menta	12,18
8	1226	1229	Cis-carveol	n.e.	2,93
9	1304	1305	Acetato de dihidrocarveol	n.e.	7,42
10	2114		n.i.	n.e.	6,70

n.i. = não identificado

n.e. = não encontrado



Tabela 6 – Identificação dos compostos voláteis encontrados em chá-mate.

Pico	I. K. (Calculado)	I. K. (Literatura)	Composto	Odor	% de área
2	951	962	5-metilfurfural	Amêndoa, caramelo, açúcar queimado	8,60
4	979		n.i.	n.e.	0,72
5	989	998	2,4-heptadienal	Noz, gordura	8,47
6	1003		Isômero do 2,4-heptadienal	Noz, gordura	13,16
7	1051	1050	t- $\beta$ -ocimeno	Erva	0,94
8	1068	1074	(Z)- oxido de linalool	Flor	5,30
9	1084	1088	t-óxido de linalool	Batata, torrado	4,76
10	1096		n.i.	n.e.	1,06
11	1149	1155	karahanaenona	n.e.	1,83
12	1187	1190	Salicilato de metila	Hortelã-pimenta	2,93
13	1209		n.i.	n.e.	1,00
14	1211		n.i.	n.e.	0,66
15	1275		n.i.	n.e.	5,26
16	1347		n.i.	n.e.	2,07
17	1378	1380	t- $\beta$ -damascenona	Maçã, rosa, mel	0,62
19	1403		n.i.	n.e.	1,61
20	1447	1453	Geranil acetona	Planta, verde	2,10
21	1477	1483	$\alpha$ - curcumenno	Erva	0,70
22	1480	1485	t- $\beta$ -ionona	Violeta, flor, alga, framboesa	2,69
24	1617		n.i.	n.e.	0,93
26	1839		n.i.	n.e.	21,55
27	1864		n.i.	n.e.	2,86
28	1881		n.i.	n.e.	6,33

n.i. = não identificado

n.e. = não encontrado

O número dos compostos identificados para chá-mate foi superior ao total identificado para o chimarrão. Entre as classes químicas dos compostos identificados no chá-mate e no chimarrão encontram-se aldeídos, hidrocarbonetos, álcoois e cetonas.

Os compostos, óxido de linalool, 2,4-heptadienal, benzaldeído,  $\alpha$ -terpineol, salicilato de metila e  $\beta$ -ionona também foram identificados em erva-mate por KAWAKAMI e KOBAYASHI (1991), que avaliaram a composição de voláteis presentes em uma amostra de erva-mate proveniente da Argentina e em uma amostra de chá-mate proveniente do Brasil. Os autores identificaram um total de 196 compostos como voláteis de erva-mate. Os compostos encontrados no mate são similares àqueles encontrados na *Camellia sinensis*, como álcool terpenico, linalool,  $\alpha$ -terpineol, geraniol, nerolidol,  $\alpha$ -ionona,  $\beta$ -ionona e 2,6,6-trimetil-2-hidroxíciclohexanona. Compostos como 2-butoxi-etanol e 3,3,5-trimetilciclohexanona foram específicos de mate. O mate torrado contém mais furanos, pirazinas, e pirroles, que são formados durante o processo de torrefação.

Analisando-se os espectros de massas dos compostos não identificados, observa-se a possível presença de isômeros. Alguns compostos parecem ser provenientes de degradação, principalmente de carotenóides, outros se assemelham a monoterpenos oxigenados e outros a aromáticos. Observa-se ainda uma semelhança entre os espectros de chá-mate e de chimarrão.

A contribuição dos compostos derivados de carotenóides para a qualidade do chá preto foi estudada por RAVICHANDRAN (2002), em que identificou o  $\beta$ -ionona como o maior produto degradado do  $\beta$ -caroteno. O dihidro-actinidiolide, 2,2,6-trimetil-6-hidroxíciclohexanona e teaspirano são, provavelmente, formados a partir da primeira oxidação dos carotenóides. Os compostos derivados de carotenóides têm uma importante contribuição na formação do aroma do chá, pois as folhas verdes contêm grande quantidade

de caroteno. Entretanto, estes compostos decrescem durante o processamento, contribuindo para a formação de outros compostos voláteis.

Os íons majoritários obtidos da fragmentação por espectrometria de massas dos compostos voláteis presentes em chimarrão e chá-mate, respectivamente, encontram-se em anexo (Anexos X e XI).

Os compostos majoritários encontrados no isolado de chá-mate foram um composto não identificado (22% da área total), um isômero do 2,4-heptadienal (13%), o 5-metilfurfural (9%), o 2,4-heptadienal (8%), o z-óxido de linalool (5%), o t- óxido de linalool (5%). No isolado de chimarrão o linalool (57%), o  $\alpha$ -terpineol (12%) e o acetato de dihidrocarveol (7%) apresentam-se como compostos majoritários.

## **4.2 Análise sensorial do aroma e do sabor de bebidas à base de erva-mate**

### **4.2.1 Análise descritiva quantitativa (ADQ)**

#### **4.2.1.1 Pré-seleção dos provadores**

O teste de reconhecimento de gostos básicos permitiu a pré-seleção de 14 indivíduos, que obtiveram 100% de acertos.

Estes indivíduos selecionados realizaram o teste de reconhecimento de odor. Todos obtiveram acertos acima de 60% e a média foi de 74%.

Os 14 provadores realizaram, posteriormente, o teste de ordenação, para selecionar aqueles capazes de identificar diferenças de intensidade de aroma característico de chá-mate. Os resultados do teste de ordenação estão apresentados nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 7 - Resultados da ordenação por intensidade de odor característico de amostras de chá-mate.

PROVADOR	Amostra A (1:1)	Amostra B (1:2)	Amostra C (1:5)	Amostra D (1:10)
1	1	2	3	4
2	1	2	3	4
3	1	2	3	4
4	1	2	3	4
5	1	2	3	4
6	1	2	3	4
7	1	2	3	4
8	1	2	3	4
9	1	2	3	4
10	1	2	3	4
11	1	2	3	4
12	2	1	3	4
13	2	1	3	4
14	1	4	2	3
<b>TOTAL</b>	<b>16</b>	<b>28</b>	<b>41</b>	<b>55</b>

Tabela 8 - Módulos das diferenças entre as somas das ordens das amostras

	Amostra A (1:1)	Amostra B (1:2)	Amostra C (1:5)	Amostra D (1:10)
<b>TOTAL*</b>	<b>16<sup>a</sup></b>	<b>28<sup>a,b</sup></b>	<b>41<sup>b,c</sup></b>	<b>55<sup>c</sup></b>
Diferença versus A	-	12	25	39
Diferença versus B	-	-	13	27
Diferença versus C	-	-	-	14

\* Totais com a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $\alpha \leq 0,05$ )

De acordo com a tabela de Newell e MacFairlane os valores críticos para os níveis de significância de 5% e 1% são 18 e 22, respectivamente.

Verificou-se que a diferença de concentração é percebida pelo olfato. Assim, pode-se confirmar que as amostras mais concentradas apresentam intensidade de odor característico mais forte do que as menos concentradas.

Aplicando o teste de Friedman (MEILGAARD et. al 1999) obtem-se:

$$X^2 = \left[ \frac{12}{p t (t+1)} \right] \sum_{(n,i)} R_i^2 - 3p (t+1)$$

onde: p = número de provadores

t = número de tratamentos

R<sub>i</sub> = soma das ordens atribuídas ao tratamento i

n = número de tratamentos

$$[12 / (14 \times 4) \times (4+1)] \times [16^2 + 28^2 + 41^2 + 55^2] - [3 \times 14 \times (4+1)] = 36,26$$

O valor de  $X^2$  com  $\alpha = 5\%$  e 3 graus de liberdade (tratamentos – 1) é 7,81 segundo a tabela de valores dos percentis da distribuição de qui quadrado. Com o valor da estatística  $X^2$  calculado  $> X^2$  tabelado ( $36,26 > 7,81$ ), conclui-se que pelo menos dois tratamentos diferem entre si quanto à intensidade de odor.

Analisando a Tabela 7, nota-se que 11 provadores colocaram as amostras na mesma ordem, ou seja, na ordem crescente de concentração e que apenas 3 provadores (12, 13 e 14) não conseguiram identificar diferenças entre as concentrações das amostras, alterando a ordem. Ainda assim, nota-se que os provadores 12 e 13 confundiram apenas as amostras A e B, que são as amostras menos concentradas. Somente o provador 14 foi desclassificado, pois não conseguiu diferenciar as amostras quanto à intensidade de odor. Portanto, foram selecionados 13 provadores para a análise descritiva quantitativa.

#### 4.2.1.2 Desenvolvimento da terminologia descritiva

Os trezes provadores selecionados avaliaram as amostras de chá-mate e de chimarrão quanto à aparência, aroma e sabor, empregando o método de rede (MOSKOWITZ 1983). Após este teste, foi criada uma lista

de termos descritores (Tabela 9) citados pelos provadores. Esta lista inclui 21 termos para a aparência, 17 para o aroma e 16 para o sabor.

Tabela 9 – Termos descritivos desenvolvidos individualmente pelos provadores para descrever similaridades e diferenças entre as amostras de bebidas a base de erva-mate e o número de vezes que foram citados.

TERMOS LISTADOS	NÚMERO DE VEZES
<i>Aparência</i>	
Alaranjado	2
Âmbar	2
Avermelhado (acobreado)	2
Brilhante	3
Caramelo	5
Contém resíduos	2
Cor de whisky	1
Cristalina	3
Densa	1
Dourado	3
Espesso	1
Esverdeado	5
Fluída	1
Fosca	1
Límpida	6
Marrom	5
Opaco	9
Suspensão	1
Translúcido	7
Transparência	3
Turva	5
<i>Aroma</i>	
Adstringente	2
Amargo	7
Característico de chá-mate	12
Chá de boldo	1
Chá de erva-mate (folha verde)	2
Chá de folha murcha	1
Cheiro de folha	1
Cheiro de mato/grama/verde	2
Cheiro perdura (fica no nariz)	1
Cigarro	1
Cravo	1
Doce	5

Queimado	1
Quente	1
Salgado (erva envelhecida)	1
Silvestre	1
Suave	4
<i>Sabor</i>	
Adocicado	2
Adstringente	9
Agradável	1
Amargo	15
Característico de chá-mate	5
Característico de erva-mate	4
Chimarrão	1
Encorpado	1
Estranho (erva envelhecida)	1
Gosto residual	3
Macio	1
Mato	1
Mix de ervas	1
Neutro /suave	7
Queimado	1
Sem doce	1

Após duas sessões de discussões em mesa redonda e treinamento foram selecionados os descritores utilizados na avaliação sensorial. Os provadores eram estimulados a usar termos associativos e cognitivos para descrever as impressões percebidas, para cada amostra referência e para cada atributo. Os termos redundantes ou similares e aqueles que não eram percebidos pela maioria foram eliminados. A lista com os descritores, suas definições e referências estão apresentados no Tabela 10.

Tabela 10 – Definições e referências utilizadas para descrever os atributos de chá-mate e chimarrão

<b>ATRIBUTO</b>	<b>DEFINIÇÃO</b>	<b>REFERÊNCIA</b>
<b>APARÊNCIA</b>		
Tonalidade	Cor característica das bebidas	Marrom claro: calda de açúcar queimado com água Marrom escuro: suco tamarindo Verde claro: infusão de escarola Verde escuro: chimarrão concentrado
Opacidade	Transmissão da luz pela amostra	Translúcido: solução aquosa de shoyo Opaco: suco de tamarindo
Suspensão (resíduos)	Presença de resíduos / precipitado na bebida	Límpido: água Turvo: suco de tamarindo
<b>AROMA</b>		
Característico	Aroma característico de chá mate	Pouco: infusão de chá-mate menos concentrado Muito: infusão de chá-mate mais concentrado
Verde	Aroma de grama sendo cortada	Fraco: infusão de grama / folhas menos concentrada Forte: infusão de grama / folhas mais concentrada
Adocicado	Aroma característico de doce	Nenhum: água Forte: chá mate e solução de água com açúcar
<b>SABOR</b>		
Amargo	Gosto amargo característico	Fraco: Infusão de escarola, almeirão, catalônia, carqueja, chicória. Forte: Solução de cafeína
Adstringente	Sensação de "amarração" na língua e mucosas bucais	Nenhum: água Forte: Banana verde e solução de ácido tânico
Residual	Aderência do sabor na boca por um tempo depois de engolir	Nenhum: água Forte: solução de extrato de própolis
Adocicado	Sensação boa que fica na boca, doce	Nenhum: água Forte: solução de sacarose, chá-mate.



Dentre os descritores utilizados pelos provadores, aparência verde foi um dos mais difíceis de definir, pois a maioria dos provadores colocou as duas amostras na escala de marrom. Aroma verde também foi um termo que causou confusão, e dificuldade em encontrar uma referência, pois muitos provadores não conseguiam definir esta sensação. Outro termo que gerou contradição foi o gosto adocicado, pois as bebidas não foram adoçadas com açúcar, e os provadores confundiam pois relacionavam com o aroma adocicado.

Os provadores relataram notável diferença entre as bebidas, principalmente em relação ao sabor. Disseram que o chimarrão tem aparência agradável, mas sabor e aroma diferente do que estão acostumados a sentir, por exemplo com chás. Alguns comentaram que a amostra de chá-mate desperta uma vontade de ingerir a bebida, enquanto que com a amostra de chimarrão isto não acontece. Este fato mostra a familiaridade que eles têm com o chá-mate, e a ausência do hábito de consumo do chimarrão.

No trabalho realizado por SANTA CRUZ et. al (2002) sobre ADQ de erva-mate, foram gerados 30 termos descritores sensoriais, sendo 11 para a aparência, 8 para o aroma e 11 para o sabor.

Comparando-se os termos gerados nesta pesquisa com o do estudo citado anteriormente, nota-se a semelhança entre alguns termos para aparência (turvo, resíduos, marrom, esverdeado), aroma (cigarro, verde, queimado) e sabor (amargo, adstringente, queimado, residual). Entretanto, alguns termos para aroma (impacto inicial, umidade, papel, químico) e para sabor (ácido, verde, úmido, impacto inicial, papel e químico) não foram mencionados pelos provadores deste estudo. A diferença entre os termos pode ser explicada, uma vez que no estudo de SANTA CRUZ et. al (2002) os provadores eram consumidores de erva-mate. Todavia, a presente pesquisa foi realizada com provadores que não são consumidores usuais de bebidas à base de erva-mate (TORMEN 1995), com o objetivo de demonstrar como o consumidor do sudeste brasileiro percebe estas bebidas.

Fichas de avaliação foram elaboradas para cada atributo, com escala não estruturada de 9 cm (Figuras 16,17 e18), após terem sido escolhidos os termos que definiram os pontos extremos da escala.

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Por favor, avalie a **APARÊNCIA** das amostras, indicando a intensidade percebida para cada atributo, colocando um traço vertical na escala correspondente.

**AMOSTRA** \_\_\_\_\_

Tonalidade

|-----|

Marrom claro Marrom escuro

|-----|

Verde claro Verde escuro

Opacidade

|-----|

Translúcido Opaco

Suspensão

|-----|

Límpido Turvo

COMENTÁRIOS: \_\_\_\_\_

Figura 16 – Ficha de avaliação utilizada na seleção de provadores

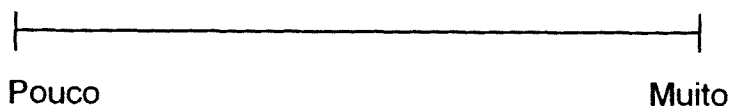
Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

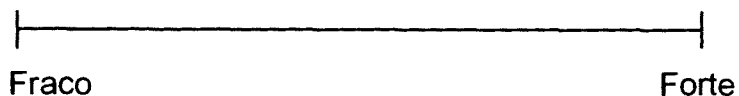
Por favor, avalie o **AROMA** das amostras, indicando a intensidade percebida para cada atributo, colocando um traço vertical na escala correspondente.

Retire o vidro de relógio, leve a taça ao nariz e faça de duas a três inspirações. Se necessário agite a amostra com uma suave rotação da taça e aspire.

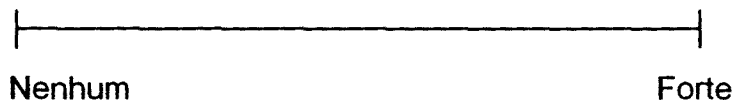
AMOSTRA \_\_\_\_\_

Característico

A horizontal line with vertical tick marks at each end. Below the left tick mark is the word 'Pouco' and below the right tick mark is the word 'Muito'.

Verde

A horizontal line with vertical tick marks at each end. Below the left tick mark is the word 'Fraco' and below the right tick mark is the word 'Forte'.

Adocicado

A horizontal line with vertical tick marks at each end. Below the left tick mark is the word 'Nenhum' and below the right tick mark is the word 'Forte'.

COMENTÁRIOS: \_\_\_\_\_

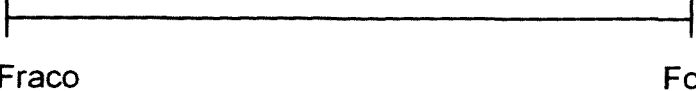
\_\_\_\_\_


Figura 17 – Ficha de avaliação utilizada na seleção de provadores


Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

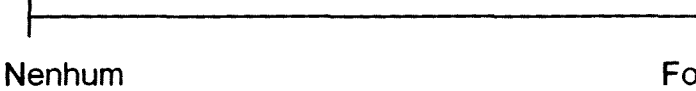
Por favor, avalie o **SABOR** das amostras, indicando a intensidade percebida para cada atributo, colocando um traço vertical na escala correspondente. Tome um gole grande e deixe a amostra em contato com toda a superfície da boca. Ao terminar a análise coma um biscoito e tome água.

**AMOSTRA** \_\_\_\_\_

Amargo   
Fraco Forte

Adstringente   
Nenhum Forte

Residual   
Nenhum Forte

Adocicado   
Nenhum Forte

COMENTÁRIOS: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Figura 18 – Ficha de avaliação utilizada na seleção de provadores

### **4.2.1.3 Treinamento e seleção de provadores**

Para o treinamento e a seleção da equipe sensorial descritiva foram utilizadas as fichas de avaliação elaboradas na etapa de desenvolvimento da terminologia descritiva (Figuras 16,17 e 18). O treinamento foi realizado em duas sessões, em que os provadores foram orientados a avaliar a intensidade dos atributos nas amostras de chá-mate e chimarrão. Apenas 10 provadores compareceram para a realização do treinamento.

Os parâmetros estatísticos relativos ao poder discriminativo, reprodutibilidade e consenso de cada provador com a equipe sensorial, em cada atributo julgado, estão apresentados nas Tabelas 11 e 12.

De acordo com a Tabela 11, os provadores 2 e 9 não discriminaram nos níveis desejáveis os atributos aparência verde e aroma característico, sendo que o provador 5 também não discriminou aroma característico. O provador 1 não discriminou satisfatoriamente os atributos aroma verde e aroma adocicado. O provador 3 não discriminou nos níveis desejáveis o atributo sabor residual. O provador 8 não discriminou o atributo sabor adocicado. O provador 10 não discriminou os atributos aroma adocicado, sabor adstringente, sabor residual e sabor adocicado. Os provadores 4, 6 e 7 apresentaram boa discriminação para os atributos julgados.

Os provadores, de uma maneira geral, apresentaram boa repetibilidade dos julgamentos sensoriais (Tabela 11). Verificou-se baixa repetibilidade apenas para o provador 1 no atributo aparência marrom, provador 3 no sabor adstringente, provador 7 no aroma verde e provador 8 na aparência verde e gosto amargo.

A Tabela 12 mostra as médias dos provadores por atributo julgado. O provador 4 foi o único que conseguiu detectar diferença entre as amostras para todos os atributos julgados. Os provadores 1, 2, 6, 7, 8, 9, e 10 não detectaram diferença para o atributo sabor adocicado. A maioria dos provadores teve dificuldades em diferenciar as amostras para os atributos aparência verde, aroma adocicado e sabor adocicado.

Tabela 11 - Valores de p de  $F_{amostra}$  e p de  $F_{repetição}$  (vermelho) para cada provador em cada atributo julgado no teste de seleção da equipe descritiva quantitativa

<i>Atributo</i>	<i>Provador</i>									
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Aparência_marrom	0,004 0,003*	0,055 0,471	0,017 0,554	0,021 0,482	0,026 0,988	0,001 0,246	0,001 0,484	0,001 0,663	0,046 0,198	0,019 0,854
Aparência_verde	0,065 0,500	0,579* 0,552	0,028 0,423	0,063 0,500	0,010 0,500	0,063 0,306	0,012 0,549	0,000 0,000*	0,193* 0,476	0,089 0,500
Aparência_opacidade	0,025 0,439	0,013 0,300	0,013 0,463	0,009 0,244	0,013 0,367	0,001 0,502	0,018 0,443	0,000 0,751	0,007 0,175	0,024 0,563
Aparência_suspensão	0,067 0,244	0,012 0,378	0,042 0,948	0,000 0,071	0,007 0,329	0,000 0,316	0,002 0,337	0,000 0,534	0,008 0,258	0,000 0,100
Aroma_característico	0,014 0,545	0,543* 0,399	0,057 0,734	0,011 0,606	0,155* 0,701	0,001 0,078	0,091 0,855	0,005 0,547	0,427* 0,874	0,038 0,269
Aroma_verde	0,549* 0,447	0,086 0,289	0,046 0,689	0,000 0,597	0,009 0,928	0,001 0,229	0,000 0,024*	0,017 0,646	0,029 0,647	0,002 0,389
Aroma_adocicado	0,358* 0,604	0,070 0,325	0,041 0,618	0,022 0,600	0,075 0,588	0,001 0,413	0,004 0,391	0,058 0,500	0,036 0,639	0,804* 0,641
Gosto_amargo	0,001 0,394	0,002 0,462	0,001 0,148	0,076 0,449	0,084 0,858	0,001 0,480	0,001 0,346	0,000 0,025*	0,071 0,455	0,000 0,446
Sabor_adstringente	0,007 0,227	0,006 0,490	0,001 0,007*	0,028 0,448	0,012 0,344	0,058 0,490	0,000 0,298	0,005 0,115	0,097 0,070	0,340* 0,406
Sabor_residual	0,001 0,430	0,042 0,514	0,402* 0,712	0,014 0,479	0,004 0,312	0,002 0,781	0,001 0,804	0,003 0,303	0,033 0,221	0,106* 0,500
Sabor_adocicado	0,144 0,500	0,141 0,500	0,035 0,606	0,011 0,357	0,087 0,626	0,136 0,409	0,125 0,667	0,391* 0,518	0,062 0,273	1,000* 0,500
<b>D</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>4</b>
<b>R</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>TOTAL</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>4</b>

D = número de vezes em que o provador não discriminou as amostras no nível de significância desejado ( $p \leq 0,15$ )

R = número de vezes em que o provador não apresentou repetibilidade no nível de significância desejado ( $p \geq 0,05$ )

\* Provadores que não atingiram os valores desejáveis: p amostra  $\leq 0,15$  e p repetição  $\geq 0,05$

Tabela 12 - Médias da Equipe Sensorial (ES) e de cada provador para os atributos de amostras de chimarrão (1) e chá-mate (2) julgados na etapa de seleção da equipe descritiva quantitativa

<i>Atributo</i>	<i>Amostra</i>	<i>Provador</i>										
		ES	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Aparência_marrom	1	5,44 <sup>a</sup>	1,85 <sup>a</sup>	4,68 <sup>a</sup>	6,73 <sup>a</sup>	6,98 <sup>a</sup>	6,35 <sup>a</sup>	4,85 <sup>a</sup>	6,20 <sup>a</sup>	6,88 <sup>a</sup>	2,94 <sup>a</sup>	6,93 <sup>a</sup>
	2	1,69 <sup>b</sup>	0,93 <sup>a</sup>	1,48 <sup>b</sup>	2,08 <sup>b</sup>	2,75 <sup>b</sup>	2,85 <sup>b</sup>	0,75 <sup>b</sup>	3,05 <sup>b</sup>	0,35 <sup>b</sup>	0,80 <sup>a</sup>	1,83 <sup>b</sup>
Aparência_verde	1	3,10 <sup>a</sup>	1,45 <sup>a</sup>	4,28 <sup>a</sup>	3,88 <sup>a</sup>	5,45 <sup>a</sup>	6,88 <sup>a</sup>	1,58 <sup>a</sup>	3,98 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	1,92 <sup>a</sup>	1,63 <sup>a</sup>
	2	0,52 <sup>b</sup>	0,00 <sup>a</sup>	4,75 <sup>a</sup>	0,10 <sup>b</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,13 <sup>a</sup>	0,23 <sup>b</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
Aparência_opacidade	1	7,16 <sup>a</sup>	5,55 <sup>a</sup>	8,00 <sup>a</sup>	6,45 <sup>a</sup>	6,83 <sup>a</sup>	8,45 <sup>a</sup>	8,75 <sup>a</sup>	5,75 <sup>a</sup>	6,95 <sup>a</sup>	6,28 <sup>a</sup>	8,55 <sup>a</sup>
	2	1,88 <sup>b</sup>	0,55 <sup>b</sup>	2,30 <sup>b</sup>	2,13 <sup>b</sup>	2,45 <sup>b</sup>	3,13 <sup>b</sup>	1,33 <sup>b</sup>	1,65 <sup>b</sup>	0,28 <sup>b</sup>	1,60 <sup>b</sup>	3,43 <sup>b</sup>
Aparência_suspensão	1	6,71 <sup>a</sup>	4,65 <sup>a</sup>	7,93 <sup>a</sup>	5,30 <sup>a</sup>	8,08 <sup>a</sup>	8,20 <sup>a</sup>	8,38 <sup>a</sup>	5,93 <sup>a</sup>	6,38 <sup>a</sup>	4,20 <sup>a</sup>	8,10 <sup>a</sup>
	2	1,36 <sup>b</sup>	1,18 <sup>a</sup>	1,60 <sup>b</sup>	1,40 <sup>b</sup>	1,73 <sup>b</sup>	2,68 <sup>b</sup>	0,80 <sup>b</sup>	1,65 <sup>b</sup>	0,25 <sup>b</sup>	0,80 <sup>b</sup>	1,55 <sup>b</sup>
Aroma_característico	1	2,35 <sup>a</sup>	1,05 <sup>a</sup>	6,23 <sup>a</sup>	2,80 <sup>a</sup>	2,73 <sup>a</sup>	1,98 <sup>a</sup>	1,50 <sup>a</sup>	3,10 <sup>a</sup>	0,53 <sup>a</sup>	1,86 <sup>a</sup>	1,78 <sup>a</sup>
	2	5,75 <sup>b</sup>	5,70 <sup>b</sup>	5,03 <sup>a</sup>	7,30 <sup>b</sup>	8,45 <sup>b</sup>	4,68 <sup>a</sup>	5,55 <sup>b</sup>	6,15 <sup>b</sup>	5,43 <sup>b</sup>	3,48 <sup>a</sup>	5,78 <sup>b</sup>
Aroma_verde	1	6,38 <sup>a</sup>	2,48 <sup>a</sup>	7,13 <sup>a</sup>	7,25 <sup>a</sup>	8,08 <sup>a</sup>	7,78 <sup>a</sup>	0,58 <sup>b</sup>	7,05 <sup>a</sup>	8,43 <sup>a</sup>	7,62 <sup>a</sup>	7,45 <sup>a</sup>
	2	1,95 <sup>b</sup>	1,48 <sup>a</sup>	2,05 <sup>b</sup>	2,13 <sup>b</sup>	0,33 <sup>b</sup>	2,15 <sup>b</sup>	4,68 <sup>a</sup>	1,03 <sup>b</sup>	2,35 <sup>b</sup>	2,78 <sup>b</sup>	0,50 <sup>b</sup>
Aroma_adocicado	1	1,42 <sup>a</sup>	1,83 <sup>a</sup>	0,68 <sup>a</sup>	0,55 <sup>b</sup>	3,30 <sup>a</sup>	3,00 <sup>a</sup>	0,03 <sup>a</sup>	3,50 <sup>a</sup>	0,45 <sup>a</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,53 <sup>a</sup>
	2	3,94 <sup>a</sup>	0,65 <sup>a</sup>	4,08 <sup>b</sup>	5,13 <sup>a</sup>	8,00 <sup>b</sup>	6,50 <sup>a</sup>	2,88 <sup>b</sup>	7,10 <sup>b</sup>	0,30 <sup>a</sup>	4,18 <sup>b</sup>	0,58 <sup>a</sup>
Gosto_amargo	1	7,47 <sup>a</sup>	6,65 <sup>a</sup>	7,18 <sup>a</sup>	8,28 <sup>a</sup>	8,63 <sup>a</sup>	6,95 <sup>a</sup>	7,50 <sup>a</sup>	8,03 <sup>a</sup>	7,65 <sup>a</sup>	5,30 <sup>a</sup>	8,58 <sup>a</sup>
	2	1,49 <sup>b</sup>	0,48 <sup>b</sup>	0,25 <sup>b</sup>	1,73 <sup>b</sup>	4,90 <sup>b</sup>	3,08 <sup>b</sup>	0,93 <sup>b</sup>	1,38 <sup>b</sup>	1,23 <sup>b</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,88 <sup>b</sup>
Sabor_adstringente	1	5,56 <sup>a</sup>	5,10 <sup>a</sup>	6,75 <sup>a</sup>	6,93 <sup>a</sup>	7,68 <sup>a</sup>	8,03 <sup>a</sup>	4,75 <sup>a</sup>	8,00 <sup>a</sup>	5,40 <sup>a</sup>	2,76 <sup>a</sup>	0,25 <sup>a</sup>
	2	1,49 <sup>b</sup>	1,33 <sup>b</sup>	0,20 <sup>b</sup>	3,78 <sup>a</sup>	3,43 <sup>b</sup>	3,40 <sup>b</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,13 <sup>b</sup>	1,25 <sup>b</sup>	0,98 <sup>a</sup>	0,43 <sup>a</sup>
Sabor_residual	1	6,10 <sup>a</sup>	7,73 <sup>a</sup>	5,95 <sup>a</sup>	1,50 <sup>a</sup>	8,20 <sup>a</sup>	7,98 <sup>a</sup>	8,00 <sup>a</sup>	8,33 <sup>a</sup>	7,88 <sup>a</sup>	4,50 <sup>a</sup>	0,90 <sup>a</sup>
	2	1,21 <sup>b</sup>	0,80 <sup>b</sup>	0,45 <sup>b</sup>	0,65 <sup>a</sup>	3,03 <sup>b</sup>	2,05 <sup>b</sup>	1,85 <sup>b</sup>	1,28 <sup>b</sup>	1,15 <sup>b</sup>	0,83 <sup>b</sup>	0,00 <sup>a</sup>
Sabor_adocicado	1	0,42 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,30 <sup>a</sup>	0,50 <sup>a</sup>	0,65 <sup>a</sup>	0,33 <sup>a</sup>	1,48 <sup>a</sup>	0,15 <sup>a</sup>	0,52 <sup>a</sup>	0,30 <sup>a</sup>
	2	2,15 <sup>a</sup>	0,33 <sup>a</sup>	0,13 <sup>a</sup>	3,48 <sup>b</sup>	3,90 <sup>b</sup>	2,53 <sup>b</sup>	1,48 <sup>a</sup>	3,90 <sup>a</sup>	1,38 <sup>a</sup>	4,05 <sup>a</sup>	0,30 <sup>a</sup>

Médias com a mesma letra não diferem significamente ( $p \leq 0,05$ ) entre si pelo teste de Tukey.

Nota-se que a maioria dos atributos apresentaram pelo menos um provador que não foi consensual com a equipe sensorial. O que indicou a necessidade de um retreinamento, pois, neste caso, apenas os provadores 3, 4, 5, 6 e 7 seriam selecionados. Como para o desenvolvimento da pesquisa é necessário no mínimo oito provadores treinados para a realização da análise descritiva quantitativa, foi realizado um novo treinamento com os 10 provadores que participaram da primeira seleção e mais dois que não compareceram no primeiro.

Assim, um segundo treinamento, dividido em 3 sessões, foi realizado com 12 provadores, iniciando-se com outra sessão de definições e referências utilizadas para descrever os atributos de chá-mate e chimarrão. Na Tabela 13 estão descritas as definições e referências utilizadas para o retreinamento dos provadores. Foi consenso entre os provadores e o líder sensorial que os atributos de aparência fossem eliminados das avaliações, uma vez que poderiam estar interferindo na avaliação dos atributos de sabor e aroma.

Dentre os atributos de aroma, os provadores entraram em consenso e substituíram o aroma verde por aroma característico de chimarrão, argumentaram que os aromas das duas amostras são diferentes e característicos. Dentre os atributos de sabor, os provadores decidiram eliminar o atributo adocicado, relataram que o sabor adocicado está associado com açúcar e como as amostras não continham açúcar estava havendo uma confusão quanto a este atributo.

Como o termo *característico* é muito amplo, os provadores os descreveram como característico de chá-mate – um aroma suave e quente, com leve sensação de queimado no final, que para alguns é relacionado ao cigarro, e como característico de chimarrão – um aroma amargo, que “perdura no nariz” após cheirar, lembra aroma de grama ou mato verde (no treinamento anterior foi descrito como aroma verde), e vem na memória imediatamente o aroma de outros chás como o boldo. A justificativa dos provadores em resumir estas sensações em um só atributo é que nem todos



conseguiram sentir cada uma em separado. Isto pode ser justificado pelo fato dos provadores não serem consumidores usuais do produto, assim, encontraram dificuldade em expressar as sensações percebidas.

Tabela 13 – Definições e referências utilizadas para descrever os atributos de chá-mate e chimarrão

<b>ATRIBUTO</b>	<b>DEFINIÇÃO</b>	<b>REFERÊNCIA</b>
<b>AROMA</b>		
Característico de chá-mate	Aroma característico de chá mate (erva-mate torrada) (nenhum ao forte)	Nenhum: água Fraco: infusão de chá-mate utilizando 1 saquinho de chá para 300mL de água Forte: infusão de chá-mate utilizando 4 saquinhos de chá para 300mL de água
Característico de chimarrão	Aroma característico de chimarrão (erva-mate verde) (nenhum ao forte)	Nenhum: água Fraco: infusão de erva-mate verde utilizando 11,25g de erva para 300mL de água Forte: infusão de erva-mate verde utilizando 45g de erva para 300mL de água
Adocicado	Aroma característico de doce, um cheiro bom, suave (nenhum ao forte)	Nenhum: água Forte: solução de água morna com açúcar, utilizando 30g de açúcar para 300mL de água.
<b>SABOR</b>		
Amargo	Gosto amargo característico (nenhum ao forte)	Nenhum: água Forte: solução de cafeína, utilizando 0,18g de cafeína para 300mL de água.
Adstringente	Sensação de "amarração" na língua e mucosas bucais (nenhum ao forte)	Nenhum: água Forte: solução de ácido tânico, utilizando 0,45g de ácido tânico em 300mL de água.
Residual	Aderência do sabor na boca por um tempo depois de engolir (nenhum ao forte)	Nenhum: água Forte: solução de extrato de própolis, utilizando 40 gotas de extrato em 300mL de água.

No estudo realizado por GRIGIONI et. al (2004) sobre características de sabor de erva mate, os descritores desenvolvidos pelos provadores foram: aroma de erva-mate, aroma de fruta, aroma adocicado, gosto amargo, sabor residual, sabor adstringente, sabor de erva-mate, sabor característico, sabor de chá, sabor verde, amadeirado, rudeza, sensação na boca. Observa-se uma similaridade entre termos encontrados no presente estudo para sabor e aroma de bebidas à base de erva-mate.

GRIGIONI et. al (2004) verificaram que provadores que não são consumidores usuais destas bebidas podem contribuir positivamente na apreciação das características de erva-mate, pois conseguem distinguir e descrever melhor os atributos conferidos ao produto.

Após reunião em grupo e discussão de cada atributo, tendo em mãos as amostras e referências, novas fichas de avaliação para os atributos de aroma e sabor foram elaboradas (Figuras 19 e 20). Posteriormente, foi realizada a seleção dos provadores para compor a equipe sensorial.

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Por favor, avalie o **AROMA** das amostras, indicando a intensidade percebida para cada atributo, colocando um traço vertical na escala correspondente.

Retire o vidro de relógio, leve a taça ao nariz e faça de duas a três inspirações. Se necessário agite a amostra com uma suave rotação da taça e aspire.

**AMOSTRA** \_\_\_\_\_

Característico de chá-mate

|-----|  
Nenhum Forte

Característico de chimarrão

|-----|  
Nenhum Forte

Adocicado

|-----|  
Nenhum Forte

COMENTÁRIOS: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Figura 19 – Ficha de avaliação utilizada para seleção dos provadores

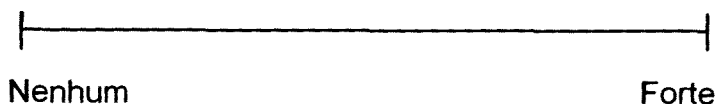
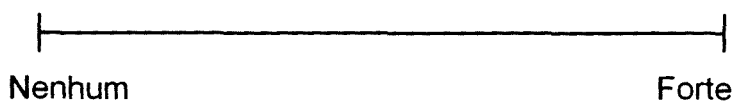
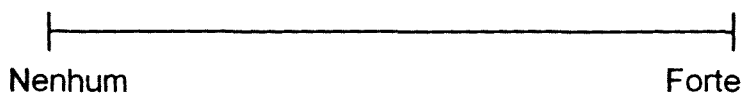
Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Por favor, avalie o **SABOR** das amostras, indicando a intensidade percebida para cada atributo, colocando um traço vertical na escala correspondente.

Tome um gole grande e deixe a amostra em contato com toda a superfície da boca. Ao terminar a análise coma um biscoito e tome água.

AMOSTRA \_\_\_\_\_

AmargoAdstringenteResidual

COMENTÁRIOS: \_\_\_\_\_

Figura 20 – Ficha de avaliação utilizada para seleção de provedores

Os parâmetros estatísticos relativos ao poder discriminativo, reprodutibilidade e consenso de cada provador com a equipe sensorial, em cada atributo julgado estão apresentados nas Tabelas 14 e 15.

Devido à dificuldade em selecionar os provadores para compor a equipe sensorial, o valor de  $p$  de  $F_{amostra}$  foi alterado de 0,15 para 0,30. Assim, provadores com  $p$  de  $F_{amostra} \geq 0,30$  foram descartados por possuírem baixo poder de discriminação e provadores com  $p$  de  $F_{repetição} \leq 0,05$  foram também descartados devido ao baixo nível de reprodutibilidade dos julgamentos sensoriais, conforme sugerido pelo ASTM (1981).

Os provadores mostraram boa repetibilidade e capacidade discriminatória para os atributos julgados (Tabela 14).

Os provadores 2, 4, 6, 8, 9 e 12 apresentaram bom poder discriminativo e boa repetibilidade para todos os atributos. O provador 1 não discriminou satisfatoriamente o atributo sabor adstringente, porém apresentou boa repetibilidade. O provador 3 apresentou boa capacidade discriminatória e baixa repetibilidade para o atributo gosto amargo. O provador 5 não discriminou satisfatoriamente o atributo aroma característico de chimarrão, porém apresentou boa repetibilidade. O provador 7 não discriminou satisfatoriamente o atributo aroma característico de chimarrão e apresentou baixa repetibilidade para o atributo sabor residual. O provador 10 não discriminou satisfatoriamente os atributos aroma característico de chá-mate, aroma característico de chimarrão e sabor adstringente, mas apresentou boa repetibilidade. O provador 11 não discriminou satisfatoriamente o atributo sabor residual e apresentou baixa repetibilidade para o atributo sabor adstringente.

A Tabela 15 mostra as médias dos provadores por atributo julgado. Os provadores 2, 3, 6, 8 e 9 detectaram diferença entre as amostras para todos os atributos. Os provadores 1 e 10 só detectaram diferença entre as amostras para o atributo gosto amargo. O provador 4 não diferenciou as amostras para os atributos relacionados ao aroma. Os provadores 5 e 7 não diferenciaram as amostras para os atributos de aroma característico de chá-

mate e chimarrão. O provador 11 não conseguiu diferenciar as amostras para os atributos de sabor adstringente e residual. O provador 12 não detectou diferença entre as amostras para os atributos aroma adocicado e sabor residual.

Assim, oito provadores (2, 3, 4, 5, 6, 8, 9 e 12), todos do sexo feminino, foram selecionados para compor a equipe sensorial para realizar a avaliação das amostras de bebidas à base de erva-mate.

Mesmo após a realização de dois treinamentos, a análise estatística dos resultados sugere interações significativas entre a amostra *versus* provador em todos os atributos. Entretanto, as amostras foram avaliadas de forma consensual entre a equipe sensorial e os provadores. Este fato pode ter ocorrido devido à falta de intimidade com o uso de escala hedônica.

Tabela 14 - Valores de  $p$  de  $F_{amostra}$  e  $p$  de  $F_{repetição}$  (vermelho) para cada provador em cada atributo julgado no teste de seleção da equipe descritiva quantitativa

<b>Atributo</b>	<b>Provador</b>											
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12
Aroma_caract_chá	0,031	0,001	0,003	0,118	0,175	0,000	0,024	0,008	0,000	0,894*	0,025	0,020
	0,075	0,500	0,816	0,350	0,626	0,613	0,528	0,625	0,500	0,207	0,579	0,216
Aroma_caract_chi	0,101	0,001	0,013	0,186	0,391*	0,002	0,691*	0,019	0,000	0,331*	0,002	0,018
	0,398	0,500	0,598	0,439	0,500	0,523	0,215	0,500	0,607	0,522	0,380	0,345
Aroma_adocicado	0,173	0,090	0,013	0,053	0,021	0,000	0,023	0,004	0,000	0,234	0,080	0,184
	0,675	0,456	0,195	0,380	0,788	0,284	0,183	0,405	0,500	0,557	0,470	0,500
Gosto_amargo	0,064	0,001	0,000	0,018	0,008	0,009	0,001	0,002	0,014	0,029	0,001	0,008
	0,779	0,697	0,007*	0,767	0,140	0,638	0,333	0,208	0,403	0,500	0,753	0,312
Sabor_adstringente	0,358*	0,002	0,036	0,006	0,001	0,067	0,003	0,002	0,005	0,391*	0,043	0,010
	0,289	0,573	0,542	0,149	0,080	0,791	0,496	0,729	0,752	0,375	0,028*	0,384
Sabor_residual	0,258	0,003	0,003	0,005	0,004	0,006	0,000	0,021	0,001	0,133	0,353*	0,183
	0,421	0,647	0,411	0,255	0,225	0,496	0,028*	0,666	0,906	0,422	0,610	0,529
D	1	0	0	0	1	0	1	0	0	3	1	0
R	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
TOTAL	1	0	1	0	1	0	2	0	0	3	2	0

D = número de vezes em que o provador não discriminou as amostras no nível de significância desejado ( $p \leq 0,30$ )

R = número de vezes em que o provador não apresentou repetibilidade no nível de significância desejado ( $p \geq 0,05$ )

\* Provadores que não atingiram os valores desejáveis:  $p_{amostra} \leq 0,30$  e  $p_{repetição} \geq 0,05$

Tabela 15 - Médias da Equipe Sensorial (ES) e de cada provador para os atributos de amostras de chimarrão (1) e chá-mate (2) julgados na etapa de seleção da equipe descritiva quantitativa

<b>Atributo</b>	<b>Amostra</b>	<b>Provador</b>												
		<b>ES</b>	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12
Aroma_caract_chá	1	<b>2,25<sup>a</sup></b>	1,78 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,65 <sup>a</sup>	4,03 <sup>a</sup>	4,00 <sup>a</sup>	1,45 <sup>a</sup>	0,03 <sup>a</sup>	3,38 <sup>a</sup>	4,16 <sup>a</sup>	4,83 <sup>a</sup>	0,40 <sup>a</sup>	2,18 <sup>a</sup>
	2	<b>6,58<sup>b</sup></b>	6,00 <sup>a</sup>	7,98 <sup>b</sup>	6,28 <sup>b</sup>	8,08 <sup>a</sup>	6,70 <sup>a</sup>	7,68 <sup>b</sup>	3,95 <sup>a</sup>	6,90 <sup>b</sup>	7,55 <sup>b</sup>	4,58 <sup>a</sup>	6,58 <sup>b</sup>	6,75 <sup>b</sup>
Aroma_carct_chi	1	<b>4,76<sup>a</sup></b>	4,78 <sup>a</sup>	7,13 <sup>a</sup>	6,40 <sup>a</sup>	4,53 <sup>a</sup>	1,55 <sup>b</sup>	5,35 <sup>a</sup>	1,78 <sup>a</sup>	3,88 <sup>a</sup>	7,58 <sup>a</sup>	0,73 <sup>a</sup>	7,33 <sup>a</sup>	6,10 <sup>a</sup>
	2	<b>1,57<sup>b</sup></b>	0,38 <sup>a</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,63 <sup>b</sup>	0,60 <sup>b</sup>	5,55 <sup>a</sup>	0,53 <sup>b</sup>	1,45 <sup>a</sup>	8,33 <sup>b</sup>	0,05 <sup>b</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,78 <sup>b</sup>	0,58 <sup>b</sup>
Aroma_adocicado	1	<b>1,19<sup>a</sup></b>	0,38 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,65 <sup>a</sup>	3,73 <sup>a</sup>	2,85 <sup>a</sup>	0,78 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	2,43 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	3,25 <sup>a</sup>	0,08 <sup>b</sup>	0,00 <sup>a</sup>
	2	<b>4,25<sup>b</sup></b>	2,85 <sup>a</sup>	2,85 <sup>b</sup>	1,98 <sup>b</sup>	8,28 <sup>a</sup>	5,83 <sup>b</sup>	6,98 <sup>b</sup>	0,58 <sup>b</sup>	8,05 <sup>b</sup>	4,90 <sup>b</sup>	6,53 <sup>a</sup>	1,83 <sup>a</sup>	0,33 <sup>a</sup>
Gosto_amargo	1	<b>7,31<sup>a</sup></b>	7,10 <sup>a</sup>	7,75 <sup>a</sup>	7,45 <sup>a</sup>	7,53 <sup>a</sup>	6,78 <sup>a</sup>	8,83 <sup>a</sup>	6,33 <sup>a</sup>	6,35 <sup>a</sup>	7,40 <sup>a</sup>	6,95 <sup>a</sup>	8,13 <sup>a</sup>	7,20 <sup>a</sup>
	2	<b>1,73<sup>b</sup></b>	1,78 <sup>b</sup>	1,28 <sup>b</sup>	2,03 <sup>b</sup>	2,10 <sup>b</sup>	4,68 <sup>b</sup>	3,15 <sup>b</sup>	0,90 <sup>b</sup>	0,75 <sup>b</sup>	2,93 <sup>b</sup>	0,10 <sup>b</sup>	0,33 <sup>b</sup>	0,70 <sup>b</sup>
Sabor_adstringente	1	<b>4,94<sup>a</sup></b>	5,38 <sup>a</sup>	7,40 <sup>a</sup>	4,68 <sup>a</sup>	6,55 <sup>a</sup>	6,08 <sup>a</sup>	7,93 <sup>a</sup>	6,45 <sup>a</sup>	5,83 <sup>a</sup>	4,95 <sup>a</sup>	0,25 <sup>a</sup>	1,15 <sup>a</sup>	2,65 <sup>a</sup>
	2	<b>1,19<sup>b</sup></b>	3,75 <sup>a</sup>	0,33 <sup>b</sup>	0,38 <sup>b</sup>	2,30 <sup>b</sup>	2,25 <sup>b</sup>	3,10 <sup>b</sup>	0,25 <sup>b</sup>	0,15 <sup>b</sup>	0,73 <sup>b</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,55 <sup>a</sup>	0,50 <sup>b</sup>
Sabor_residual	1	<b>6,14<sup>a</sup></b>	6,13 <sup>a</sup>	8,08 <sup>a</sup>	2,68 <sup>a</sup>	7,25 <sup>a</sup>	6,10 <sup>a</sup>	8,15 <sup>a</sup>	7,38 <sup>a</sup>	6,93 <sup>a</sup>	7,35 <sup>a</sup>	7,70 <sup>a</sup>	0,85 <sup>a</sup>	5,08 <sup>a</sup>
	2	<b>2,22<sup>b</sup></b>	3,10 <sup>a</sup>	1,30 <sup>b</sup>	0,13 <sup>b</sup>	2,38 <sup>b</sup>	2,40 <sup>b</sup>	1,70 <sup>b</sup>	4,03 <sup>b</sup>	2,68 <sup>b</sup>	0,90 <sup>b</sup>	4,95 <sup>a</sup>	0,28 <sup>a</sup>	2,80 <sup>a</sup>

Médias com a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $p \leq 0,05$ )



#### 4.2.1.4 Avaliação das amostras e análise dos resultados

A Figura 21 apresenta o perfil sensorial de sabor e aroma das amostras de bebidas à base de erva-mate. Observa-se no gráfico que o chimarrão apresenta maior intensidade dos atributos de sabor (amargo, adstringente e residual), enquanto o chá-mate apresenta maior intensidade do aroma adocicado. O gráfico mostra a diferença entre as amostras em relação aos atributos analisados.

Os resultados foram confirmados pelo teste de médias de Tukey, que estão apresentados na Tabela 16. As amostras de bebidas a base de erva-mate diferiram significativamente ( $p \leq 0,05$ ) entre si em relação a todos os atributos de sabor e aroma julgados.

Observa-se que a amostra de chimarrão apresentou maior média que a amostra de chá-mate em relação aos atributos aroma característico de chimarrão, amargo, adstringente e residual. Nos demais atributos a amostra de chá-mate apresentou médias maiores. Esta diferença entre médias confirma a diferença entre as amostras em relação aos atributos avaliados.

Tabela 16 – Médias da equipe sensorial para a intensidade dos atributos de aroma e sabor das amostras de bebidas à base de erva-mate.

Atributo	Chimarrão	Chá-mate
Aroma característico de chá-mate	0,87 <sup>b</sup>	7,22 <sup>a</sup>
Aroma característico de chimarrão	6,67 <sup>a</sup>	0,20 <sup>b</sup>
Aroma adocicado	0,72 <sup>b</sup>	4,52 <sup>a</sup>
Gosto amargo	7,66 <sup>a</sup>	2,88 <sup>b</sup>
Sabor adstringente	6,07 <sup>a</sup>	1,73 <sup>b</sup>
Sabor residual	6,80 <sup>a</sup>	3,65 <sup>b</sup>

Médias com letras diferentes na mesma linha diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ ) entre si pelo teste de Tukey.

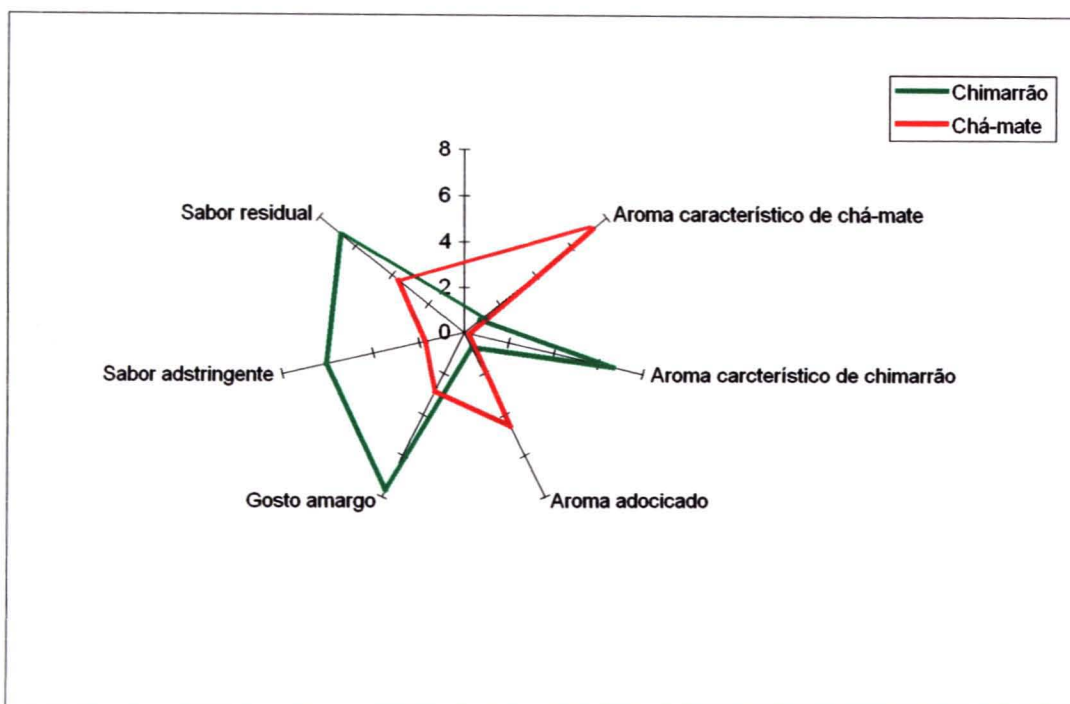


Figura 21 - Gráfico aranha para os atributos de aroma e sabor

Os atributos de sabor e aroma para bebidas à base de erva-mate (chá-mate e chimarrão) foram também analisados de Análise de Componentes Principais (ACP). Para esta análise utiliza-se a média de cada atributo obtida pela equipe sensorial por amostra em cada repetição.

A ACP sugere similaridades e diferenças entre as amostras, evidenciando as propriedades sensoriais de cada uma. A Figura 22 apresenta o gráfico obtido por meio desta análise para amostras de bebidas à base de erva-mate.

Observando-se o gráfico (Figura 22) verifica-se que os dois primeiros componentes principais explicam 99,5% da variação total que existe entre as amostras, sendo que o primeiro explica 98,4% desta variação. Isto demonstra que os descritores empregados discriminam satisfatoriamente as amostras analisadas.

Os vetores representam os atributos sensoriais, vetores de tamanho reduzido indicam atributos nos quais as amostras pouco diferem entre si. Observa-se no gráfico, vetores com tamanhos equivalentes, portanto, todos

os atributos têm importância semelhante para explicar as variações entre as amostras.

A localização das amostras em relação aos vetores indica qual atributo se apresenta com maior intensidade naquela amostra. Assim, verifica-se que a amostra de chá-mate foi caracterizada pelos atributos aroma adocicado e aroma característico de chá-mate. Por outro lado, a amostra de chimarrão caracterizou-se pelos aroma característico de chimarrão, gosto amargo, sabor adstringente e sabor residual.

A separação espacial entre as amostras sugere que elas apresentam características amplamente distintas entre si. Estes resultados foram confirmados por ANOVA e teste de Tukey (Tabelas 15 e 16).

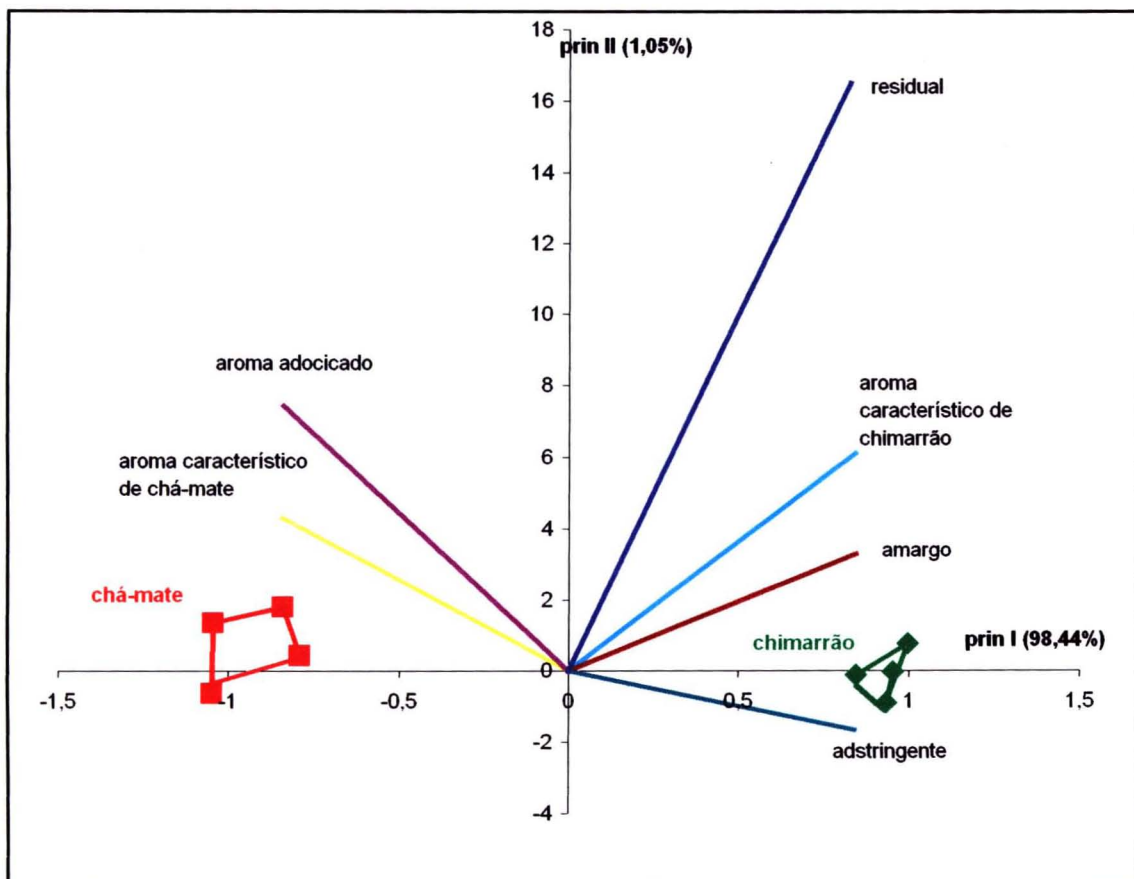


Figura 22 - Análise de Componentes Principais (ACP) para sabor e aroma de chá-mate e chimarrão.

### 4.3 Relação entre as análises instrumental e sensorial

A presença dos compostos voláteis 5-metilfurfural (caramelo, açúcar queimado) e do t-óxido de linalol (batata, torrado) no chá-mate certamente contribui para o seu aroma característico, que engloba, segundo os provadores, um “aroma com sensação de queimado e adocicado”. Os atributos “cigarro” e “queimado” inicialmente levantados (Tabela 9) e depois reunidos em um único termo devem estar relacionados à estes compostos. O aroma adocicado, outro atributo importante do chá-mate, deve estar relacionado à presença dos compostos trans  $\beta$ -damascenona (maçã, rosa, mel) e cis-óxido de linalol (flor).

O aroma característico de chimarrão, que foi qualificado como aroma de grama ou mato verde, é típico de compostos como  $\alpha$ -terpineol e linalol que representam 69% (em termos de área relativa) dos compostos presentes no isolado de chimarrão.

A descrição sensorial de compostos voláteis pode variar em função da concentração e da sua percepção pelos provadores, dependendo do limite de detecção. Portanto, a avaliação da contribuição odorífera desses compostos para as bebidas à base de erva-mate através de técnicas olfatométricas complementam os dados instrumentais (SILVA et. al 1994).

## 5 CONCLUSÕES

- A. O método de isolamento "headspace" permitiu estudar os compostos voláteis de bebidas à base de erva-mate, resultando no isolamento de compostos que conferem contribuição sensorial característica a cada bebida.
- B. O método de isolamento hidrodestilação (Clevenger) resultou em isolados com aroma representativo das bebidas à base de erva-mate com notas inferiores à obtidos pelo método de "headspace", indicando que os compostos de baixo ponto de ebulição apresentam importante contribuição ao sabor e ao aroma dessas bebidas.
- C. Os isolados submetidos à cromatografia gasosa (CG-DIC) resultaram em cromatogramas com picos representativos, apresentando diferenças para chimarrão e chá-mate.
- D. A concentração dos isolados foi necessária para a identificação dos compostos voláteis por Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas.
- E. Os compostos majoritários nos isolados por hidrodestilação de chá-mate foram o pico 26 (não identificado), um isômero do 2,4-heptadienal, o 5-metilfurfural, o 2,4-heptadienal e os óxidos de linalool (cis e trans) e os de chimarrão foram o linalool e o  $\alpha$ -terpineol.
- F. As bebidas a base de erva-mate foram caracterizadas pelos atributos: aroma característico de chimarrão, aroma característico de chá-mate, aroma adocicado, gosto amargo, sabor adstringente e sabor residual.
- G. A amostra de chimarrão apresentou maior intensidade nos atributos de sabor (amargo, adstringente e residual) e aroma característico de chimarrão. A amostra de chá-mate apresentou maior intensidade nos atributos aroma característico de chá-mate e aroma adocicado.
- H. As duas bebidas à base de erva-mate analisadas apresentaram características sensoriais distintas entre si. Evidenciando, assim, que o processamento influi nas características sensoriais das bebidas.

- I. Os compostos 5-metilfurfural e o t-óxido de linalool devem contribuir para os termos sensoriais queimado e cigarro. Os compostos t- $\beta$ -damascenona e t- $\beta$ -ionona devem ser importantes para o sabor e aroma doce encontrados em chá-mate.
- J. Os compostos  $\alpha$ -terpineol e linalool parecem ser importantes para o sabor e o aroma de chimarrão, contribuindo para a nota verde.
- K. A análise olfatométrica deverá complementar estes dados, assim como a identificação dos compostos voláteis presentes nos isolados por "headspace" dinâmico.
- L. Considerando a importância da pesquisa de sabor e aroma de alimentos e do produto utilizado para a presente pesquisa (erva-mate), os conhecimentos obtidos poderão contribuir com o desenvolvimento de novos produtos de alta qualidade nutricional e sensorial, tornando-os competitivos em mercados cada vez mais exigentes.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acree T e Arn H. Flavornet. Disponível em <URL:<http://www.flavornet.org>>. Acesso em 20 de março de 2005.

Adams RP. **Identification of essential oil components by Gas Chromatography / mass spectroscopy**. Allured publ. Corp: Carol Stream; 1995.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº302, de 07/11/2002: dispõe sobre fixação de identidade e qualidade do composto de erva-mate. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, 8 nov. 2002.

Alves GL., Franco MRB. Headspace gas chromatography-mass spectrometry of volatile compounds in murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich). **J Chromatogr A** 2003; 985: 297-301.

ASTM (American Society for Testing and Materials). **Guidelines for the selection and training of sensory panel members**. ASMT Sp. Tech. Publ. no.758 1981.

Baptista JAB, Tavares JFP, Carvalho RCB. Comparison of catechins and aromas among different green teas using HPLC; SPME-GC. **Food Res Intern** 1998; 31: 729-36.

Bastos DHM. **Compostos voláteis de méis de eucalipto e laranja**. Campinas; 1996. [Tese de Doutorado em Ciência dos Alimentos\_ Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas].

Bastos DHM, Silva MAAP, Franco MRB. Otimização da etapa de isolamento dos compostos voláteis de mel para análise por cromatografia gasosa. **Alimentos e Nutrição** 1998; 9: 77-88.

Bastos DHM, Franco MRB, Silva MAAP, Janzantti NS, Marques MO. Composição de voláteis e perfil de aroma e sabor de méis de eucalipto e laranja. **Cienc. Technol. Aliment**. 2002; 22: 122-129.

Bastos DHM, Torres EAFS. Bebidas a base de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e saúde pública. **Nutrire** 2003; 26: 77-89.

Bernardo-Gil MG, Ribeiro MA, Esquível MM. Produção de extractos para a indústria alimentar: uso de fluídos supercríticos. **Industria Alimentar** [serial on line] 2002; 73. Disponível em <URL:<http://www.spbt.pt>> [2005 mar 15].

Ciola R. **Fundamentos da cromatografia a gás**. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda; 1985.

Collins CH, Braga GL, Bonato PS. **Introdução a métodos cromatográficos**. 4. ed. Campinas: Editora da UNICAMP; 1990.

Correa G. **Sistema agroflorestal com erva-mate para reposição florestal da MAESA**. Projeto Operativo. Comunicação Pessoal – Machadinho – RS. 2001.

Costell EA. Comparison of sensory methods in quality control. **Food Quality and Preference** 2002; 13: 341-53.

Damásio MH, Costell E. Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. **Rev. Agroq. Tecn. Alim.** 1991; 31: 165-78.

DESER – Departamento de Estudos Socioeconômicos Rurais. Informativo de conjuntura agrícola e comercialização do alto Uruguai: **A cadeia produtiva da erva mate**. no. 3, setembro / outubro, 2001.

Dudareva N, Pichersky E, Gershenzon J. Biochemistry of Plant Volatiles. **Plant Physiology** 2004; 135:1893-902.

Dufresne C, Farnworth, E. A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. **J Nut Biochem** 2001; 12: 404-21.

Dutcosky SD. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Chanpagnat, 1996.

Esmelindro MC, Toniazzo G, Waczuk A, DARIVA C, Oliveira D. Caracterização físico-química da erva-mate: influência das etapas do processamento industrial. **Ciênc Tecnol Aliment** 2002; 22: 193-204.

Filip R, Lolito SB, Ferraro G, Fraga CG. Antioxidant Activity of *Ilex paraguariensis* and Related Species. **Nut Res** 2000; 20: 1437-46.

Finger A, Kuhr S, Engelhardt UH. Chromatography of tea constituents. **J Chromatogr** 1992; 624: 293-315.

Franco MR, Rodrigues-Amaya DB. Trapping of sousop (*Annona muricata*) juice volatiles on Porapak Q by suction. **J Sci Food Agric** 1983; 34: 293-99.

Franco MR, Shibamoto T. Volatile composition of some Brazilian fruits: umbu-cajá (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitata*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **J Agric Food Chem** 2000; 48: 1263-65.

Franco MR, Janzantti NS. Avanços na metodologia instrumental da pesquisa do sabor. *In*: FRANCO MR. **Aroma e Sabor de Alimentos: temas atuais**. São Paulo: Livraria Varela, 2004; 17-27.



Frank RA. Response context affects judgments of flavor components in food and beverages. **Food Quality and Preference** 2002; 14: 139-45.

Garruti DS, Rossetti AG, Lima RC. **Análise descritiva quantitativa de suco de pseudofrutos de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale* L.)** In ALMEIDA TCA. Avanços em Análise Sensorial. São Paulo: Varela, 1999; 227-42.

Garruti DS. **Composição de voláteis e qualidade de aroma do vinho de caju.** Campinas, 2001. [Tese de Doutorado em Ciência dos Alimentos\_Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas].

Garruti DS, Franco MRB, Silva MAA, Janzantti NS, Alves GL. Evaluation of volatile flavour compounds from cashew apple (*Anacardium occidentale* L) juice by the Osme gas chromatography/olfactometry technique. **J Sci Food Agric** 2003; 83:1455-1462.

Grigioni G, Carduza F, Irueta M, Pensel N. Flavor characteristics of *Ilex paraguariensis* infusión, a typical Argentine product, assessed by sensory evaluation and eletronic nose. **J Sci Food Agric** 2004; 84: 427-32.

Grob Jr, Roman A. Sample transfer in splitless injections in capillary gas chromatographic. **J Chomatogr** 1981; 214-18.

Guichard E, Issanchous S. Extraction of volatile compouds from raspberry by diferent methods – aplication of principal component analysis to gas cromatographic data. **Sci Aliments** 1988; 3:427-38.

Heinrichs R, Malavolta E. Composição mineral do produto comercial da erva-mate. **Ciência Rural** 2001; 31: 781-85.

Howard GE. The volatile constituents of tea. **Food Chem** 1978; 4: 97-105.

IFF Aromas: o que são, para que servem, como são feitos. IFF Essências e Fragâncias Ltda. 2.ed., 1997. 28p.

Janzantti NS. **Composição de voláteis de maçãs (*Malus domestica*) cultivar Fuji. II. Efeito do processamento e do armazenamento na composição de suco clarificado de maçãs Fuji.** Campinas; 1996. [Tese de Mestrado em Ciência dos Alimentos\_Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas].

Janzantti NS, Franco MRB, Lanças FM. Identificação de compostos voláteis de maçãs (*Malus domestica*) cultivar Fuji, por cromatografia gasosa-espectometria de massas. **Ciênc Tecnol Aliment** 2000; 20.

Jennings W, Shibamoto T. **Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography**. Academic Press: New York, 1980.

Jennings W. **Gas chromatography with glass capillary columns**. Cap.7. Londres: Academic Press, 1980.

Kato M, Shibamoto T. Variation of major volatile constituents in various green teas from Southeast Asia. **J. Agric. Food Chem** 2001; 49:1394-96.

Kawakami M, Kobayashi A. Volatile Constituents of Green Mate and Roasted Mate. **J. Agric. Food. Chem** 1991; 39: 1275-79.

Kilic A, Hafizoglu H, Kollmannsberger H, Nitz S. Volatile constituents and key odorants in leaves, buds, flowers and fruits of *Laurus nobilis* L. **J. Agric. Food Chem** 2004; 52: 1601-06.

Kinugasa H, Takeo T. Deterioration mechanism for tea infusion aroma by retort pasteurization. **Agric. Biol. Chem** 2001; 54: 2537-42.

Kumazawa K, Masuda H. Identification of potent odorants in Japanese green tea (sen-cha). **J. Agric. Food Chem** 1999; 47: 5169-72.

Kumazawa K, Masuda H. Change in the flavor of black tea drink during heat processing. **J. Agric. Food Chem** 2001; 49: 3304-09.

Kumazawa K, Masuda H. Identification of potent odorants in different green tea varieties using flavor dilution technique. **J. Agric. Food Chem** 2002; 50: 5660-63.

Lindgren, BW. **Statistical Theory**. The Macmillan Company, 1960.

McLafferty FW, Tureck F. **Interpretation of mass spectra**. 4.ed. California: University Science Books; 1993.

Meilgaard M, Civille GV, Carr BT. **Sensory Evaluation Techniques**, 3. ed. Florida: CRC Press; 1999.

Mick W, Schreier P. Additional volatiles of black tea aroma. **J. Agric. Food. Chem** 1984; 32: 924-29.

Miller JM. **Chromatography: concepts and contrasts**. New York: Wiley e sons; 1988, cap.6.

Moskowitz HR. **Product testing and sensory evaluation of foods – marketing and R e D approaches**. Westport: Food e Nutrition Press, 1983.

Murray JM, Delahunty CM, Baxter IA. Descriptive sensory analysis: past, present and future. **Food Res Intern** 2001; 34: 461-71.

Oliveira AM, Pereira NR, Marsaioli AJr, Augusto F. Studies on the aroma of cupuassu liquor by headspace solid-phase micro extraction and gas chromatography. **J Chromatogr A** 2004; 1025:115-24.

Polleto ACP, Sousa ALEVR, Ricardo APEV, Clemente ES, Garcia LV, Mello MA, Janzantti NS, Freitas SC, Silva MAAP. **Desenvolvimento de terminologia descritiva e perfil sensorial de cremes de leite acondicionados em embalagens de folha de flandres e tetra brik.** Boletim do Centro de Pesquisa e processamento de alimentos. Curitiba. 1996; 14: 89-104.

Ravichandran R, Parthiban R. The impact of processing techniques on tea volatiles. **Food Chem** 1998; 62: 347-53.

Ravichandran R. Carotenoid composition, distribution and degradation to flavor volatiles during black tea manufacture and the effect of carotenoid supplementation on tea quality and aroma. **Food Chem** 2002; 78: 23-28.

Reif VD, Littleton BC, Sinsheimer JE. New volatile constituents of black tea aroma. **J Agric Food Chem** 1975; 23: 999-1003.

Santa Cruz MJ, Garitta L, Hough G. Sensory Descriptive Analysis of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire), a South American Beverage. **Food Sei Tech Int** 2002; 8: 25-31.

Santa Cruz MJ, Garitta L, Hough G. Note: Relationships of consumer acceptability and sensory attributes of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) using Preference Mapping. **Food Sei Tech Int** 2003; 9: 347-52.

SBCTA (Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos). **Análise Sensorial: testes discriminativos e afetivos.** Elaborado por Ferreira VLP et. al Campinas: SBCTA, 2000. 127p. (Manual: Série Qualidade).

Schinella GR, Troiani G, Dávila V, Buschiazzo PM, Tournier HA. Antioxidant Effects of an Aqueous Extract of *Ilex paraguariensis*. **Biochemical and Biophysical Research Communications** 2000; 269: 357-60.

Shimoda M, Shigematsu H, Shiratsuchi H, Osajima Y. Comparison of the odor concentrates by SDE and adsorptive column method from green tea infusion. **J Agric Food Chem** 1995a; 43: 1616-20.

Shimoda M, Shigematsu H, Shiratsuchi H, Osajima Y. Comparison of volatile compounds among different grades of green tea and their relations to odor attributes. **J Agric Food Chem** 1995b; 43: 1621-25.

Sides A, Robards K, Helliwell S. Developments in extraction techniques and their application to analysis of volatile in foods. **Trends in Analytical Chemistry** 2000; 19.

Silva MAAP, Damásio MH. Curso: **Análise Sensorial Descritiva**. Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia "André Tosello". Campinas. Novembro, 1994. 58p.

Silva MAAP, Sampaio KL, Bertolini AC. CG-Olfatometria (CGO): uma revisão. In: Franco MR. **Aroma e Sabor de Alimentos: temas atuais**. São Paulo: Livraria Varela, 2004; 29-46.

Singleton JA, Patte HE. **Analysis of food and beverages**. Academic Press. New York, 1978. 359p.

Spoto MHF. **Análise Sensorial de Alimentos**. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba; 2003. [Apostila da disciplina de pós-graduação de Análise Sensorial de Alimentos].

Stagg GV, Millin DJ. The nutritional and therapeutic value of tea – a review. **J Sci Food Agric** 1975; 26: 1439-59.

Sutherland PJ. **Beverages technology, chemistry and microbiology**. In: Varnam, A. H. cap 4: Tea. Londres: Champmam e Hall, 1994; 126-90.

Thomazini M. **Compostos voláteis de sucos provenientes da fruta e polpa congeladas de umbu (*Spondias tuberosa*, Anacardiaceae)**. Campinas; 1998. [Tese de Mestrado em Ciência dos Alimentos\_Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas].

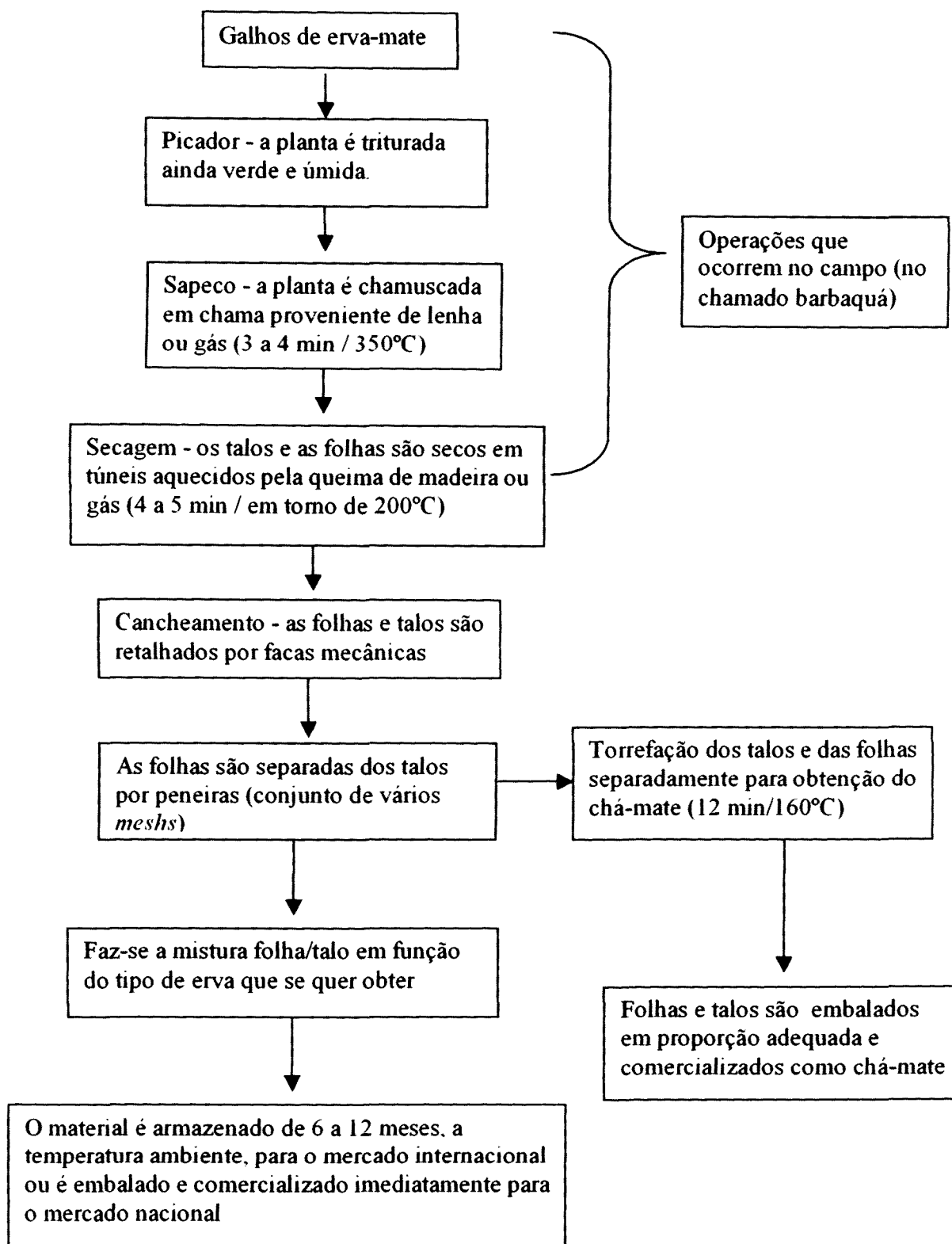
Thomazini M, Franco MRB. Metodologia para análise dos constituintes voláteis do sabor. **Ciênc Tecnol Aliment** 2000; 34: 52-9.

Togari N, Kobayashi A, Aishima T. Relating sensory properties of tea aroma to gas chromatographic data by chemometric calibration methods. **Food Res Internat** 1995a; 28: 485-93.

Togari N, Kobayashi A, Aishima T. Pattern recognition applied to gas chromatographic profiles of volatile components in three tea categories. **Food Res Internat** 1995b; 28: 495-502.

Tormen MJ. Economia ervateira brasileira. In: Winge H, Ferreira AG, Mariath JEA, Tarasconi LC. **Erva-mate: biologia e cultura no Cone Sul**. Porto Alegre: Ed. Universidade / UFRGS, 1995; 27-40.

# **ANEXOS**

**ANEXO I****FLUXOGRAMA DE PRODUÇÃO DA ERVA-MATE**

Fonte: Kormann, 2003. Comunicação oral.

**ANEXO II****FICHA DE AVALIAÇÃO DA INTENSIDADE DE AROMA CARACTERÍSTICO**  
**("HEADSPACE" DINÂMICO)**

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

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Por favor, avalie a intensidade de aroma característico de chá-mate em cada uma das amostras codificadas, colocando um traço vertical na escala correspondente.

**Amostra**

\_\_\_\_\_ |-----|  
Fraco Forte

\_\_\_\_\_ |-----|  
Fraco Forte

\_\_\_\_\_ |-----|  
Fraco Forte

COMENTÁRIOS: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**ANEXO III****FICHA DE AVALIAÇÃO DA INTENSIDADE DE AROMA CARACTERÍSTICO**  
**(HIDRODESTILAÇÃO)**

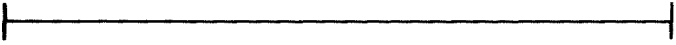
Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Por favor, avalie a intensidade de aroma característico de chá-mate (ou chimarrão) em cada uma das amostras codificadas, colocando um traço vertical na escala correspondente.

**Amostra**

\_\_\_\_\_



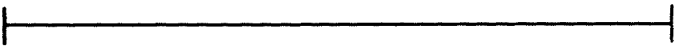
Fraco Forte

\_\_\_\_\_



Fraco Forte

\_\_\_\_\_



Fraco Forte

DESCREVA O AROMA PERCEBIDO: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



## ANEXO IV

### QUESTIONÁRIO PARA PRÉ-SELEÇÃO DE PROVADORES

Convido você a participar de uma pesquisa na área de ciência dos alimentos como provador (analista sensorial). Esta pesquisa tem como objetivos: desenvolver descrição sensorial e suas referências para bebidas à base de erva-mate e avaliar as suas propriedades sensoriais.

O candidato realizará vários testes sensoriais, tendo como amostras bebidas à base de erva-mate. O candidato deverá se comprometer a participar da pesquisa até o final, não faltando em nenhuma sessão a que for convocado. Lembro que este estudo não apresenta nenhum risco à integridade física e moral do participante. Fica claro também que é um trabalho voluntário, em que o participante estará contribuindo para a realização de pesquisas científicas.

As sessões de análise sensorial serão realizadas no Laboratório de Técnica dietética da Faculdade de Saúde Pública / USP, localizada na Av. Dr. Arnaldo 715, Cerqueira César, São Paulo – SP. E tem como responsável Carla Carolina Batista Machado (orientanda da Profa. Deborah Bastos), telefone (11) 81213885, com quem deverá entrar em contato caso se interesse em participar da pesquisa.

Por favor, preencha o formulário abaixo:

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

Data de nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_ F \_\_\_ M

Profissão: \_\_\_\_\_ Horário de trabalho: \_\_\_\_\_

Contato (telefones): \_\_\_\_\_

Qual horário preferencial para participar da pesquisa? \_\_\_\_\_

Você gosta de bebidas à base de erva-mate (chá, chimarrão...)? \_\_\_\_\_

Se sim, com que frequência consome? \_\_\_\_\_

Estado de saúde? \_\_\_\_\_

Possui alguma doença? \_\_\_\_\_

Passou por alguma cirurgia recentemente? \_\_\_\_\_

Faz uso de algum medicamento: \_\_\_\_\_

Como é o apetite? \_\_\_\_\_

Eu \_\_\_\_\_ estou ciente dos termos

acima descritos, e aceito participar da pesquisa.

São Paulo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2003.

## ANEXO V



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
 FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA  
 DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO  
 Av. Dr. Arnaldo, 715 – CEP: 01246-904 - São Paulo.  
 Fone: 3066-7736 ou 7705/7762/7701  
 Fone/Fax: (011) 852-6748

**Termo de Consentimento Esclarecido**

Resolução n. 196, de 10 de outubro de 1996, segundo o Conselho Nacional de Saúde.

**Título do Protocolo de Pesquisa:** Compostos voláteis em bebidas à base de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) e a relação com o sabor e aroma.

**Objetivo:** Investigar a composição dos voláteis de bebidas à base de erva-mate, determinando a importância de cada composto para a formação do sabor e aroma característicos e caracterizar estas bebidas quanto ao seu sabor e aroma, utilizando Análise Descritiva Quantitativa (ADQ).

**População de Estudo:** amostra da comunidade universitária.

**Orientadora:** Deborah Helena Markowicz Bastos

**Autora da Pesquisa:** discente de pós-graduação (FSP/USP): Carla Carolina B. Machado

**Caro Colaborador:** Este estudo será realizado por meio de análise instrumental e sensorial. Serão utilizados os laboratórios de bromatologia e técnica dietética da Faculdade de Saúde Pública.

**Risco:** O estudo não trará risco à sua integridade física e moral.

**Benefícios:** As informações obtidas neste estudo serão úteis cientificamente (a) pela contribuição para a área de pesquisa de sabor e aroma de alimentos e (b) para obter-se subsídios visando ao processamento da erva-mate, de modo que resulte em produtos com maior aceitação por uma população que não é tradicionalmente consumidora desse produto.

**Privacidade:** As informações obtidas neste estudo poderão ser divulgadas em publicações, congressos, porém sem identificação do participante. O pesquisador garante fornecer resposta a qualquer pergunta ou esclarecer qualquer dúvida que houver sobre os procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa. A participação de vossa senhoria é voluntária, podendo retirar seu consentimento e deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem maiores consequências. Ciente do compromisso assumido na minha colaboração com esta pesquisa, e pela importância da mesma subscrevo-me a seguir:

Nome (completo): \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Assinatura do pesquisador: \_\_\_\_\_

Caso necessite informações complementares sobre a pesquisa, entrar em contato com: Mestranda Carla Carolina Batista Machado e Prof. Dr.<sup>a</sup> Deborah Helena Markowicz Bastos, Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Av. Dr. Arnaldo, 715, ou pelo telefone 3066 7771 ou 3066 7701.

## **ANEXO V**

### **Protocolo de Pesquisa**

**Título do Protocolo:** Compostos voláteis em bebidas à base de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) e a relação com o sabor e aroma.

**Pesquisadora:** Carla Carolina Batista Machado  
**Carteira de Identidade:** 3411680 (2ª via) SSP/GO  
**CPF:** 785141771-68  
**Endereço para correspondência:** Av. Dr. Arnaldo, 715.  
CEP: 01246 - 904 - São Paulo.  
**Telefone:** 3066 7771 **e-mail:** carlacbm@usp.br  
**Cargo/função:** Mestranda

**Orientadora:** Deborah Helena Markowicz Bastos  
**Carteira de Identidade:** 8470656 SSP/SP  
**CPF:** 063693008-45  
**Endereço para correspondência:** Av. Dr. Arnaldo, 715.  
CEP: 01246 - 904 - São Paulo.  
**Telefone:** 3066 7771 **e-mail:** dmbastos@usp.br  
**Unidade:** Faculdade de Saúde Pública / Departamento de Nutrição  
**Universidade:** Universidade de São Paulo

**OBJETIVO:** O presente projeto visa investigar a composição dos voláteis de bebidas à base de erva-mate, determinando a importância de cada composto para a formação do sabor e aroma característicos e caracterizar estas bebidas quanto ao seu sabor e aroma, utilizando Análise Descritiva Quantitativa (ADQ).

**MATERIAL E MÉTODOS:** Os dados referentes às características sensoriais da bebida à base de erva-mate serão coletados na FSP por meio de análise sensorial através da aplicação de um formulário e olfatométrie.

**BIBLIOGRAFIA:** Periódicos e livros publicados, recentemente sobre o tema.

**RISCO:** Este estudo não apresenta nenhum risco à integridade física e moral do participante.

**BENEFÍCIOS:** Desenvolver descrição sensorial e suas referências para bebidas à base de erva-mate e avaliar as propriedades sensoriais da erva-mate. Contribuir para a área de conhecimento que relaciona análise instrumental e análise sensorial e aquela que estuda sabor e aroma de alimentos. Caracterizar o produto quanto ao seu sabor e aroma pode subsidiar a produção industrial de produtos a base de erva-mate com maior aceitação pelo consumidor, e consequentemente fomentar o consumo de bebidas à base de erva-mate.

**DURAÇÃO TOTAL DA PESQUISA:** 12 a 18 meses.

**LOCAL DA PESQUISA:** A pesquisa será realizada nos seguintes locais: Av. Dr. Arnaldo 715, São Paulo – SP (Faculdade de Saúde Pública)

As informações obtidas neste estudo serão tornados públicos sejam eles favoráveis ou não e poderão ser divulgadas em publicações, congressos, porém sem identificação do participante.

**CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO:** A população estudada constará de uma amostra da comunidade universitária. Indivíduos, de ambos os sexos, serão recrutados para participar da pesquisa, desde que manifestem seu consentimento, não havendo, portanto, nenhum critério para exclusão.

O pesquisador se compromete em cumprir a Resolução n. 196, de 10 de outubro de 1996, segundo o Conselho Nacional de Saúde.





**ANEXO VIII****FICHA UTILIZADA PARA O TESTE DE ORDENAÇÃO**

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_/\_\_/\_\_

Você está recebendo quatro amostras codificadas. Por favor, avalie as amostras da esquerda para a direita quanto à intensidade de **aroma característico de chá-mate**. Para isso, retire o vidro de relógio, leve o “frasco” ao nariz e faça de duas a três inspirações em cada amostra. Entre uma amostra e outra, inspire três vezes o copo com água.

Anote o código da amostra, na posição correspondente de cada uma para a ordem crescente de intensidade de **aroma característico de chá-mate**.

\_\_\_\_\_  
amostra com odor  
menos característico

\_\_\_\_\_  
amostra com odor  
mais característico

## ANEXO IX

### FICHA UTILIZADA PARA O MÉTODO DE REDE

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

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Você está recebendo duas amostras de bebidas à base de erva-mate. Por favor, avalie as amostras e descreva suas similaridades e diferenças quanto à APARÊNCIA, AROMA E SABOR que as caracterizam. Primeiro avalie a aparência e segundo o aroma das bebidas. Depois, ao provar, coloque uma porção da amostra suficiente para cobrir a língua. Em seguida leve a amostra por todos os lados da língua. Tome um pouco de água entre uma amostra e outra.

AMOSTRAS \_\_\_\_\_ E \_\_\_\_\_

#### APARÊNCIA

<i>SIMILARIDADES</i>	<i>DIFERENÇAS</i>

#### AROMA

<i>SIMILARIDADES</i>	<i>DIFERENÇAS</i>

#### SABOR

<i>SIMILARIDADES</i>	<i>DIFERENÇAS</i>

COMENTÁRIOS: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## ANEXO X

Íons majoritários provenientes da fragmentação por espectrometria de massas dos compostos voláteis presentes em chimarrão.

COMPOSTO	IK Calculado	Íons majoritários (M/Z) abundância relativa (%)									
		44	40	49	43	51	77	106	105	84	50
Benzaldeído	952	100	92	51	43	32	26	23	20	17	12
Isômero do 2,4-heptadienal	1006	100	94	70	48	41	31	23	17	16	13
n.i.	1078	100	94	85	79	35	33	28	21	11	-
Trans-óxido de linallal	1086	100	49	35	32	27	21	16	14	12	11
<b>Linalool</b>	<b>1098</b>	<b>100</b>	<b>70</b>	<b>46</b>	<b>36</b>	<b>29</b>	<b>24</b>	<b>23</b>	<b>23</b>	<b>23</b>	<b>22</b>
Isopentil isovalerato	1102	100	80	59	45	40	37	29	25	20	20
<b><math>\alpha</math>-terpineol</b>	<b>1187</b>	<b>100</b>	<b>94</b>	<b>72</b>	<b>71</b>	<b>65</b>	<b>56</b>	<b>52</b>	<b>39</b>	<b>36</b>	<b>34</b>
Cis-carveol	1226	100	53	50	45	41	38	38	36	33	31
<b>Dihidrocarveol acetato</b>	<b>1304</b>	<b>100</b>	<b>46</b>	<b>29</b>	<b>28</b>	<b>27</b>	<b>21</b>	<b>21</b>	<b>19</b>	<b>16</b>	<b>14</b>
n.i.	2114	100	87	59	58	55	39	38	37	34	31

n.i. = não identificado



## ANEXO XI

Íons majoritários provenientes da fragmentação por espectrometria de massas dos compostos voláteis presentes em chá-mate.

COMPOSTO	IK Calculado	íons majoritários (M/Z) abundância relativa (%)									
		53	110	109	51	50	43	52	77	106	105
<b>5-metilfurfural</b>	<b>951</b>	<b>53</b>	<b>110</b>	<b>109</b>	<b>51</b>	<b>50</b>	<b>43</b>	<b>52</b>	<b>77</b>	<b>106</b>	<b>105</b>
		100	90	78	38	29	26	17	14	13	12
n.i.	979	43	41	55	81	58	53	69	67	40	108
		100	53	27	16	14	13	13	12	11	11
<b>2,4-heptadienal</b>	<b>989</b>	<b>81</b>	<b>41</b>	<b>53</b>	<b>110</b>	<b>51</b>	<b>40</b>	<b>67</b>	<b>68</b>	<b>79</b>	<b>55</b>
		100	59	49	22	21	21	20	18	17	15
<b>Isômero do 2,4-heptadienal</b>	<b>1003</b>	<b>81</b>	<b>41</b>	<b>53</b>	<b>51</b>	<b>110</b>	<b>79</b>	<b>40</b>	<b>67</b>	<b>50</b>	<b>77</b>
		100	52	44	18	18	18	17	17	11	11
t- $\beta$ -ocimeno	1051	68	67	41	93	119	91	53	40	77	51
		100	63	61	53	45	34	34	30	30	25
<b>(Z)-óxido de linalol*</b>	<b>1068</b>	<b>43</b>	<b>59</b>	<b>41</b>	<b>55</b>	<b>71</b>	<b>67</b>	<b>68</b>	<b>81</b>	<b>53</b>	<b>94</b>
		100	55	40	28	18	17	14	13	13	13
<b>t-óxido de linalol</b>	<b>1084</b>	<b>43</b>	<b>59</b>	<b>41</b>	<b>55</b>	<b>67</b>	<b>71</b>	<b>53</b>	<b>68</b>	<b>81</b>	<b>79</b>
		100	50	45	27	19	19	16	14	14	13
n.i.	1096	41	93	43	119	91	53	69	77	55	67
		100	58	55	45	40	27	24	24	24	24
karahanaenona	1149	41	67	95	43	152	96	40	81	55	53
		100	57	45	44	37	35	31	31	30	27
Salicilato de metila	1187	120	92	152	121	65	63	64	53	93	44
		100	59	39	32	27	21	19	16	15	12
n.i.	1209	94	79	55	41	44	53	67	68	91	51
		100	54	29	29	27	25	25	19	17	16
<b>Isômero do 14</b>	<b>1211</b>	<b>94</b>	<b>79</b>	<b>41</b>	<b>40</b>	<b>55</b>	<b>91</b>	<b>53</b>	<b>95</b>	<b>67</b>	<b>92</b>

## ANEXO XI

Continuação anexo XI...

		100	64	47	42	31	26	20	19	18	17
n.i.	1275	44	43	40	41	93	55	91	121	192	53
		100	59	55	49	30	24	21	20	19	16
n.i.	1347	44	157	40	142	141	172	115	155	51	158
		100	68	53	35	21	17	12	11	10	09
t- $\beta$ -damascenona	1378	44	40	69	41	43	121	45	51	105	91
		100	59	29	24	17	10	07	06	05	04
n.i.	1403	44	40	142	157	141	172	43	115	128	51
		100	51	42	40	16	13	12	11	11	10
Geraniol acetona	1447	44	43	40	41	69	55	159	53	45	107
		100	99	54	39	17	10	09	07	06	06
$\alpha$ - curcurneno	1477	44	40	43	41	55	105	119	91	79	159
		100	58	14	10	06	05	05	05	05	05
t- $\beta$ -ionona	1480	44	43	40	117	41	91	55	159	77	53
		100	80	57	22	21	10	10	08	08	08
n.i.	1617	44	40	41	43	183	45	185	115	141	55
		100	59	10	10	08	04	04	04	04	04
n.i.	1839	43	41	55	57	123	95	82	81	68	67
		100	90	64	62	56	52	48	43	33	33
n.i.	1864	44	40	43	41	55	57	82	123	81	95
		100	56	51	44	34	31	27	26	24	19
n.i.	1881	44	43	41	57	55	40	123	82	81	95
		100	97	84	60	59	58	54	52	50	47

n.i. = não identificado