

IZABELA FURTADO DE OLIVEIRA ROCHA

**SUCO DE MARACUJÁ: PERFIL SENSORIAL; ESTUDO DO CONSUMIDOR
E AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO GUSTATIVA EM INDIVÍDUOS COM DIABETES
MELLITUS TIPO 1 E TIPO 2**

**PASSION FRUIT JUICE: SENSORY PROFILE, ACCEPTANCE OF
CONSUMERS AND EVALUATION OF GUSTATORY FUNCTION IN
INDIVIDUALS WITH DIABETES MELLITUS TYPE 1 AND TYPE 2**

Campinas - SP

2016

IZABELA FURTADO DE OLIVEIRA ROCHA

**SUCO DE MARACUJÁ: PERFIL SENSORIAL; ESTUDO DO CONSUMIDOR
E AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO GUSTATIVA EM INDIVÍDUOS COM DIABETES
MELLITUS TIPO 1 E TIPO 2**

**PASSION FRUIT JUICE: SENSORY PROFILE, ACCEPTANCE OF
CONSUMERS AND EVALUATION OF GUSTATORY FUNCTION IN
INDIVIDUALS WITH DIABETES MELLITUS TYPE 1 AND TYPE 2**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutora em Alimentos e Nutrição – Área de Consumo e Qualidade de Alimentos.

Thesis presented to the Faculty of Food Engineering of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor, in the area of Consumption and Quality of Food.

Orientadora: Prof^a Dr^a Helena Maria André Bolini

Coorientadora: Prof^a Dr^a Elizabeth João Pavin

Este exemplar corresponde à versão final da tese defendida pela aluna Izabela Furtado de Oliveira Rocha, orientada pela Prof^a Dr^a Helena Maria André Bolini

Campinas - SP

2016

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): CNPq, 140923/2011-0

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

R582s Rocha, Izabela Furtado de Oliveira, 1983-
Suco de maracujá perfil sensorial, estudo do consumidor e avaliação da função gustativa em indivíduos com Diabetes *Mellitus* tipo 1 e tipo 2 / Izabela Furtado de Oliveira Rocha. – Campinas, SP : [s.n.], 2016.

Orientador: Helena Maria André Bolini.
Coorientador: Elizabeth João Pavin.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Suco de maracujá. 2. Perfil sensorial. 3. Limiar gustativo. 4. Avaliação sensorial. I. Bolini, Helena Maria André. II. Pavin, Elizabeth João. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Passion fruit juice sensory profile, acceptance of consumers and evaluation of gustatory function in individuals with Diabetes *Mellitus* type 1 and 2

Palavras-chave em inglês:

Passion fruit juice

Sensory profile

Taste threshold

Sensory evaluation

Área de concentração: Consumo e Qualidade de Alimentos

Titulação: Doutora em Alimentos e Nutrição

Banca examinadora:

Helena Maria André Bolini [Orientador]

Pablo Christiano Barboza Lollo

Karina de Lemos Sampaio

Marta Regina Verruma Bernardi

Taciana Davanço

Data de defesa: 17-02-2016

Programa de Pós-Graduação: Alimentos e Nutrição

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Helena Maria André Bolini – Membro Titular – Orientadora

Prof Dr. Pablo Christiano Barboza Lollo– Membro Titular

Dr^a. Karina de Lemos Sampaio – Membro Titular

Prof^a. Dr^a. Marta Regina Verruma Bernardi - Membro Titular

Prof^a. Dr^a. Taciana Davanço - Membro Titular

Prof^a Dr^a. Maria Cândida Ribeiro Parisi- Membro Suplente

Dr^a. Cinthia Baú Betim Cazarin - Membro Suplente

Prof^a Dr^a. Daniela Cardoso Umbelino Cavallini – Membro Suplente

Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no
processo de vida acadêmica do aluno.

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a minha família:

Aos meus pais que eu amo tanto: José Martins da Rocha e Marisa Furtado de Oliveira Rocha, obrigada por tudo, sempre!!! E ao meu irmão Alexandre.

Parte dessa conquista eu devo a vocês!!!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus,

À minha orientadora Prof^a Dr^a Helena Maria André Bolini, pelos ensinamentos, palavras de carinho, grandeza da compreensão e do perdão pelos meus erros. Sou imensamente grata por tudo! Obrigada!

À minha coorientadora Prof^a Dr^a Elizabeth João Pavin, pelos ensinamentos, pela atenção e generosidade e por ter me permitido ir aos ambulatórios de DM1 e DM2 para dar continuidade a uma parte tão importante dessa tese.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado.

À Ajinomoto®, Tovani-Benzaquen® e Sweet Mix® pelas doações dos edulcorantes.

Aos pacientes do ambulatório de DM1 e DM2 que aceitaram participar da pesquisa e que me ensinaram muito sobre o que ter o Diabetes *Mellitus*. Agradeço muito pelo carinho que tiveram comigo, me contando um pouco das dificuldades de ter o DM, e que torceram muito por mim. MUITÍSSIMO obrigada a todos. Minha imensa gratidão.

Aos provadores que com muita dedicação, me proporcionaram realizar esse trabalho. Muito obrigada a vocês!! Sou imensamente grata!!!

À Dra Candida e Dr Arnaldo por todo apoio e incentivo

À equipe do ambulatório de Diabetes Mellitus: Regina, Susy, Verô, Célia, Andreza, Tânia, Aldaci e Marta, que me receberam com tanto carinho e que me apoiaram. Muito obriagada.

Às minhas queridas colegas de laboratório, com quem convivi durante toda a tese e que me deram muita força e incentivo: Carol, Mírian, Mari (Veloster), Elisa e Cris.

Ao Departamento de Alimentos e Nutrição (DEPAN) da FEA/UNICAMP e ao Laboratório de Análise Sensorial pela oportunidade de realização deste trabalho.

À Sandrinha, por toda ajuda, carinho e paciência. Sempre muito prestativa, atenciosa, com muita paciência e um sorriso no rosto mesmo com tantas obrigações. Você é muito querida!!

À Lia por todo auxílio, carinho, compreensão e paciência com as minhas bagunças!

Ao Chico, Eliana Cidinha, Carla, Susana, Bete, Celis e Val pelo carinho, constante ajuda e apoio durante a realização deste trabalho.

Agradeço aos meus amados pais José Martins da Rocha e Marisa Furtado de Oliveira Rocha, que sempre apoiaram e me estimularam na realização dessa tese! Sou eternamente grata a vocês!

Ao meu irmão Xande, a Laila (Psiti) e a Si, minha cunhadinha mais que querida.

Aos meus tios e primos queridos, que fazem parte da minha família e da minha vida! Agradeço por terem torcido por mim o tempo todo!! Amo muito vocês!

Ao meu bem Claudinei e a toda família Ferreira, em especial à Dona Ana Rosa, que me acolheram com muito carinho. Amo muito vocês. Obrigada por tudo!

Aos meus amigos queridos Paula Poeta, Gabriel, Gláucia (Carcinha), Liane, Silmara e Paulo Caleb: pessoas muito especiais que participaram da minha tese e da minha vida, que sempre me deram muita força! Obrigada por tudo!!

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi determinar a intensidade ideal de sacarose no suco de maracujá, equivalência de doçura, perfil sensorial e aceitação por parte dos consumidores de amostras de suco de maracujá contendo sacarose e 5 diferentes edulcorantes. Além disso, o estudo avaliou a função gustativa de pacientes diabéticos tipo 1 e tipo 2 comparativamente com grupo controle sem diabetes utilizando-se suco de maracujá. Foram estudados 3 grupos: 44 pacientes com DM2, 34 com DM1 e 73 indivíduos sem diabetes. Os *thresholds* de detecção e reconhecimento foram determinados pelo método *three-alternative-forced-choice*, com concentrações presentes em ordem crescente (3AFC), utilizando cinco gostos básicos em suco de maracujá. Inicialmente, a intensidade ideal de sacarose no suco de maracujá foi determinada pela escala do ideal (*Just-About-Right* (JAR) scale), seguida pela determinação da equivalência de doçura de cinco diferentes edulcorantes (aspartame, sucralose, estévia, ciclamato/sacarina e neotame) em relação a concentração ideal de sacarose. O perfil sensorial das amostras foi determinado, utilizando-se a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), e as amostras encontravam-se na mesma intensidade de gosto doce. A avaliação da aceitação em relação à aparência, aroma, sabor, textura e impressão global das seis amostras de suco maracujá foi realizada utilizando-se teste de aceitação com escala hedônica de 9-centímetros. Os dados foram analisados por meio da Análise de Componentes Principais (ACP). Os resultados de aceitação foram analisados por ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$). As informações descritivas obtidas foram relacionadas com a aceitação do consumidor usando o partial least squares (PLS), além do Mapa Externo de Preferência e Interno de Preferência. As amostras com sacarose, aspartame e sucralose demonstraram perfil sensorial similares entre si, sem gosto amargo, residual amargo e sabor metálico, e as amostras com sacarose e sucralose não diferiram entre si em nenhum atributo. O sabor de maracujá afetou positivamente e o gosto residual doce afetou negativamente a aceitação dos consumidores. As amostras adoçadas com aspartame, sucralose e sacarose apresentaram as maiores médias de aceitação para os atributos sabor, textura e impressão global, não diferindo ($p < 0,05$) entre si. Aspartame e sucralose podem ser considerados os melhores substitutos para a sacarose em suco de maracujá. Os resultados de *threshold* demonstraram que nem a duração da doença nem a hemoglobina glicada (HbA1c) (para os gostos amargo, ácido, doce e umami) apresentaram correlação com a percepção dos gostos básicos nos grupos avaliados; além disso, houve diminuição na função gustativa dos diabéticos tipo 2, em relação ao *threshold* de detecção dos gostos ácido e umami e de reconhecimento dos gostos amargo, ácido, doce e umami e em indivíduos com DM1 houve prejuízo na detecção e reconhecimentos dos gostos doce e umami. O conhecimento dessa redução da sensibilidade da percepção dos gostos básicos pelos diabéticos e familiares é de extrema importância, pois além de melhorar a qualidade de vida dos pacientes, pode atuar diretamente na seleção e consumo dos alimentos. O desconhecimento dessa condição pode resultar em aumento na ingestão de alimentos específicos e consequentemente ser um fator que prejudica o controle glicêmico e resulta em outras complicações crônicas.

Palavras-chave: suco de maracujá, perfil sensorial, aceitação, *threshold* de reconhecimento, *threshold* de detecção, diabetes mellitus, função gustativa, gostos básicos.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the ideal equivalence of sucrose in passion fruit juice, equi-sweetness, sensory profile and acceptance by consumers of passion fruit juice samples containing sucrose and 5 different sweeteners. Moreover, This gustatory function using passion fruit juice in patients with type 1 and type 2 diabetes compared to a control group without diabetes was evaluated. We studied three groups: 44 patients with type 2 diabetes, 34 with type 1 diabetes and 73 people without diabetes. The detection and recognition *thresholds* were determined by a three-alternative, forced choice method, with concentrations present in ascending order (3AFC) , using five basic tastes in passion fruit juice. Initially, the ideal equivalence of sucrose in the passion fruit juice was determined by the *Just About Right* (JAR) scale, followed by the equi-sweetness of the six different sweeteners (aspartame, sucralose, stevia, cyclamate/saccharin blend 2:1 and neotame). Sensory profiling was performed using quantitative descriptive analysis (QDA), and Acceptance tests (appearance, aroma, flavor, texture and overall impression) were performed using a 9-cm linear hedonic scale (not structured). The sensory data were analyzed by Principal Component Analysis (PCA). The acceptance results were analyzed by ANOVA, and Tukey's test. Descriptive information obtained from the taste panel was related to the consumer preference data using partial least squares (PLS) regression and Internal Preference Mapping multivariate statistical analysis, were applied using SAS software. Samples with sucrose, aspartame and sucralose showed similar sensory profile ($p < 0.05$), without bitter taste, bitter aftertaste, and metallic taste, and samples with sucrose and sucralose did not differ from each other for the attribute sweet aftertaste. Passion fruit flavor affected positively and sweet aftertaste affected negatively the acceptance of the samples. Samples sweetened with aspartame, sucralose, and sucrose presented higher acceptance scores for the attributes flavor, texture, and overall impression, with no significant ($p < 0.05$) differences between them. Aspartame and sucralose can be good substitutes for sucrose in passion fruit juice. The results of *threshold* showed that neither time of diabetes nor glycated hemoglobin (HbA1c) correlated with the perception of basic tastes (for bitter, sour, sweet and umami tastes). Furthermore, in type 2 diabetics, detection *threshold* of acid, umami and bitter tastes as well as recognition of sour, sweet and umami tastes were worse. Individuals with DM1 had worse detection and recognition of sweet and umami tastes. Knowledge of this reduced sensitivity to the perception of basic tastes by diabetics and family is of utmost importance, as is improving the quality of life of patients. These differences may influence on the selection and consumption of food by patients and may result in increased intake of specific foods, and consequently further difficult the achievement of glycemic control as well as trigger chronic complications

Key-words: passion fruit juice, sensory profile, acceptance, detection *threshold*, recognition *threshold*, diabetes mellitus, gustatory function, basic tastes

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Célula do gosto e mecanismo de transmissão dos gostos básicos	17
Artigo 1: Different sweeteners in passion fruit juice: Ideal and equivalent sweetness	
Figura 1: Sucrose ideal concentration to be added to the passion fruit juice, obtained with the use of a just-about-right scale	51
Figura 2: Relationship between the sweetness intensities and the sweeteners concentrations corresponding to the 9.4% sucrose concentration	52
Figura 3: Bi-dimensional figure from the analysis of the Internal Preference Mapping for the six different sweeteners in passion fruit juice samples	58
Artigo 2: Passion fruit juice with different sweeteners: sensory profile by descriptive analysis and acceptance	
Figura 1: PCA generated with the sensory data for appearance, aroma, flavor and texture	80
Figura 2: External preference map (X and Y are horizontal and vertical axes, respectively) obtained by partial least squares regression of descriptive data and respondent's overall liking scores for the sensory attributes of passion fruit juice (square= samples; circle= consumers; triangle = attributes of quantitative descriptive analysis).....	85
Figura. 3. Partial least squares standardized coefficients of passion fruit juice (darker= descriptor terms without significant contribution to consumer acceptance)	86
Artigo 3: Sensibilidade gustativa em pacientes diabéticos tipo 1 e 2 para os cinco gostos básicos em suco de maracujá	
Figura 1: Média dos valores de <i>threshold</i> (g/L) para (a) detecção e (b) reconhecimento do gosto salgado, (c) detecção e (d) reconhecimento do gosto amargo	112

LISTA DE TABELAS

Artigo 1: Different sweeteners in passion fruit juice: Ideal and equivalent sweetness

Tabela 1: Concentrations of sucrose, aspartame, cyclamate/saccharin blend 2:1, stevia, sucralose and neotame used for the equi-sweet determination..... 48

Tabela 2 Slopes, y-intercepts, linear correlation coefficients and power functions of each of the magnitude estimation test to determinate the equi-sweet of the sweeteners, and concentration equivalent in relation to 9.4g/100g of the sucrose 53

Tabela 3: Sweetener potency for this study, and other studies for sucrose and others sweetener 54

Tabela 4: Mean from overall liking - acceptance test (n=124) 58

Artigo 2: Passion fruit juice with different sweeteners: sensory profile by descriptive analysis and acceptance

Tabela 1: Equi-sweet concentration of the sweeteners used this study 71

Tabela 2: Attributes and reference standards generated by the sensory panel ... 73

Tabela 3: Physicochemical characteristics of passion fruit juice sample 77

Tabela 4: Attributes of the descriptive sensory evaluation by the trained panel for each passion fruit juice sample (n=12 judges) 79

Tabela 5: Mean scores obtained by consumers (n = 124) in the acceptance test of passion fruit juice samples 83

Artigo 3: Sensibilidade gustativa em pacientes diabéticos tipo 1 e 2 para os cinco gostos básicos em suco de maracujá

Tabela1: Séries de diluições para cada gosto básico 104

Tabela 2. Características clínico-laboratoriais e sócio-demográficas dos grupos DM1, DM2 e controle 109

Tabela 3: Comorbidades e Complicações Crônicas associadas ao DM 110

Tabela 4: Comparativo entre os dados de threshold para os cinco gostos básicos entre DM1, DM2 e grupo controle sem ajuste e ajustado por idade, sexo e uso de medicamentos..... 111

Tabela 5a: P-valor referentes à análise de regressão univariada entre a percepção do gosto salgado e as variáveis IMC, HbA1c, duração da doença, glicemia capilar ao momento do teste, atividade física, complicações do DM e insulino terapia para os 3 grupos estudados: DM1, DM2 e controle 115

Tabela 5b: P-valor referentes à análise de regressão univariada entre a percepção do gosto amargo e as variáveis IMC, HbA1c, duração do DM, glicemia capilar ao momento do teste, atividade física, complicações do DM e insulino terapia para os 3 grupos estudados: DM1, DM2 e controle 115

Tabela 5c: P-valor referentes à análise de regressão univariada entre a percepção do gosto ácido e as variáveis IMC, HbA1c, duração do DM, glicemia capilar ao momento do teste, atividade física, complicações do DM e insulino terapia para os 3 grupos estudados: DM1, DM2 e controle 116

Tabela 5d: P-valor referentes à análise de regressão univariada entre a percepção do gosto doce e as variáveis IMC, HbA1c, duração do DM, glicemia capilar ao momento do teste, atividade física, complicações do DM e insulino terapia para os 3 grupos estudados: DM1, DM2 e controle 116

Tabela 5e: P-valor referentes à análise de regressão univariada entre a percepção do gosto umami e as variáveis IMC, HbA1c, duração do DM, glicemia capilar ao momento do teste, atividade física, complicações do DM e insulino terapia para os 3 grupos estudados: DM1, DM2 e controle 117

SUMÁRIO

1. Introdução Geral.....	14
2. Revisão Bibliográfica.....	15
2.1 Percepção dos gostos básicos.....	15
2.2 Disfunção gustativa.....	19
2.3 Diabetes mellitus.....	21
2.4 Complicações do Diabetes Mellitus.....	24
2.5 Método <i>Threshold</i>	29
2.6 Maracujá.....	31
2.7 Edulcorantes	35
Artigo 1: Different sweeteners in passion fruit juice: Ideal and equivalent sweetness.....	40
1. Introduction.....	42
2. Materials and Methods.....	44
2.1. Materials.....	44
2.2. Methods.....	45
2.2.1. Samples preparation.....	45
2.2.2. Ideal sweetness determination.....	45
2.2.3. Selection of judges.....	46
2.2.4. Equi-sweetness determination.....	47
2.2.5. Consumer Test.....	49
3. Results and Discussion.....	50
3.1. Ideal sweetness determination.....	50
3.2. Equi-sweetness determination.....	51
3.3 Acceptance test and Internal preference Map (MDPREF).....	57
4. Conclusion.....	60
References.....	61
Artigo 2: Passion fruit juice with different sweeteners: sensory profile by descriptive analysis and acceptance.....	65
1. Introduction.....	67
2. Materials and Methods.....	68
2.1. Physicochemical analyses.....	69
2.2. Descriptive analysis.....	69
2.2.1. Equi-sweetness determination.....	70
2.2.2. Training and selection of panelist.....	71
2.2.3. Sensory profile.....	75
2.3 Acceptance test.....	76
3. Result and discussion.....	77
3.1. Physicochemical analyses.....	77
3.2. Equi-sweetness determination.....	78
3.3 Sensory profile.....	78
3.4. Acceptance test.....	83
4. Conclusion.....	89
Reference.....	89
Artigo 3: Sensibilidade gustativa em pacientes diabéticos tipo 1 e 2 para os cinco gostos básicos em suco de maracujá.....	93
1. Introdução.....	96
2. Metodologia.....	98
2.1 Sujeitos.....	98

2.1.1 Critérios de Inclusão.....	99
2.1.2 Critérios de Exclusão.....	99
2.2. Cálculo Amostral.....	100
2.3. Características clínicas e laboratoriais dos pacientes diabéticos.....	100
2.4. Glicemia capilar ao momento dos testes gustativos.....	102
2.5. Covariáveis.....	102
2.6 Estímulo.....	103
2.7 <i>Threshold</i>	104
2.8 Avaliação dos dados e Análise Estatística.....	106
3. Resultados.....	107
3.1 Características clínico-laboratoriais e sócio-demográficas.....	107
3.2 Comparativos entre os dados de <i>threshold</i> para os cinco gostos básicos entre DM1, DM2 e grupo controle.....	110
3.3 Análise multivariada entre a percepção dos gostos básicos e IMC, HbA1c, duração do DM, glicemia capilar ao momento do teste, atividade física, complicações do diabetes e insulino-terapia para os grupos DM1, DM2 e controle.....	114
4. Discussão.....	119
5. Limitações do Estudo.....	128
6. Referências.....	129
3. Discussão Geral	133
3.1 Escala do Ideal.....	133
3.2. Determinação da Equivalência de Doçura.....	133
3.3 Perfil sensorial.....	137
3.4 Teste de aceitação.....	140
3.5 Análises Físico-Químicas.....	145
3.6 Análises da função gustativa em indivíduos com Diabetes Mellitus tipo 1 e 2.....	146
4. Conclusão Geral	157
5. Referências Bibliográficas	158
ANEXO	167

1. Introdução Geral

O diabetes mellitus, de acordo com a International Diabetes Federation (IDF), é uma doença crônica que ocorre quando o organismo não consegue produzir quantidade suficiente do hormônio insulina ou não consegue utilizar a insulina de forma eficaz. Como consequência disso, desenvolve-se um quadro de hiperglicemia, caracterizado por uma elevada concentração de glicose na circulação sanguínea, que pode resultar em danos aos tecidos do corpo ao longo do tempo (IDF, 2013).

Segundo a IDF, foram registrados 382 milhões de casos de diabetes no mundo em 2013, sendo que maioria encontra-se na faixa etária de 40 a 59 anos, sendo 80% proveniente de países em desenvolvimento (IDF, 2013).

A presença de níveis elevados de glicose sanguínea (hiperglicemia) pode resultar em diversas complicações, incluindo as complicações orais. Em relação às complicações orais, estão incluídas as doenças periodontais, cáries dentárias, síndrome de queimação da língua, cicatrização demorada, várias desordens potencialmente malignas, redução do fluxo salivar, infecções fúngicas oportunistas, candidíase, gengivite, periodontites, disfunções salivares, xerostomia, dentre outras. Todas essas manifestações podem resultar em alterações da função gustativa (SHIP, 2003; SHIP, CHÁVEZ; 2001, ARAVINDHA BADU et al., 2014).

Devido a todas essas complicações orais causadas pelo diabetes, é de fundamental importância avaliar o quanto a capacidade gustativa pode estar alterada ou preservada em indivíduos diabéticos.

Poucos estudos têm sido realizados para determinar as alterações da função gustativa em indivíduos com Diabetes Mellitus (DM) tipo 1 e tipo 2 para

os cinco gostos básicos, sendo que os poucos resultados encontrados mostram-se contraditórios em alguns aspectos, sugerindo a necessidade de mais estudos (GONDIVKAR et al., 2009). Além disso, todos estes estudos avaliaram a percepção gustativa apenas em solução aquosa, e não em matrizes alimentares.

Pelo exposto, o objetivo do estudo foi 1) determinar a relação entre a presença de diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2 com a percepção dos gostos básicos (doce, salgado, ácido, amargo e umami) em suco de maracujá, 2) determinar o perfil sensorial e a aceitação de amostras de suco de maracujá com adição de diferentes edulcorantes

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Percepção dos gostos básicos

A percepção dos gostos básicos (doce, salgado, ácido, amargo e umami) ocorre quando o componente químico responsável pela percepção do mesmo interage fisicamente com os botões gustativos. Esses botões gustativos são estruturas em formato de cebola contendo entre 50 e 100 células receptoras do gosto (TRC), que são neurônios especializados responsáveis pela percepção dos gostos básicos. Cada botão tem uma abertura apical, denominado poro gustativo contendo projeções digitiformes chamadas microvilosidades por meio do qual os estímulos (substâncias químicas responsáveis pela percepção dos gostos básicos) entram a partir da superfície do epitélio oral (SMITH, MARGOSKEE, 2006; DOTY, 2012; KHAN, BESNARD; 2009).

Os botões gustativos localizam-se dentro de três das quatro papilas gustativas existentes: fungiforme, circunvaladas e foliadas. A única papila que não contém botões gustativos e que por isso, não são capazes de promover a percepção dos gostos são as papilas filiformes (WROBEL, LEOPOLD; 2004).

Entretanto, a localização dos botões gustativos não se restringe apenas as papilas gustativas, podem estar presentes também, de acordo com Wrobel e Leopold (2004); Guyton e Hall (2006) no palato, epiglote e o esôfago proximal. Dessa forma, os gostos básicos podem ser percebidos em qualquer região da língua onde houver a presença dos botões gustativos, não existindo o “mapa da língua”, ou seja, regiões específicas para percepção de cada gosto básico (SMITH, MARGOLSKEE; 2006).

A percepção de cada gosto básico ocorre de maneira distinta. Em relação ao gosto salgado, este ocorre quando o íon sódio (Na^+) entra através de canais iônicos da célula gustativa (Figura 1), (SMITH, MARGOLSKEE; 2001; KHAN, BESNARD; 2009). O acúmulo de Na^+ causa despolarização da célula, com consequente abertura dos canais de cálcio para a entrada de íons cálcio (Ca^{2+}) nas terminações nervosas. Quando esses íons Ca^{2+} entram na célula gustativa, estes se fixam em vesículas contendo neurotransmissores, ocasionando a liberação dos mesmos, que vão despolarizar o neurônio seguinte, possibilitando a propagação do impulso nervoso. Diante disso, a célula encontra-se despolarizada, e consequentemente impermeável ao Na^+ . Para que ocorra uma repolarização da célula, há a abertura dos canais de potássio, possibilitando a saída dos íons potássio (K^+) para o meio externo e tornando a célula novamente polarizada e apta a transmitir um novo impulso

nervoso (SMITH, MARGOLSKEE; 2006; GUYTON, HALL; 2006; KHAN, BESNARD; 2009).

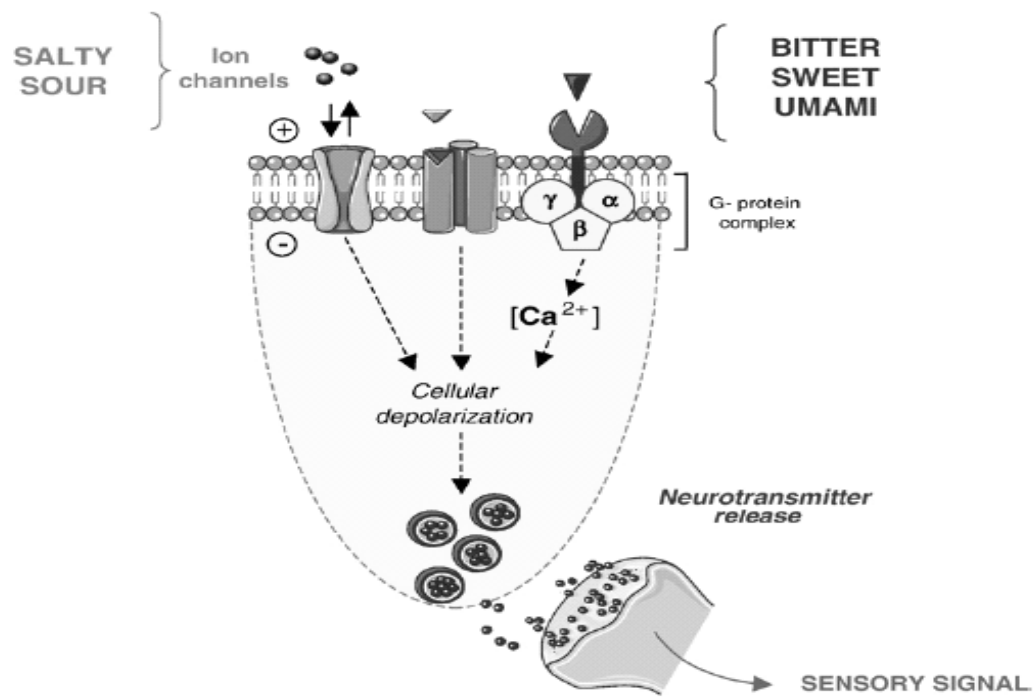


Figura 1: Célula do gosto e mecanismo de transmissão dos gostos básicos.

Fonte: Khan, Besnard, (2009).

De forma similar ao gosto salgado, a percepção do gosto ácido ocorre por canais iônicos. As substâncias químicas responsáveis pelo gosto ácido, quando em solução, liberam íons H^+ , que entram na célula por meio de canais iônicos, resultando na despolarização da mesma. Há o bloqueio dos canais do íon K^+ e abertura dos canais de cálcio para a entrada de íons cálcio (Ca^{2+}) para a liberação dos neurotransmissores (SMITH, MARGOLSKEE, 2006).

Em relação ao gosto amargo, a percepção ocorre por meio do contato de substâncias como quinino e cafeína, com receptores T_2R presentes na superfície da célula do gosto e acoplados a proteína G (localizada na região apical da célula do gosto). Essa proteína possui três subunidades: α , β e γ ,

sendo que a subunidade β é responsável por ativar a fosfodiesterase (PDE) (RUIZ-AVILA et al. 1995; CLAPP et al., 2008; DALY et al., 2012), enquanto que as outras subunidades aumentam os níveis de inositol trifosfato (IP_3) e de DAG (Diacilglicerol), que são responsáveis por reduzir os níveis de AMPc (Adenina Monofosfato) e bloquear os canais de K^+ (CUMMING, KINNMON, 1992; RÖSSEL et al., 2000; TOKUYAMA et al., 2006). Esses compostos funcionam como segundos mensageiros que promovem a abertura dos canais de cálcio (Ca^{2+}) provenientes do retículo endoplasmático, com consequente liberação desse íon dentro das células gustativas para a liberação dos neurotransmissores (SMITH, MARGOLSKEE, 2006; TOKUYAMA et al., 2006; KHAN, BESNARD, 2009).

Em relação ao gosto doce, o estímulo doce proveniente da sacarose e de adoçantes, não entra nas células gustativas, mas provocam mudanças dentro das mesmas. Eles ligam-se aos receptores T_1R_2 (Taste Receptor) e T_1R_3 presentes na superfície da célula de sabor que estão acoplados proteínas-G. Isso faz com que as subunidades da proteína G se dividam e ativem enzimas, que por sua vez, ativam os segundos mensageiros que causam o fechamento dos canais de potássio (SMITH, MARGOLSKEE, 2006; KHAN, BESNARD, 2009).

Por fim, o gosto umami, característico de aminoácidos como o glutamato se ligam a receptores T_1R_1 e T_1R_3 acoplados a proteína G para ativar os segundos mensageiros. Entretanto, os passos intermediários entre os segundos mensageiros e a liberação dos neurotransmissores ainda permanecem desconhecidos (SMITH, MARGOLSKEE, 2006; DALY et al., 2012).

Todos esses mecanismos descritos anteriormente desempenham um papel crítico no estado nutricional e na qualidade de vida, pois podem afetar a saúde do indivíduo, alterando o hábito, ingestão alimentar e apetite e é considerado um mecanismo de regulação para a aceitação ou rejeição de alimentos e servindo para proteção contra a ingestão de substâncias que possam ser nocivas (KHOBRADE et al.; 2012; GONDIVKAR et al., 2009).

2.2 Disfunção gustativa

Apesar de toda a importância relacionada à percepção sensorial, a gustação pode ser modificada, e esses tipos de alterações podem ser classificadas em hipogeusia (perda parcial ou diminuição do gosto), ageusia (perda total), disgeusia (distorção da percepção dos gostos), parageusia (distorção da percepção dos gostos com presença de estímulo) e phantgeusia (distorção da percepção dos gostos sem presença de estímulo) (WROBEL, LEOPOLD, 2004; BROMLEY, DOTY, 2003; DOTY et al., 2008, DOTY, 2012; FARK et al., 2013).

De acordo com Welge-Lüssen et al. (2011), os autores avaliaram a frequência de distúrbios gustativos em 761 indivíduos saudáveis (com idade de 5 a 89 anos) por meio da realização de 2 testes psicofísicos utilizando quatro gostos básicos (doce, salgado, ácido e amargo). Os autores concluíram que a hipogeusia esteve presente em 5% da população estudada. Além disso, a completa ageusia mostrou ser um fenômeno muito raro, não sendo observado pelos autores.

A alteração da função gustativa pode ser causada por inúmeros fatores tais como infecções virais, bacterianas, fúngicas e parasitárias da mucosa oral,

má higienização oral, processos neoplásicos, tabagismo, lesões na cavidade oral, deficiência de zinco (que pode ocorrer em algumas patologias tais como doenças renais, hepática crônica e aguda, DM, câncer e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA)), alergias, rinite/sinusite alérgicas, intervenções farmacológicas ou cirúrgicas, patologias, como a doença de Alzheimer, doença de Parkinson, o hipotireoidismo e diabetes mellitus (KHOBRADE et al., 2012; WROBEL, LEOPOLD, 2004; DALY et al., 2012; DOTY et al., 2008, KETTANEH et al., 2005).

Além disso, a ocorrência de perda ou alteração do paladar, podem estar relacionados a fatores como idade, origem étnica, drogas, consumo de álcool, tabagismo, infecções, má higiene oral,.

Outro fator de grande relevância que foi descrito por Wrobel e Leopold (2004) é a idade, que também pode afetar a percepção dos gostos básicos. Além disso, Sanders e Ayers (2002), relataram a influência da função gustativa em relação a limpeza dos dentes e da gengiva, que segundo esses autores, realçaram a percepção dos gostos doce e salgado, entretanto, isso não foi verificado para os gostos ácido e amargo. Isso pode ser causado pelo fato dos gostos ácidos e amargo, segundo esses autores, serem melhor percebidos no palato, em detrimento dos gostos doce e salgado que apresentam uma maior sensibilidade na língua.

Outra causa importante relacionada à percepção gustativa é a utilização de medicamentos, que muitas vezes está diretamente relacionada à idade. Algumas classes de medicamentos podem modificar a composição da mucosa olfatória, influenciando no tempo de difusão dos odores (SEIBERLING, CONLEY; 2004). Algumas drogas podem interferir na produção de saliva,

prejudicando dessa forma a transdução dos gostos básicos, como é o caso de antidepressivos e anticolinérgicos que reduzem a secreção salivar (SEIBERLING, CONLEY; 2004). Naik, Shetty e Maben (2010) descreveram que desordens gustativas podem ser causadas pela ingestão das seguintes classes de medicamentos: antiepiléticos, ansiolíticos, antineoplásicos, anti-hipertensivos (furosemida, captopril, enalapril, hidroclorotiazida, losartana, propranolol), agentes antivirais, anti neoplásicos, hipolipemiantes (atorvastatina, sinvastatina), enzimas pancreáticas, drogas para disfunção da tireóide (levotiroxina), dentre outras.

Segundo trabalho publicado por Bromley e Doty (2003), um importante mecanismo de alteração do gosto inclui problemas no transporte das substâncias gustativas para os botões gustativos, que pode ser causado por diminuição na secreção de saliva, danos dos poros gustativos em virtude de queimaduras e candidíase. Outras causas seriam a destruição ou perda dos botões gustativos provocados por traumas locais ou tumores invasivos e danos de um ou mais canais de inervação dos botões gustativos.

2.3 Diabetes mellitus

De acordo com a IDF (International Diabetes Federation), diabetes *mellitus* é uma doença crônica que ocorre quando o organismo não consegue produzir quantidade suficiente do hormônio insulina ou não consegue utilizar a insulina de forma eficaz. A insulina é um hormônio cuja função é permitir a utilização da glicose pelas células do organismo como fonte de energia (IDF, 2013). Quando a insulina não desempenha o seu papel, desenvolve-se um quadro de hiperglicemia, caracterizado pela permanência da glicose na

circulação sanguínea, que pode resultar em danos aos tecidos do corpo ao longo do tempo (IDF, 2013).

De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) 2014-2015, os tipos de diabetes *melitus* são:

(i) Tipo 1: causada por uma reação auto-imune, em que o sistema imunológico ataca as células beta pancreáticas, que são as responsáveis pela produção de insulina. Isso resulta na não produção ou produção insuficiente de insulina

(ii) Tipo 2: nesse tipo de diabetes o organismo mostra-se capaz de produzir insulina, mas essa produção pode não ser suficiente ou as células não serem capazes de utilizar a glicose como fonte de energia, quadro esse denominado de resistência periférica à insulina. Esse é o tipo de diabetes mais comum.

(iii) Gestacional: mulheres que desenvolvem uma resistência à insulina e hiperglicemia durante a gravidez. Esse tipo de diabetes ocorre normalmente em torno da 24ª semana gestacional. As mulheres que desenvolveram diabetes durante a gestação tem um risco aumentado de desenvolver diabetes tipo 2.

(iv) Outros tipos específicos de DM: pertencem a essa classificação outras formas menos comuns de DM. Pertencem a essa categoria defeitos genéticos na função das células beta, defeitos genéticos na ação da insulina, doenças do pâncreas exócrino, defeitos genéticos na função das células beta ((Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY) MODY 1 - defeitos no gene HNF4A, MODY 2 - defeitos no gene GCK, MODY 3 - defeitos no gene HNF1A, MODY 4 - defeitos no gene IPF1, MODY 5 - defeitos no gene HNF1B, MODY 6

- defeitos no gene NEUROD1, Diabetes Neonatal Transitório, Diabetes Neonatal Permanente, e DM mitocondrial), Defeitos genéticos na ação da insulina (Resistencia a insulina do tipo A, Leprechaunismo, Síndrome de Rabson-Mendenhall, DM lipoatrófico), Doenças do pâncreas exócrino (pancreatite, pancreatectomia ou trauma, neoplasia, fibrose cística, pancreatopatia fibrocalculosa), Endocrinopatias (Acromegalia, Síndrome de Cushing, Endocrinopatias, Glucagonoma, Feocromocitoma, Somatostinoma, Aldosteronoma), induzido por medicamentos ou agentes químicos (toxinas, Pentamidina, ácido nicotínico, glicocorticoides, hormônio tireoidiano, diazóxido, agonistas beta-adrenérgicos, tiazídicos, interferon), Infecções (rubéola congênita, Citomegalovírus, outros), Formas incomuns de DM autoimune (Síndrome de Stiff-Man, anticorpos antirreceptores de insulina, outros), Outras síndromes genéticas por vezes associadas a DM (Síndrome de Down, Síndrome de Klinefelter, Síndrome de Turner, Síndrome de Wolfram, Ataxia de Friedreich, Coreia de Huntington, Síndrome de Laurence-Moon-Biedl, Distrofia miotônica, Síndrome de Prader-Willi, outros)

(v) Classes intermediárias no grau de tolerância a glicose: referem-se a estados intermediários entre os níveis normais da glicose e o DM propriamente dito. Essa condição é designada como "pré-diabetes" e caracteriza-se por glicemia de jejum alterada (refere-se as concentrações de glicemia de jejum inferiores ao critério diagnóstico para DM, porém mais elevadas que o valor de referência normal) e tolerância a glicose diminuída (anormalidade na regulação da glicose no estado pós-sobrecarga, diagnosticada por meio de teste oral de tolerância à glicose (TOTG), o qual inclui a determinação da glicemia de jejum e de 2 horas após a sobrecarga com 75g de glicose). A glicemia de jejum

alterada e tolerância à glicose diminuída são categorias de risco aumentado para o desenvolvimento do DM.

Todos os tipos de diabetes demonstraram ascensão, particularmente o diabetes tipo 2, cuja estimativa mundial é de 592 milhões até 2035 (aumento em 55%), além de mais 21 milhões de casos de glicemia elevada no período gestacional. Em relação à população da América do Sul e da América Central, é esperada uma elevação de 60% até 2035, passando de 24,1 para 38,5 milhões de casos. No Brasil foram registrados 11,9 milhões de casos em 2035 com projeção para 19,2 milhões até 2035 (IDF, 2013).

2.4 Complicações do Diabetes *Mellitus*

A presença de níveis elevados de glicose sanguínea (hiperglicemia) pode resultar em diversas complicações. Quando a glicose sanguínea é mal controlada por períodos muito longos podem ocorrer alterações estruturais nos vasos sanguíneos. Esse quadro resulta em um risco aumentado de retinopatias, cegueira, doenças cardíacas, problemas na saúde oral, nefropatias, neuropatias periféricas, doença vascular periférica, e pé diabético (GUYTON, HALL; 2006; IDF, 2013).

Segundo Al-Maskari, Al-Maskari e Al-Sudairy, (2011), as manifestações orais têm sido recentemente reconhecidas e relatadas como importantes complicações do diabetes *mellitus*. Há cada vez mais evidências de que essas complicações orais crônicas podem prejudicar o controle glicêmico e metabólico. Por essa razão, a prevenção, bem como o tratamento das complicações orais, especialmente das doenças periodontais, é de extrema importância.

Em relação às complicações orais, numerosos casos estão associados ao diabetes *mellitus*, incluindo doenças periodontais, cáries dentárias, síndrome de queimação da língua, cicatrização demorada, várias desordens potencialmente malignas, redução do fluxo salivar, infecções fúngicas oportunistas, candidíase, gengivite, periodontites, disfunções salivares, xerostomia, dentre outras. Todas essas manifestações podem resultar em alterações da função gustativa. (SHIP, 2003; SHIP, CHÁVEZ; 2001, ARAVINDHA BADU et al., 2014).

A deficiência na função salivar, de acordo com Ship e Chávez (2001), pode resultar em alteração na percepção gustativa ou elevação do *threshold* de detecção. Quando a secreção de saliva apresenta-se extremamente reduzida, instala-se um quadro de xerostomia, que se caracteriza por uma sensação subjetiva de boca seca, que muitas vezes, está relacionada à redução do fluxo salivar e é referida entre 10 a 30% dos indivíduos diabéticos (COIMBRA, 2009; NEGRATO, TARZIA, 2010).

A relação entre a saliva e os gostos está no fato de que o transporte e a solubilização dos estímulos gustativos são dependentes do fluxo salivar, pois a saliva promove o transporte das substâncias responsáveis pela percepção dos gostos além de dar proteção aos receptores gustativos e estimular os receptores, resultando em alteração na sensibilidade aos mesmos (HERSHKOVICH, NAGLER; 2004; SHIP, 1999).

De acordo com Ship e Chávez (2001), as halitoses, caracterizadas por mau odor oral ou mau hálito, podem ser originadas por componentes voláteis sulfurados. A halitose ocorre principalmente nos casos de diabetes não controlados, devido à ocorrência de cetoacidose. Além disso, outro fator

predisponente à halitose é a desidratação e a função salivar reduzida (SHIP, CHÁVEZ; 2001).

Outro sintoma encontrado em pessoas portadores de diabetes e que pode resultar em alteração da função gustativa é a Síndrome de Queimação da Língua (SQL) (MORRE et al., 2007; COLLIN et al, 2000). A SQL, de acordo com Hershkovich e Nagler (2004), é caracterizada por uma sensação de queimação dolorosa da cavidade oral, sem, contudo apresentar qualquer anormalidade na mucosa oral (HERSHKOVICH, NAGLER, 2004). A SQL tem sido freqüentemente acompanhada a ocorrência de disgeusia, que corresponde à redução da percepção dos gostos (MORRE et al., 2007)

Em estudo realizado por Bastos et al., (2011), foi avaliada a prevalência de alterações da mucosa oral entre 146 indivíduos com DM2 e 111 indivíduos sem diabetes. Os autores concluíram que os voluntários com DM2 demonstraram aumento da prevalência de alterações da mucosa oral em relação aos não diabéticos. Associado a isso, essas alterações da mucosa oral em DM2 apresentaram um percentual significativo de doenças potencialmente malignas, como pré-câncer, lesões precursoras pré-malignas ou epiteliais, queilite actínica, líquen plano, leucoplasia e estomatite nicotínica e infecções de origem fúngicas (candidose, queilite angular e glossite atrófica). Dessa forma, os resultados dessa pesquisa elucidaram a importância do diagnóstico precoce e manejo imediato de lesões da mucosa oral em diabéticos, visto que as mesmas são precursoras de patologias malignas (BASTOS et al., 2011).

Outro fator altamente relevante, segundo Busato et al (2010), é a associação entre o controle glicêmico, por meio dos valores da hemoglobina glicada (HbA1C) e a presença de complicações orais. O termo hemoglobina

glicada refere-se à hemoglobina que está conjugada com a glicose, processo diretamente relacionado ao conteúdo de glicose sanguínea. A medição da HbA1c é fundamental para o cuidado do diabetes por permitir a avaliação do controle glicêmico a longo prazo, pois reflete o histórico da glicemia ao longo dos 120 dias prévios. Esta é uma medida pela qual os profissionais de saúde podem relacionar o controle da glicose sanguínea com o risco de complicações, como lesões oculares ou insuficiência renal (IDF, 2013; SBD, 2014).

Busato et al (2010) avaliaram 51 sujeitos com diagnóstico de DM1 e 51 sem a doença, pertencentes a faixa etária de 14 a 19 anos. Os pacientes com bom controle metabólico foram considerados aqueles com valores de HbA1C $\leq$ 8,0% (DM1-grupo A), enquanto que os pacientes mal controlados foram consideradas aquelas com valores de HbA1C $\geq$ 8,0% (grupo B-DM1). Os autores verificaram que a prevalência de manifestações da mucosa oral foi baixa tanto no grupo DM1, (21,6%), quanto no grupo controle sem diabetes (3,9%), mas com diferença estatística entre eles ($p= 0,007$). Entretanto, essas manifestações orais foram mais prevalentes em DM1 mal controlados do que em DM1 com bom controle metabólico (BUSATO et al., 2010).

Gondivkar, et al (2009) avaliaram a função gustativa dos gostos salgado, ácido, amargo e doce de 40 indivíduos com DM2 controlado, 40 com diabetes tipo 2 não controlado e 40 indivíduos saudáveis, e verificaram que os indivíduos diabéticos demonstraram hipossensibilidade significativa ao gosto doce, seguido do ácido e salgado, entretanto, não houve mudanças significativas na percepção do gosto amargo. Dessa forma, os autores

encontraram disfunção gustativa nos indivíduos diabéticos controlados e não controlados em relação ao controle de indivíduos saudáveis.

Resultados controversos foram encontrados por Naka et al. (2010), que estudaram a função gustativa e também olfativa, entre diabéticos com bom e mau controle metabólico e avaliaram a função gustativa/olfativa de 4 grupos distintos: G1 (indivíduos com DM2 sem complicações), G2 (DM2 com microangiopatias (nefro, retino e neuropatias) e/ou macroangiopatias (doença arterial periférica, doença coronária e apoplexia)), G3 (DM2 associado a patologias ou condições adicionais que possivelmente afetam a percepção do gosto e olfato, tais como hipo/hipertireoidismo, ingestão crônica de antidepressivos, antiepiléticos ou antirreumáticos, doenças hepáticas, renais ou do sistema nervoso central) e G4 (indivíduos saudáveis). De acordo com esse estudo, a perda de função olfativa e gustativa não está correlacionada com a duração da doença, e os pacientes do grupo G1 mostraram perda significativa da capacidade de percepção olfativa e gustativa e os pacientes do grupo G2 exibiram função químico-sensorial inalterada. Assim, concluiu-se que não há relação entre problemas com a função sensorial e a presença do DM2.

Diante de todas essas complicações orais causadas pelo diabetes, mostra-se de fundamental importância avaliar se a capacidade gustativa está alterada ou preservada em indivíduos diabéticos.

2.5 Método *Threshold*

Threshold é um método utilizado para caracterizar e comparar a potência de vários gostos, aromas e sabores e comparar a sensibilidade individual ou de um grupo específico a esses estímulos (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM, 2011). O *threshold* é usualmente conceituado como o ponto em que a probabilidade de detecção é 50%, mas, na prática, esse valor é determinado estatisticamente de um conjunto de dados proveniente de vários indivíduos, ou de um grupo de indivíduos que tenham sido repetidamente testados (ASTM, 2011; MEILGAARD et al., 1999).

Esse método sensorial é utilizado para determinar a capacidade de substâncias em baixas concentrações de conferir aroma, sabor, sensações táteis e outros estímulos. Outra utilização é na determinação de limites para a poluição do ar, na redução do ruído, em tratamento de água e em matrizes alimentares. Por fim, o *threshold* pode ser utilizado para caracterizar e comparar a sensibilidade de um indivíduo ou de grupos específicos para determinados estímulos (ASTM, 2011).

Os valores de *threshold* são de reconhecimento e detecção. *Threshold* de detecção é a menor concentração que cada estímulo pode ser detectado. O provador pode apenas detectar a presença do estímulo, mas não pode identifica-lo. O *threshold* de reconhecimento é a menor concentração que o estímulo pode ser reconhecido. Nesse *threshold* o provador pode perceber qual a qualidade da substância avaliada (ASTM, 2011; MEILGAARD et al., 1999).

O método preconizado pela ASTM (2011) é o *three-alternative-forced-choice*, (3AFC), com apresentação da concentração do estímulo avaliado em ordem crescente. Para cada provador, tríades são apresentadas em cada sessão com intervalo mínimo de 15 minutos entre cada apresentação. Cada

tríade deve ser formada com duas amostras brancas (sem o estímulo avaliado) e uma amostra-teste (com o estímulo avaliado). Dentro de cada conjunto, os julgadores são solicitados a indicar qual a amostra diferente (*threshold* de detecção) ou qual apresenta um estímulo reconhecível (*threshold* de reconhecimento). Se o julgador não for capaz de identificar o estímulo, outra tríade de amostras com concentração superior deverá ser apresentada. As concentrações do estímulo avaliado deverão ser apresentadas de forma crescente, obedecendo a uma progressão geométrica.

Os testes são concluídos quando o provador completa a avaliação de todas as concentrações da escala, ou chega a uma tríade em que o estímulo é identificado corretamente, em seguida, continua a escolher corretamente a amostra que possui uma concentração mais elevada desse estímulo (ASTM, 2011).

Os valores do threshold são determinados pelo Best Estimative Threshold (BET) que corresponde a um valor de concentração interpolada, mas não necessariamente o valor de concentração que foi realmente identificada pelo julgador. Esse valor é a média geométrica da última concentração identificada e a concentração seguinte (adjacente) inferior e o valor final de threshold (referente ao grupo avaliado) que corresponde à média geométrica entre os valores de todos os indivíduos pertencentes ao grupo (LAWLESS, 2010; ASTM, 2011; SENTHIL, BHAT, 2011).

Para os indivíduos em que a concentração mais baixa for corretamente identificada, a BET é estimada como a média geométrica da concentração mais baixa e a hipotética próxima concentração inferior. E para os indivíduos que não conseguem identificar/reconhecer o estímulo avaliado, utiliza-se a

hipotética próxima concentração mais elevada, logo, a BET é estimada como a média geométrica da concentração mais elevada testada no estudo e a próxima concentração, caso a série de concentrações fosse estendida. E o cálculo da BET de um grupo é determinado como a média geométrica de cada BET individual (ASTM, 2011; SENTHIL, BHAT, 2011).

2.6 Maracujá

O maracujazeiro é uma árvore frutífera da família Passifloraceae e do gênero *Passiflora*, muito cultivada e explorada de norte a sul do território brasileiro. As variedades comerciais importantes são: o maracujá roxo (*Passiflora edulis*), o maracujá doce (*Passiflora alata*) que é mais doce e consumido como fruta, e o maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*), que é mais ácido e é usado principalmente para a elaboração de suco (DELIZA et al., 2005).

O maracujá-amarelo ou maracujá azedo é nativo da América do Sul e é amplamente cultivado em países tropicais e subtropicais. No Brasil, a produção de suco de maracujá concentrado aumentou de aproximadamente 4,4 mil toneladas em 2005 para cerca de 11.200 toneladas em 2010 (IBGE, 2013). No Brasil, a Bahia é o maior estado produtor de maracujá, sendo responsável por mais da metade de toda a produção nacional, com destaque para o município de Juazeiro (IBGE, 2012).

É uma das frutas tropicais mais populares e conhecidas com um aroma floral de éster com uma exótica nota sulfurosa e aroma e acidez acentuados. (DELIZA et al., 2005; COELHO et al., 2010). O maracujá-amarelo desperta grande interesse comercial, em razão de sua rápida produção em relação a

outras plantas frutíferas e a sua grande aceitação pelo mercado consumidor. Ele pode ser utilizado para consumo *in natura* ou para a industrialização, notadamente na forma de sucos/néctares. A importância econômica do fruto é representada pelo suco integral a 14° Brix e pelo néctar e suco concentrado a 50° Brix (COELHO et al., 2010). O suco é muito consumido, em razão do valor nutritivo, sabor e aroma exótico e característico, aroma e acidez acentuados, sendo também utilizado em diversos produtos como sorvete, mousses e bebidas alcoólicas, fazendo com que ocupe o segundo lugar em vendas no mercado nacional (MACHADO et al., 2003, COELHO et al., 2010).

Durante a elaboração do suco de maracujá, a polpa do maracujá-amarelo pode ser submetida a diferentes tratamentos térmicos, dentre eles a pasteurização (processamento térmico presente no suco de maracujá utilizado na presente pesquisa), com o objetivo de garantir a estabilidade da mesma durante a estocagem. Esse processamento térmico pode modificar as características sensoriais da fruta *in natura*, pois o aroma e sabor do maracujá são extremamente sensíveis ao tratamento em altas temperaturas, podendo ser considerada a operação que causa as maiores alterações sensoriais, as quais são intensificadas durante o armazenamento (DELLA MODESTA et al., 2005, FERNANDES et al., 2011; SANDI et al., 2003).

Diante disso, mostra-se pertinente avaliar as possíveis modificações sensoriais, físico-químicas e da sua qualidade após o tratamento térmico em suco de maracujá (DELLA MODESTA et al., 2005, FERNANDES et al., 2011).

De acordo com Della Modesta et al., (2005), o suco de maracujá submetido ao processo de pasteurização (98°C por 30 segundos) apresentou perda do sabor de maracujá e intensificou alguns atributos sensoriais

indesejáveis ao produto, notadamente o sabor cozido, adstringência, gosto ácido e aroma artificial. Além disso, o processamento térmico escureceu significativamente o suco com aumento da intensidade da cor amarela, mas sem alteração significativa da turbidez.

Saron et al., (2007) realizaram a determinação do perfil sensorial e aceitação de suco de maracujá acondicionado em diferentes embalagens (latas de três peças foram produzidas com corpo em folha-de-flandres (2,0 g Sn.m⁻²), fundo em folha cromada e tampa em alumínio, em três versões de envernizamento interno), ao longo do tempo de estocagem (0, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 e 360 dias) em duas condições de temperatura de estocagem de 25°C e 35°C. O suco de maracujá foi pasteurizado em um trocador de calor de placas, marca ISUME Food Manufacture, por 30 segundos a 91°C $\pm$ 1°C, seguindo-se de acondicionamento em latas de folhas-de-flandres à temperatura de 89°C $\pm$ 1°C, fechamento das latas e resfriamento por 12 minutos.

Segundo os autores foi observada presença de sabores estranhos no suco, tais como sabores de “suco cozido” ou “fruta passada”. Essa percepção ocorreu para os produtos de todos os tipos de latas e condições de estocagem, sendo provavelmente atribuídos aos sucos devido à perda do frescor (SARON et al., 2007).

O maracujá possui importante atividade antioxidante, como demonstrado por Janzantti et al., (2012). Esses autores pesquisaram atividade antioxidante total, compostos fenólicos totais e as características físico-químicas da polpa de maracujá orgânico e convencional. A polpa da fruta mostrou alto nível de compostos fenólicos com atividade antioxidante (JANZANTTI et al., 2012).

López-Vargas et al., (2013), avaliaram o conteúdo de fenólicos totais (TPC) e de flavonóides total (TFC) contidos na sementes + polpa por meio da extração com diferentes solventes (metanol, água e dimetilsulfóxido). De acordo com esses autores o TPC presente na semente + polpa, expressa em equivalentes de ácido gálico, variou de 0,98 a 4,31mg/g de amostra. Com relação aos TFC os valores obtidos foram de 2,07 a 13,63mg/g de equivalentes de rutina. Diferença estatística entre os solventes utilizados foi observado, sendo que o dimetilsulfóxido apresentou melhor rendimento tanto na extração dos TPC quanto dos TFC.

Dessa forma, a polpa e sementes poderiam ser utilizadas como um ingrediente no desenvolvimento de alimentos funcionais, em razão da sua importante atividade antioxidante (LÓPEZ-VARGAS et al., 2013).

A polpa do fruto *Passiflora ligularis* frutos é considerada uma boa fonte de compostos fenólicos e contém importante atividade antioxidante (SARAVANAN, PARIMELAZHAGAN, 2014). Saravanan e Parimelazhagan (2014) avaliaram as atividades anti-radicais, anti-diabéticos e antimicrobiana do fruto de *Passiflora ligularis* em diferentes extratos (éter de petróleo, clorofórmio, acetona e metanol). O alto nível de fenóis totais, taninos e flavonóides foram encontrados para acetona ($640,70 \pm 2.95$ mg(equivalente ácido garlic-GAE)/g(extrato); $234,30 \pm 4.50$ mgGAE/g(extrato) e $387,33 \pm 1,08$ mg(equivalentes rutina)/g (polpa), respectivamente).

A capacidade de eliminação de diferentes radicais em extratos da polpa do maracujá foi investigada por Saravanan e Parimelazhagan (2014) em DPPH•, ABTS⁺, O₂•, OH• e NO•. O resultado sugere que o extrato de acetona de polpa de *P. ligularis* exibiu maior atividade antioxidante (IC₅₀ 19.13µg/mL),

seguida pelo extrato de metanol (IC₅₀ 23.71 µg/mL). A quantificação de compostos polifenólicos por cromatografia líquida (HPLC) mostrou que o fruto de *P. ligularis* contém ácido gálico (21.22mg/g de extracto), ácido caféico (26.22mg/g de extracto), rutina (33.89mg/g de extrato), ácido elágico (62.44mg/g extrato) e kaempferol (3,05 mg/g extrato), que são compostos funcionais, com potencial atividade antioxidante (SARAVANAN, PARIMELAZHAGAN, 2014).

Portanto, de acordo com os autores, os resultados deste estudo indicam que a polpa do fruto de *P. ligularis* pode servir como um potencial antioxidante nas indústrias alimentícia e farmacêuticas (SARAVANAN, PARIMELAZHAGAN, 2014).

O suco de maracujá foi escolhido em razão de o Brasil ser um importante produtor mundial de maracujá e por esse produto ser muito apreciado pelo seu sabor e aroma característico, além de importantes características antioxidantes e antidiabéticas.

Além disso, os estudos sobre a avaliação da função gustativa foram feitos em solução aquosa, sendo importante a realização de estudos dessa natureza em alimentos e bebidas, a fim de verificar se as alterações gustativas relatadas em água podem ser extrapoladas para outras matrizes alimentícias.

2.7 Edulcorantes

Nas últimas décadas, a crescente preocupação com saúde, bem-estar e qualidade de vida tem incentivado as pessoas a praticarem atividade física regularmente, aumentar o consumo de alimentos integrais, orgânicos, e de gorduras polinsaturadas e limitar a ingestão de alimentos ricos em açúcar, sal e

gordura saturada. Em consequência disso, houve uma maior procura dos consumidores por produtos com baixo teor de açúcar (PINHEIRO et al, 2005). Assim, houve a substituição do açúcar simples (sacarose) pelos edulcorantes, que são compostos alternativos utilizados para substituir parcial ou totalmente a sacarose em dietas de baixa caloria (PINHEIRO et al, 2005).

Os edulcorantes podem ser classificados em naturais ou sintéticos. Os naturais são os presentes nas espécies animais e vegetais e incluem a sacarose, frutose, glicose, lactose, esteviosídeos e polióis, tais como o sorbitol e manitol. Os sintéticos são os edulcorantes produzidos por processos industriais específicos, tais como a sucralose, aspartame, neotame, ciclamato, sacarina e acesulfame K (CÂNDIDO, CAMPOS, 1996)

De acordo com Malik et al. (2002), os edulcorantes devem ter uma reduzida densidade calórica, ser fisiologicamente inerte, organolepticamente aceitável, viável comercialmente, além de auxiliar na manutenção da perda de peso e controle do diabetes e prevenção de cáries dental (MALIK, 2002). No entanto, os edulcorantes tem características específicas de intensidade e persistência de doçura e presença ou ausência de gosto residual, o que pode limitar a sua adição a um produto e esses fatores são determinantes na aceitação, preferência e escolha dos mesmos por parte dos consumidores (CARDELLO et al., 2000; PINHEIRO et al, 2005).

Para cada produto, a característica de doçura de cada edulcorante depende da matriz de dispersão no qual o mesmo é adicionado. Assim, a substituição da sacarose por edulcorantes deve ser estudada separadamente para cada alimento (NABORS, 2002).

As características dos principais tipos de edulcorantes estão dispostas a seguir:

O aspartame (N-L-a-aspartil-L-fenilalanina-1-metil ester) apresenta-se como pó branco, cristalino e possui excelente solubilidade em água e álcool, mas é insolúvel em óleos e gorduras (NABORS, 2002). Esse edulcorante pode sofrer hidrólise em certas condições de umidade, temperatura e pH, resultando em perda de doçura. Apesar de sofrer hidrólise quando submetido a altas temperaturas, pode ser empregado em sucos e produtos lácteos, processamentos assépticos e em alguns tratamentos térmicos que utilizam altas temperaturas, tais como UHT (Ultra High Temperature) e HTST (High Temperature, Short Time) (CARDOSO, 2007; FREITAS, 2013).

É um polipeptídeo, cerca de 200 vezes mais doce que a sacarose e cujo poder edulcorante diminui com o aumento da concentração (CARDELLO et al., 1999).

Uma característica importante desse edulcorante foi descrita por Cloninger e Baldwin, (1979), Brito e Bolini^b (2008) e Cavallini e Bollini (2003). De acordo com esses autores o aspartame provocou significativamente mais longa persistência de sabor frutado em produtos como o suco de manga e néctar de goiaba.

A sucralose (1,6 dicloro–didesoxi-b-D–frutofuranosil–4–cloro–4–deoxi-a D galactopiranosídeo). É um pó branco cristalino, obtido por meio da cloração da molécula de sacarose nas posições 4,1' e 6'. É o único edulcorante sintetizado a partir da sacarose (UMBELINO, 2005; FREITAS, 2013).

Apresenta perfil sensorial muito semelhante ao da sacarose, além de ser altamente solúvel em água e estável a amplas faixas de temperaturas e pH,

podendo ser utilizada em praticamente todos os tipos de produtos para a substituição da sacarose, inclusive em produtos submetidos a altas temperaturas (CARDOSO, 2007; UMBELINO, 2005; FREITAS, 2013). Além disso, por não ser metabolizada pelo organismo, a sucralose é isenta de calorias e pode ser utilizada por indivíduos com Diabetes *Mellitus* (SPLENDIA, 2000).

A Estévia é composta pelo extrato de folhas de estévia, extraído das folhas da planta *Stevia rebaudiana* (Bert) Berton. É composta por esteviosídeos (descrito como um glicosídeo constituído por três moléculas de glicose ligadas a uma aglicona) e por seus anômeros, os rebaudiosídeos, com destaque para o rebaudiosídeo A, que apresenta potência edulcorante superior ao do esteviosídeo (BARRIOCANAL et al. 2008; FREITAS, 2013, UMBELINO, 2005)

Entretanto, a estévia pode apresentar características indesejáveis como gosto amargo, amargo residual e sabor metálico, como relatado por Cardoso e Bolini (2008) em néctar de pêssgo e Brito e Bolini (2010) em néctar de goiaba.

Ciclamato é o nome genérico dado a um grupo que pode ser composto pelo ácido ciclâmico, ciclamato de cálcio e principalmente pelo ciclamato de sódio. São produtos quimicamente sintetizados a partir do ciclo-hexilamina pela sulfonação de vários produtos químicos (clorossulfônico, ácido sulfâmico), seguido por neutralização com hidróxido (SALMINEN, HALLIKAINEN, 2002).

O ciclamato de sódio é um pó branco, cristalino, altamente solúvel em água e pode ser utilizado como edulcorante não calórico em uma grande variedade de alimentos. É estável a altas temperaturas, podendo ser aquecido em temperaturas superiores a 500°C sem decomposição. De acordo com

Nabors (2002) o ciclamato é capaz de intensificar aromas frutados e reduzir a acidez proveniente de certas frutas cítricas (NABORS, 2002).

Sacarina é um nome genérico utilizado para a sacarina de cálcio e de sódio. Estas são de origem sintética e produzidas na forma de pó branco cristalino e estável em uma ampla faixa de temperatura, podendo chegar até 300°C. A sacarina é um edulcorante não calórico e não metabolizado pelo organismo (SALMINEN, HALLIKAINEN, 2002; FREITAS, 2013).

Assim como a estévia apresenta gosto residual metálico, o que pode limitar a sua utilização. Contudo, essas características podem ser minimizadas através de seu uso combinado com outros edulcorantes, notadamente o ciclamato de sódio, devido a um efeito sinérgico, capaz de reduzir a intensidade desse gosto residual indesejável (SALMINEN, HALLIKAINEN, 2002; FREITAS, 2013).

O neotame é obtido pela N-alquilação do aspartame e foi desenvolvido como um edulcorante com elevado grau de doçura, chegando a ser 13.000 vezes mais doce que a sacarose e 60 vezes mais doce que o aspartame (FREITAS, 2013; PRAKASH et al., 2002).

O neotame possui as qualidades similares ao do aspartame, sem residual amargo ou sabor metálico, entretanto com gosto doce residual, com descrito por Cardoso e Bolini, 2008, Brito e Bolini, 2010, Cadena et al. 2013

Artigo 1: Different sweeteners in passion fruit juice: Ideal and equivalent sweetness

Artigo publicado na LWT-Food Science and Technology



Different sweeteners in passion fruit juice: Ideal and equivalent sweetness

Izabela Furtado de Oliveira Rocha  , Helena Maria André Bolini 

DIFFERENT SWEETENERS IN PASSION FRUIT JUICE: IDEAL AND EQUIVALENT SWEETNESS

Izabela Furtado de Oliveira Rocha^a, & Helena Maria André Bolini^a

^aFaculty of Food Engineering, Food and Nutrition Department, University of Campinas, R. Monteiro Lobato 80, 6121 Campinas, Brazil

*Corresponding author

E-mail address: izabelaforocha@yahoo.com.br (Izabela Furtado de Oliveira Rocha);

Tel.: +55 19 3521-4084; fax: +55 19 3521-3617

E-mail address: hellini@fea.unicamp.br (Helena Maria André Bolini).

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the ideal equivalence of sweetness (equi-sweetness) and acceptance of passion fruit juice sweetened with sucrose and different sweeteners. The ideal sweetness of the samples sweetened with sucrose at 5.0, 7.5, 10.0, 12.5, and 15.0g/100g, were analysed using an acceptance test with a just-about-right (JAR) scale and 60 consumers of tropical fruits juices. The magnitude estimation method was used to determine the equi-sweetness of the six different sweeteners. Six samples containing different sweeteners were prepared as follows: sucrose, aspartame, cyclamate/saccharin blend 2:1, stevia, sucralose and neotame. All samples were prepared to be equi-sweet, and the overall liking was determined using a 9-cm linear hedonic scale. Analysis of variance (ANOVA), Tukey's test and Internal Preference Mapping multivariate statistical analysis were applied using SAS software. The ideal sweetness analysis revealed that 9.4g/100g was the ideal sucrose concentration. The relative sweetness analysis showed that neotame presented the highest sweetening power, being 6025.64 times sweeter than sucrose in relation to passion fruit juice containing 9.4g/100g of sucrose, followed by sucralose(590.02), cyclamate/saccharin blend 2:1(262.28), aspartame(171.62), and stevia(94.72). The acceptance test of the present study confirmed aspartame and sucralose as the best sucrose substitutes when compared with other sweeteners.

Keywords JAR scale, magnitude estimation method, Internal Preference Mapping, passion fruit juice, sweeteners.

1. INTRODUCTION

In the last decades, the growing concern for health and quality of life has encouraged people to exercise, eat healthy foods, and limit the consumption of food rich in sugar, salt and fat, in addition to the consumers demand for low-sugar products (Pinheiro *et al*, 2005). Sweeteners are alternative compounds used to partially or totally replace sucrose on low-calorie diets (Pinheiro *et al*, 2005) Several sweeteners are permitted for use in diet foods and beverages, which should have low caloric density on a sweetness equivalency basis, be physiologically inert, organoleptically acceptable, commercially viable, besides assisting in weight loss maintenance and diabetes management, and dental cavities prevention (Malik, Jeyarani, & Raghavan, 2002). However, sweeteners have specific characteristics of intensity and persistence of sweetness and presence or absence of aftertaste, which may change as a function of sweetener concentrations, thus determining consumers acceptance and preference (Cardello, Da Silva & Damásio, 2000).

The type of the sweetener used can influence the sensory properties, acceptance and preference of low-calorie food products, which may limit its addition to a product (Pinheiro *et al*, 2005), using each sweetener in situations for which it is best suited (Nabors, 2002). For each product, the equivalent sweetness is unique, once the sweetness potencies depend on the dispersion matrix in which they are added. Thus the replacement of sucrose by sweeteners may be studied for each food separately (Nabors, 2002).

Passion fruit is one of the most popular tropical fruits and yellow passion fruit is more acidic and mainly used for juice preparation (Deliza, MacFie, Hedderley, 2005). In Brazil, the production of concentrated passion fruit juice

increased from 4.4 thousand tons in 2005 to 11.2 thousand tons in 2010 (IBGE, 2013). Bahia state is the main producer of passion fruit, accounting for more than half of all domestic production (IBGE, 2010).

According to De Marchi, McDaniel & Bolini, (2009), the growing demand for low-calorie products and the availability and acceptability of the passion fruit in the Brazilian market should be studied as a role.

To use sucrose substitutes first it is necessary to know the sweetener concentrations and their sweetness equivalency related to sucrose, as well as the impact acceptance of the final product (IBGE, 2010)

Several methods can be used to determine sweetness equivalence, such as: ranking test, paired comparison scaling, magnitude estimation, and comparison of a glucose pattern with sweeteners through an intensity scale. However, the most used methodology to obtain this information is the magnitude estimation technique. (Bolini-Cardello, Da Silva & Damásio, 1996)

The Magnitude Estimation allows a direct quantitative measure of subjective sweetness intensity. The method consists in submitting a sample reference to subjects with an appointed arbitrary value, for example: 100, followed by a series of randomized samples, with intensities higher or lower than the reference (Moraes & Bolini, 2010)

The result from the subjects and the assessed concentration values are normalized, and the logarithms are calculated and placed in a graph in logarithmic coordinates; a line is obtained, which obeys the Stevens law, or “power function”: Power functions (log–log relationships) are used to characterize the relationship between subjective estimates of stimulus magnitude and objective measures of stimulus intensity for a given type of

sensory stimulus (perceptual continua). Regions of the line of the sweeteners that are in same level, parallel to the abscissa axis, have equivalent sweetness (Moskowitz & McNulty 1974; Woods, Mennemeier, Garcia-Rill, Meythaler, Mark, Jewel, Murphy; 2006).

This methodology was used for peach nectar (Cardoso & Bolini, 2007), passion fruit juice (Marchi, McDaniel & Bolini, 2009), coffee-based beverages (Trevisan Moraes & Bolini, 2010), and mango nectar (Cadena & Bolini, 2012).

Therefore, the objective of this study was to determine the ideal sweetness of passion fruit juice sweetened with sucrose, and the equivalent sweetness of passion fruit juice sweetened with different artificial sweeteners, as well as to determine consumer acceptance.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials

Passion fruit juice samples were prepared with unsweetened concentrated juice (Da Fruta®). The samples were sweetened with sucrose and other five different sweeteners: aspartame (Ajinomoto), stevia extract, sucralose, neotame (Tovani-Benzaquen, Brazil), cyclamate and saccharin (Sweet Mix, Brazil).

2.2. Methods

2.2.1. Samples preparation

Samples were prepared in the laboratory according to the following ratio: 1 part of concentrated juice to 6 parts of water. Samples were prepared 1 day before the tests, stored at 4-6°C and tested at room temperature.

2.2.2. Ideal sweetness determination

Approval for the study was obtained from the Ethics Committee of the University of Campinas, and written consent was given by all volunteers.

Initially, a study to determine the ideal sweetness of the passion fruit juice samples sweetened with sucrose was carried out. An acceptance test using a Just About Right (JAR) scale (Meilgaard, Civille, & Carr, 2004) was performed with 60 consumers of tropical fruit juices. The samples were sweetened with sucrose at five concentrations: 5.0, 7.5, 10.0, 12.5, and 15.0g/100g, in order to determine the ideal sweetness according to consumers acceptance.

The samples were evaluated using a 9 cm hybrid scale, in which “extremely sweeter than the ideal” corresponded to the value “+4”, “extremely less sweet than the ideal” to the value “-4”, and “ideal sweetness” corresponded to the value “0”.

The samples were evaluated in individual booths at the Laboratory of Sensory Science and Consumer Research at UNICAMP. Samples presentation was monadic in coded white disposable cups with 3 digits. The subjects were served 30 mL of each passion fruit juice sample.

Means were calculated for the grades given by the subjects to each sucrose concentration studied, and the results were analyzed by simple linear regression between hedonic values and sucrose concentration.

2.2.3. Selection of judges

To select the assessors, triangular tests were adopted in order to assess whether the subjects had good sensitivity in differentiating two passion fruit juice samples containing 3.5g/100mL and 5.0g/100mL sucrose. Each judge participated in twelve sessions. Data analysis was carried out using the Wald Sequential Analysis (Amerine, Pangborn, & Roessler, 1965; Meilgaard et al, 2004), according to the graphical method, through a system of decision, obtained according to the straight of acceptance ($d1 = 2.81 + 0.58n$) and rejection ($d0 = -2.81 - 0.58n$), where n = number of correct answers. These equations were derived from the statistical parameters: $p0=0.45$ (maximum unacceptability), $p1=0.70$ (minimal acceptability), $\alpha=0.05$ (likelihood of accepting a candidate without sensory acuity) and $\beta=0.05$ (likelihood of rejecting a candidate with sensory acuity), according to the number of correct judgments performed by assessors. Based on these parameters, the assessors were selected when their performances were above the line of acceptance.

The assessors were selected using the sequential method proposed by WALD (Amerine, Pangborn, & Roessler, 1965; Meilgaard et al, 2004), in which twelve triangle tests are used to select subjects with a good ability to discriminate samples. A series of ten triangular tests was conducted in which the candidates were provided two passion fruit juice samples: A (containing 3.5g/100mL sucrose) and B (containing 5.0g/100mL sucrose), with significant

difference of 0.1% in relation to sweetness. Fourteen subjects were selected for determination of the equi-sweetness concentrations of the different sweeteners.

2.2.4. Equi-sweetness determination

The relative sweetness of the sweeteners was measured using the Magnitude Estimation method (Stone & Oliver, 1969), which makes possible a direct quantitative measurement of the subjective intensity of sweetness. Twelve subjects were selected according to their ability to discriminate sweet taste, using sequential analysis as proposed by WALD (Amerine, Pangborn, & Roessler, 1965; Meilgaard et al, 2004). Training in the use of the magnitude scales was carried out by direct contact of the subjects with both the samples and evaluation form, for each sweetener, with the help of the researcher responsible for the study. The training sessions were performed thirty minutes before the test.

Five concentrations of each sweetener were evaluated. Firstly, passion fruit juice sample sweetened with sucrose in the ideal concentration (reference sample) was presented, followed by the samples containing five different concentrations of each sweetener, through randomized complete sets. The subjects were served 30 mL of each sample, and 90mL of reference sample. Each sweetener was tested in different days. Water was provided for palate cleansing.

The reference sample was taken as intensity of 100, followed by a random series of samples with intensities both less and greater than the reference. The subject was asked to estimate the sweetness intensity of the

unknown samples in relation to the reference. For example, if the sample is two times sweeter than the reference, it should receive an intensity of 200, if the sample is half as sweet, the intensity should be 50, and so on. Assessors were instructed not to rate the samples' intensity as zero.

The concentrations used in these determinations are presented in Table 1 (Cardello, Da Silva, & Damásio, 1999; Cardoso, Battocchio, & Cardello, 2004; Marcellini, 2005; Cavallini, 2005). The subjects evaluated all samples.

Table 1: Concentrations of sucrose, aspartame, cyclamate/saccharin blend 2:1, stevia, sucralose and neotame used for the equi-sweet determination

Sweeteners	Concentrations for an equi-sweet determination to 9.4% of sucrose^a				
Sucrose	3.672	5.875	9.400	15.040	24.064
Aspartame	0.0200	0.0340	0.0550	0.0880	0.14080
Sucralose	0.0630	0.0100	0.0160	0.0256	0.0410
Stevia	0.0391	0.0625	0.100	0.1600	0.2560
Cyclamate/Saccharin blend 2:1	0.0141	0.0226	0.0360	0.0576	0.0922
Neotame	0.00007	0.00010	0.00017	0.00027	0.00043

^a Concentrations in %

The values obtained by the subjects for each sweetener concentration were normalized and their logarithms were calculated. A concentration versus sensory response graph was constructed in logarithmic coordinates. An individual line was obtained for each compound, representing the Steven's Power Function: $P = a.S^b$, (equation 1) where "P" is the intensity of the stimulus perceived, "S" is the concentration of the stimulus, "a" is the antilog of the Y-intercept, and "b" is the slope of the line (Moskowitz, 1970).

For data analysis, the estimated sweetness magnitude values (S; scores given to each sweetener in relation to the reference) were expressed by using

geometric average. For each sample, the P and S values were plotted in log-log scale (base 10), thereby obtaining a graph with the lines of each sweetener.

2.2.5. Consumer Test

One hundred twenty-four (84 female and 40 male) consumers of tropical fruit juice (between 18 and 60 years old) recruited at the University of Campinas campus through posters and email lists evaluated all the six passion fruit juice samples to determine overall liking.

The samples were presented monadically in complete balanced block design and the order of presentation of the samples was balanced for the first-order carry over effect (MacFie, Bratchell, Greenhoff, & Vallis, 1989), and all the samples were prepared to be equi-sweet.

The overall liking was determined using a 9 centimeters linear hedonic scale (not structured) (Stone, Bleinbaun & Thomas, 2012), with anchors of “dislike extremely” on the left and “like extremely” on the right. Consumers had to indicate on an unstructured scale how much they liked the different samples. All samples were presented to the assessors in a balanced complete block design. Sensitivity in defining consumer perception is greater with use of line scales than with the 9-point hedonic scale (Greene, Bratka, Drake, & Sanders, 2006). In addition, with linear scales, smaller variations in the affective continuum were expressed, and the effect of presentation order was shown to be smaller (Villanueva, Petenate & Da Silva; 2005).

The acceptability results were analyzed by ANOVA, using two factors (consumer and sample), and Tukey’s honestly significant difference (HSD) and Internal Preference Mapping multivariate statistical analysis (MacFie &

Thomson, 1994), which allowed the generation of a multidimensional sensory affective space formed by consumers and samples, using the software SAS version 9.1.3 (SAS Institute, Cary, NC).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Ideal sweetness determination

The just-about-right scale made it possible to verify the ideal sweetness of passion fruit juice sweetened with sucrose. The linear graph (Fig. 1) allowed determining the ideal sweetness of the passion fruit juice sweetened with sucrose at 9.4g/100g.

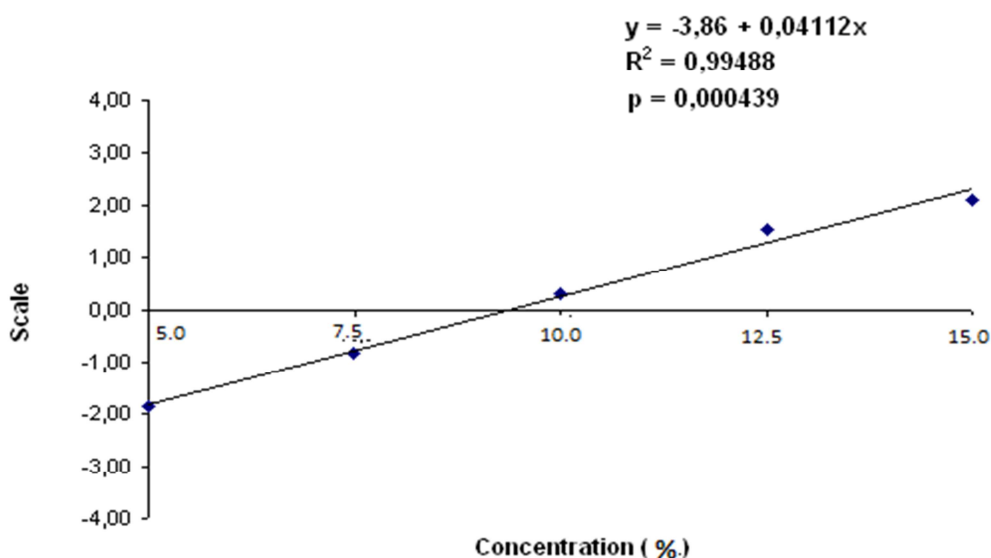


Fig. 1. Sucrose ideal concentration to be added to the passion fruit juice, obtained with the use of a just-about-right scale

Although different values were found for the ideal sucrose sweetness in passion fruit juice of the present study, similar results were found by other researchers in juices/nectars, as follows: peach nectar, 10.04g/100g (Cardoso

& Bolini, 2007); pineapple juice, 8.5g/100g (Marcellini, 2005); mango nectar, 7.5g/100g (Cadena & Bolini, 2012); reconstituted mango juice, 8.0g/100g, and mango juice prepared with a commercial pulp, 7.5g/100g (Cavallini, 2005); however was similar to passion fruit juice, 10g/100g (De Marchi *et al.*, 2009).

These differences were expected and are probably due to the interactions between sweeteners and product components (Cardoso & Bolini, 2007). The differences in the ideal concentration of similar products evidence the importance to perform a sensory analysis for each product (Cadena & Bolini, 2011).

3.2. Equi-sweetness determination

These results allowed establishing the equivalent concentrations of each sweetener and the ideal sucrose concentration (9.4g/100g) of passion fruit juice. The relationship between the sweetness intensities and the sweetener concentrations is represented in logarithmic scale in Fig. 2. These results allowed the determination of the concentrations of each sweetener equivalent to the sucrose concentration (9.4g/100g) in passion fruit juice.

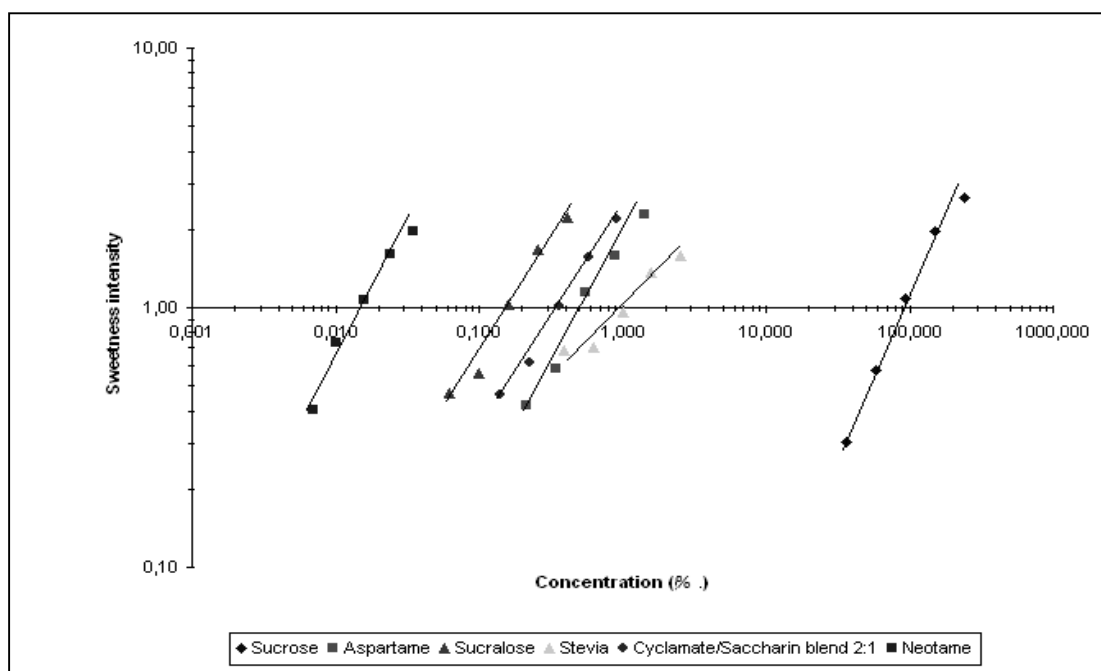


Fig. 2. Relationship between the sweetness intensities and the sweeteners concentrations corresponding to the 9.4% sucrose concentration.

The position of the curves indicates the relation between sweetness intensities and concentrations corresponding to 9.4g sucrose /100g sample. The sweetener situated nearest to the y-axis has a lower concentration required to express the same sweetness as sucrose (9.4g/100g), and therefore has a greater intensity of sweet taste. This figure shows the relationship between the sweetness intensities and the sweeteners concentrations, represented on a logarithmic scale.

The curves have shown that neotame was the most intense sweetener when compared to the other sweeteners, followed by sucralose, cyclamate/saccharin blend 2:1, aspartame and stevia in relation to 9.4g/100g of sucrose in the passion fruit juice. These results are in agreement with the study of Cadena & Bolini (2012), who reported neotame having the highest sweetening power, followed by sucralose.

The slopes, Y-intercepts, linear correlation coefficients, and the power functions of each sweetener are presented in Table 2. In relation to the equi-

sweetness determination, Table 2 shows R^2 values higher than 0.9 for all the sweeteners tested. However, the values obtained for stevia are lower than the R^2 values of the other sweeteners (0.9521). According to Cardoso & Bolini (2007), stevia has a characteristic bitter taste and bitter aftertaste, especially at high concentrations, which may have influenced the perception of the sweetness and the linearity of the lines obtained.

Table 2 Slopes, y-intercepts, linear correlation coefficients and power functions of each of the magnitude estimation test to determinate the equi-sweet of the sweeteners, and concentration equivalent in relation to 9.4g/100g of the sucrose

Sweeteners	Slope	Y-intercept	R^2	Power Function	Concentration equivalent to sucrose 9.4g/100g
Sucrose	1.1837	-2.3356	0.9846	$P=0.0046.S^{1.1837}$	-----
Aspartame	0.9342	0.2425	0.9828	$P=1.7482.S^{0.9342}$	0.5477
Sucralose	0.9007	0.7169	0.9766	$P=5.2106.S^{0.9007}$	0.1593
Stevia	0.0000028	0.5021	0.9521	$P=1.0000.S^{0.5021}$	0.9924
Cyclamate/ Saccharin blend 2:1	0.8621	0.3825	0.9942	$P=2.4127.S^{0.8621}$	0.3584
Neotame	0.9687	1.7488	0.9716	$P=56.0790.S^{0.9687}$	0.0156

P = sensory stimulus perceived, S = sweetener concentration, R^2 = Pearson coefficient

The concentration of each sweetener to be added to the passion fruit juice to confer the same sweetness as sucrose 9.4g/100g are presented in Table 2, which was calculated using the power functions of each sweetener.

Neotame had a characteristic sweet aftertaste, especially at high concentrations, which may have negatively influenced consumers acceptance (Cadena, Cruz, Netto, Castro, Faria & Bolini, 2013). Sucralose has shown to be a good alternative to replace sucrose in fruit juices. The sweetener potency for this study and other studies are presented in Table 3.

Table 3: Sweetener potency for this study, and other studies for sucrose and others sweeteners

Studies	Sweetner potency						Authors
	Ideal sweetness	Aspartame	Sucralose	Stevia	Cyclamate /saccharin e blend 2:1	Neotame	
This study	9.4%	171.62	590.02	94.72	262.28	6025.64	
Peach nectar	10%	185	629	101	280	---	Cardoso, Bolini, 2007
Mango nectar	7%	---	627	134	---	6026	Cadena Bolini, 2012
Strawberry flavored yogurt	11.5%	159.72	383.3	---	179.89	---	Reis et al, 2011
Light beverage of guava pulp	9,6%	175	600	96	267	---	Brito, Bolini, 2009
Instant coffee	9.5%	187.6	635.67	100.55	280.23	---	Trevizam Moraes, Bolini (2009)
Roasted ground coffee	12.5%	172.6	599	75.2	214.8	---	Trevizam Moraes, Bolini (2010)
Homogenized plain skimmed yogurt (diet)	9.7%	176	435	67,1	---	----	Barbosa (2009)
Reconstituted pineapple juice	8.5%	144	494	63	220	---	Marcellini (2005)
Reduced calorie tropical cupuaçu	8.0%	145.5	500	89	---	---	Martins (2008)
Passion fruit juice	10%	232.56	625	---	---	---	Marchi, McDaniel, Bolini (2009)
Mango juice	8.0%	144	503.1	94	223.6	---	Umbelino (2005)
Mango pulp	7.5%	146.2	503.4	----	----	---	Umbelino (2005)
Cold tea drink	8.3%	277	554	83.1	332.4	---	Cardoso, Battochio, Cardello (2004)
Hot tea drink	8.3%	163	679	116	272	---	Cardoso, Battochio, Cardello (2004)

Of all sweeteners, neotame showed the highest sweetening power, being 6025.64 times sweeter than sucrose in passion fruit juice with 9.4g/100g of

sucrose. These results are in agreement with the study of Cadena & Bolini (2012), who reported neotame as being 6026 times sweeter than sucrose.

Sucralose presented a sweetening power of 590.02, which is similar to the value of 600 found by Brito & Bolini, (2009) in light guava pulp beverage, and 599 found by Trevizam Moraes & Bolini (2010) in ground roasted coffee.

The blend cyclamate/saccharin 2:1 presented higher sweetening power (262.28) than aspartame (171.62). Similar results were observed by Freitas, Dutra & Bolini (2012) in pitanga nectar, by Cardoso, Battocchio & Cardello (2004) in cold tea drink equivalent to 8.3g/100g of sucrose, and by Reis, et al (2011) in strawberry flavored yogurt equivalent to 11.5g/100g of sucrose. The smallest difference between cyclamate/saccharin and aspartame was found in strawberry flavored yogurt. This can be explained by the fact that, according to Reis et al (2011), it is important to verify the difference in sweetening power when the product is more complex, i.e., when other ingredients such as fat, proteins, acids, carbohydrates, etc., are involved. When a sweetener is added to a food product, one must consider the various interactions among the sweeteners and the food ingredients promoting a change in the sweetener potency.

The interaction between sweetness and sourness was demonstrated by Prescott, Ripandelli & Wakeling (2001). This effect is variable and influenced by sucrose concentrations, once in all the concentrations of citric acid evaluated (0, 3, 6, and 12 mM), a reduction of stimulus perception was only observed at the higher sucrose concentrations (0.3 and 0.6M). With respect to adstringency, as reported by Lyman & Green (1990), the increase in viscosity and sweetness

with sucrose reduced the adstringency of tannic acid solutions (Lyman & Green, 1990).

Astringency of fruits and beverages are elicited primarily by flavanol polymers (proanthocyanidins or condensed tannins). In beverages, several factors have influenced this sensation, including pH, sweetness, and viscosity (Lesschaeve & Noble, 2005)

Therefore, the sucrose concentration considered ideal by consumers (9.4g / 100g) was higher when compared to other products such as reconstituted pineapple juice (Marcellini, 2005), reduced calorie tropical cupuaçu (Martins, 2008), mango juice and mango pulp (Umbelino, 2005). Therefore, the higher amount of sucrose and other sweeteners can be justified by the need for greater perception of sweet taste to suppress the acidity and astringency, predominantly present in passion fruit juice. Furthermore, the relationship between sweet aftertaste / bitter aftertaste and sweet taste may have also changed the sensory characteristics of passion fruit juice.

In addition, other factors must be considered, such as pH, acidity and temperature. Thus, different sweetness potential can be found in similar products at different temperatures, such as hot and cold tea beverages (Cardoso, Battochio & Cardello, 2004).

For passion fruit juice, according to Marchi, McDaniel & Bolini (2009), the potential sweetness value for sucralose and aspartame was 625 and 232.59 respectively. This variation could be due differences in the method used, formulation of each beverage, and consequently sucrose concentration used in the determination of relative sweetness (Cadena & Bolini, 2012).

According to Table 3, Stevia presented the lowest sweetening power (94.72), which is close to the results found in peach nectar at 10g/100g of sucrose (sweetner potency of 101) by Cardoso & Bolini (2007) and reconstituted pineapple juice at 8.5g/100g of sucrose (sweetner potency of 63) by Marcellini (2005), corresponding to the highest and lowest values respectively

The equi-sweet concentrations determined for sucralose, aspartame, cyclamate/saccharin 2:1 blend, and neotame are within the limits proposed by the Brazilian legislation (Brasil, 2008). However, stevia concentrations are higher than the limit, which can be explained, according to Cardoso and Bolini (2007), by its strong bitterness that may have influenced the sweetness perception, which was also reported by Marcellini (2005), Cavallini (2005) and Cardoso & Bolini (2007) in both reconstituted pineapple and mango juices.

3.3 Acceptance test and Internal preference Map (MDPREF)

Fig. 3 shows a bidimensional MDPREF, where the two first principal components explain 75.40% of the total variation between the samples (54.19% for principal component one, and 21.21% for principal component two). Table 4 presents the overall linking from the acceptance test. Consumers are represented by points in a vectorial space, which indicated the direction of preference of each consumer in relation to the samples, and situated near the region of the preferred samples.

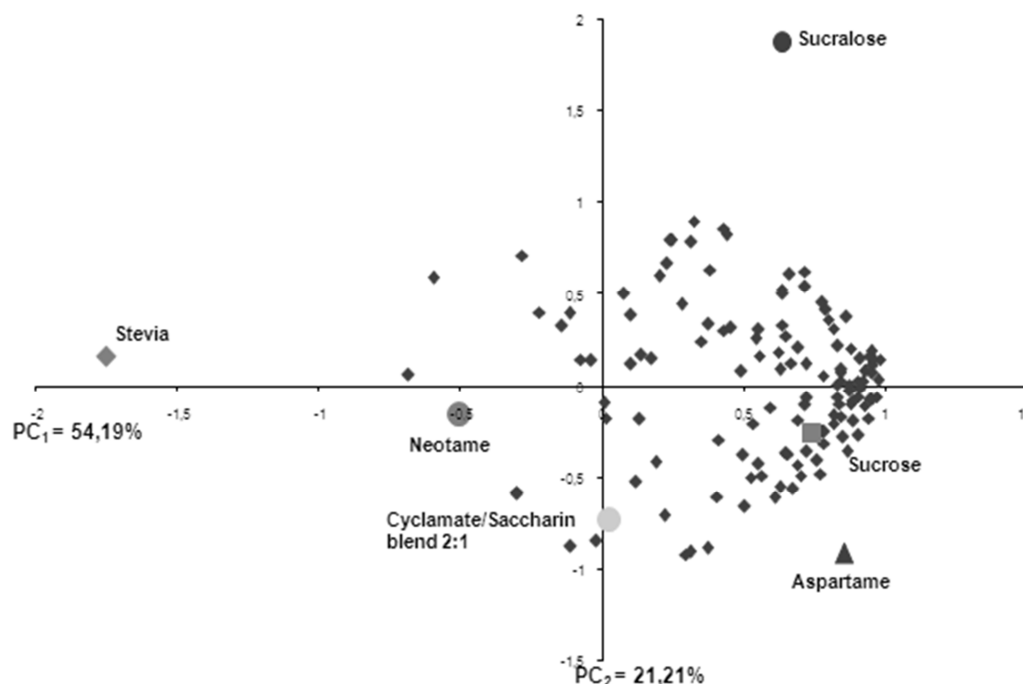


Fig. 3: Bi-dimensional figure from the analysis of the Internal Preference Mapping for the six different sweeteners in passion fruit juice samples

Table 4: Mean from overall liking - acceptance test (n=124)

Sweeteners	Overall liking
Aspartame	6.27 ^a
Sucrose	6.09 ^a
Sucralose	5.98 ^a
Cyclamate/Saccharin blend 2:1	5.28 ^b
Neotame	4.85 ^b
Stevia	3.77 ^c

Means with common letters in the same column indicate that there is not a significant difference between samples ($p \leq 0.05$) from Tukey's mean test

According to MDPREF (Fig 3) consumers were concentrated near sample with sucrose and aspartame, suggesting that these samples were the most preferred. This can be confirmed by the results of the overall preference (Table 4), where these samples showed higher acceptance scores .

Although aspartame and sucralose did not differ significantly ($p < 0.05$) from sucrose, aspartame had higher average scores as compared to sucrose.

This enhancement of the aspartame was observed by Cloninger & Baldwin (1974) in certain ingredients such as gums, gelatin and orange-flavored noncarbonated beverage. The highest overall liking found in passion fruit juice sweetened with aspartame can be due to this sweetener had a significantly higher intensity of fruit-flavor than the other sweeteners evaluated (Cloninger & Baldwin; 1974). Similar result was also reported by Cavallini & Bollini (2003) in mango juices, once despite the sample sweetened with sucrose had a higher intensity of fruit flavor, aspartame elicited significantly longer persistence of fruitiness, suggesting an intensification effect on fruitiness of mango juice. In addition, aspartame is generally more potent in products at room temperature than in frozen or hot foods (Candido & Campos, 1996), and all samples of this study were presented at room temperature.

Moreover, it is worth emphasizing that the higher acceptance of aspartame may be due to the presence of this sweetener in most Brazilian low calorie foods. Sweeteners composition of soft drinks, juices, and teas sold in Brazil contains aspartame in combination with other sweeteners, such as acesulfame-K, saccharin and sodium cyclamate (Rossini, Graebin & Moura, 2007).

However, some consumers were located in the negative region of principal component I and II, suggesting who preferred sample containing neotame, cyclamate/saccharin blend 2:1. The sample sweetened with stevia probably was less accepted, once according to Cardoso & Bolini (2007), this sweetner has a characteristic bitter taste and bitter aftertaste.

As reported by Cadena & Bolini (2012), the food industry generalizes the amount of sucrose and its substitutes in the elaboration of fruit juices. However,

the ideal sweetness can vary according to the fruit used in the manufacturing process, thus the ideal sweetness and equivalent sweetness of the sweeteners should be determined for each sample.

4. Conclusion

The magnitude estimation method allowed the determination of sweetness equivalence of aspartame, sucralose, stevia, cyclamate/saccharin blend 2:1, and neotame in passion fruit juice when compared to sucrose at 9.4g/100g.

Neotame was the most intense sweetener, followed by sucralose, cyclamate/saccharin blend 2:1, aspartame and stevia, when compared to sucrose concentration of 9.4g/100g in the passion fruit juice. Moreover, neotame was shown to be ten times sweeter than sucralose.

Finally, sucralose and aspartame were found to be the best sucrose substitutes, while stevia was the worst substitute. However, studies on combination of sweeteners may contribute to increase sweetener consumption. These results can improve the use of different sweetener combinations in different products.

Acknowledgments

The present study was carried out with the support of the Brazilian Science and Technology Research Council (CNPq). The sweeteners were kindly donated by Ajinomoto®, Tovani-Benzauen® and Sweet Mix®.

References

- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos — (ANVISA), Regulamento técnico que autoriza o uso de aditivos edulcorantes, em alimentos, com seus respectivos limites máximos, RDC 18, 24 de março de 2008. D.O.U. – Diário Oficial da União: Poder Executivo, 24 de março de 2008. Available from: <http://www.brasilsus.com.br/legislacoes/rdc/12968-18.html?q=> Accessed 10 march 2011.
- Amerine, M. A., Pangborn, R. M., & Roessler, E. B. (1965). Principles of sensory evaluation of food. NewYork: Academic Oress 602p.
- Baldwin, R. E. & Korschgen, B. M. (1979) Intensification of fruit-flavors by aspartame. *Journal of Food Science*. 44, 3, 938-939.
- Bolini-Cardello, H. M. A., Da Silva, M. A. A. P. & Damásio, M. H. (1996). Programa “Sistema de Coleta de Dados Tempo-Intensidade – SCDTI”. In Simpósio Iberoamericano De Análise Sensorial. I (Faculty of Food Engineering, ed.) p. 60, FEA., Campinas, Resumos.
- Brito, C. A. K. (2009) *Perfil sensorial de bebidas “light” de polpa de goiaba adoçada com diferentes edulcorantes*. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brazil, 158p.
- Cadena, R. S. & Bolini, H.M.A. (2011) Time–intensity analysis and acceptance test for traditional and light vanilla ice cream. *Food Research International* , 44, 677–683
- Cadena, R. S. & Bolini, H.M.A. (2012) Ideal and relative sweetness of high intensity sweeteners in mango nectar. *International Journal of Food Science and Technology* , 12, 47, 991–996
- Cadena, R. S., Cruz, A. G., Netto, R. R., Castro, W. F.; Faria, J. A. F., & Bolini, H. M. A. (2013). Sensory profile and physicochemical characteristics of mango néctar sweetened with high intensity sweeteners throughout storage time. *Food Research International* 54, 1670–1679.
- Cardoso, J.M.P. & Bolini, H.M.A. (2007). Different sweeteners In peach nectar: Ideal and equivalent sweetness. *Food Research International*, 40, 1249–1253.
- Candido, L.M.B. & Campos, A.M. (1996). *Alimentos Para Fins Especiais: Dietéticos*, Varela, São Paulo, Brazil 423p.
- Cardello, H. M. A. B.; Da Silva, M. A. A. P., & Damásio, M. H., (2000) Análise descritiva quantitativa de edulcorantes em diferentes concentrações. *Food Science and Technology* (Campinas), 20, 3, 318-328.

Cardoso, J. M. P.; Battochio, J. R. & Cardello, H. M. A. B. (2004) Equivalência de dulçor e poder edulcorante de edulcorantes em função da temperatura de consumo em bebidas preparadas com chá-mate em pó solúvel. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 24, 3, 448-452.

Cavallini, D. C. U. (2005). *Caracterização por Análise Descritiva Quantitativa e Análise Tempo-Intensidade de Suco e de Polpa de Manga (Mangifera indica L.) Adoçados com Diferentes Edulcorantes*. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 190p.

Cavallini, D. C. U., & Bolini, H. M. A. (2005). Comparação da percepção temporal de doçura, amargor e sabor de fruta em suco de manga reconstituído e adoçado com sacarose, mistura ciclamato/sacarona 2:1, aspartame, sucralose e estévia. *Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 23, 2, 361–382.

Cloninger M. R. & Baldwin, R. E. (1974) L-Aspartyl-L-Phenylalanine Methyl Ester (Aspartame) as a sweetener. *Journal of Food Science*. 39, 2, 347–349

De Marchi, R., McDaniel, M.R. & Bolini, H.M.A. (2009). Formulating a new passion fruit juice beverage with different sweetener systems. *Journal of Sensory Studies*, 24, 698–711.

Deliza, R.; MacFie, H., Hedderley, D. (2005) The consumer sensory perception of passion-fruit juice using free-choice profiling. *Journal of Sensory Studies* 20, 17–27

Freitas, M. L. F.; Dutra, M. B. L.; Bolini, H. M. A.;(2014) Development of pitanga nectar with different sweeteners by sensory analysis: Ideal pulp dilution, ideal sweetness, and sweetness equivalence. *Food Science and Technology (Campinas)*, 34, 1, 174-180.

Greene, J. L., Bratka, K. J., Drake, M. A., & Sanders, T. H. (2006). Effectiveness of category and line scales to characterize consumer perception of fruit fermented flavor in peanuts. *Journal of Sensory Studies*, 21, 146-154.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), 2013. Banco de Dados Agregados.<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=3464&z=t&o=2> 2 (accessed 22.07.2014).

Lesschaeve, I. & Noble, A. C. (2005) Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. *Am J Clin Nutr* 81(suppl):330S–5S

Lyman, B. J., & Green, B. G. (1990). Oral astringency: effects of repeated exposure and interactions with sweeteners. *Chemical Senses* 15 (2), 151-164.

MacFie, H. J., Bratchell, N., Greenhoff, K., & Vallis, L. V. (1989). Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effect in halls tests. *Journal of Sensory Studies*, 4, 129-148.

Malik, A., Jeyarani, T., & Raghavan, B. (2002). A comparison of artificial sweeteners' stability in a lime-lemon flavored carbonated beverage. *Journal of Food Quality*, 25, 1, 75–82.

Marcellini, P. S. (2005) *Caracterização Sensorial por Perfil Livre e Análise Tempo-intensidade de Suco de Abacaxi (Ananas comosus L. Merrill) Reconstituído e Adoçado com Diferentes Edulcorantes*. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil, 85p.

Meilgaard, M., Civille, G.V. & Carr, B.T. (2004). *Sensory Evaluation Techniques* (3 ed). New York: Boca Raton 387p

Moraes, P. C. B. T.; Bolini, H. M. A. (2010) Different sweeteners in beverages prepared with instant and roasted ground coffee: ideal and equivalent sweetness. *Journal of Sensory Studies*, 25, 215–225.

Moskowitz, H. R. (1970). *Ratio scales of sugar sweetness*. Percept. Psychoph., 7, 5, 315–320.

Moskowitz, H. R. & McNulty, P.B. (1974). Intensity-time curves for flavored oil-in-water emulsions. *Journal of Food Science*. 39, 55–57.

Nabors, L. O. (2002). Sweet choices: sugar replacements for foods and beverages. *Food Technology*, 56, 7, 28–35.

Pinheiro, M.V.S., Oliveira, M.N., Penna, A.L.B.; & Tamime, A.Y. (2005). The effect of different sweeteners in low-calorie yogurts – a review. *International Journal of Dairy Technology*. 58, 193–199.

Prescott, J., Ripandelli, N., Wakeling, I., (2001). Binary taste mixture interactions in PROP non-tasters, medium-tasters and supertasters. *Chemical Senses* 26, 993–1004

Reis, R. C.; Minim, V. P. R.; Bolini, H. M. A.; Dias, B. R P., Minim, L. A.; & Ceresino, E. B. (2011) Sweetness equivalence of different sweeteners in strawberry-flavored yogurt. *Journal of Food Quality* 54, 163-170

Rossini, E.; Graebin, B. L., Moura, R. P. (2007) Adoçantes presentes na formulação de refrigerantes, sucos e chás diet e light. R. Fac. Odontol. Porto Alegre, 48(1/3), 5-11.

Sandi, D., Chaves, J. B. P.; Parreiras, J. F.; Silva, M. T. C. (2003) Avaliação da qualidade sensorial de suco de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) submetido à pasteurização e armazenamento. **Boletim da CEPPA**, Curitiba, 21 (1): 141-158.

SAS System for Windows (Statistical Analysis System) (2008). version 9.2. Cary, USA: SAS Institute Inc.

Stone, H. & Oliver, S.M. (1969). Measurement of the relative sweetness of selected sweeteners and sweetener mixtures. *Journal of Food Science*, 34(2), 215–222.

Stone, H., Bleinbaun, R., Thomas, H. A. (2012) Sensory evaluation practices. (4ed) Ed. Academic Press, 448p.

Trevisam Moraes, P. C. B.;& Bolini, H. M. A. (2010) Different sweeteners in beverages prepared with instant and roasted ground coffee: ideal and equivalent sweetness. *Journal of Sensory Studies*, 25, 215-225.

Villanueva, N. D. M.; Petenate, A. J.; Da Silva, M. A. A. P. (2005) Performance of the hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. *Food Quality and Preference* 16, 691–703

Voorpostel, C. R.; Dutra, M. B. L.; Bolini, H. M. A. (2014) Sensory profile and drivers of liking for grape nectar among smoker and nonsmoker consumers. *Food Science and Technology (Campinas)* 34(1):164-173.

WALD, A. (1947). *Sequential Analysis*, Wiley, NewYork, 150p.

Wilkie L. M. & Phillips, E. D. C. (2014) Heterogeneous binary interactions of taste primaries: Perceptual outcomes, physiology, and future directions. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 47, 70–86

Woods, A. J., Mennemeier, M., Garcia-Rill, E., Meythaler, J., Mark, V. W., Jewel, G. R., Murphy, H. (2006) Bias in magnitude estimation following left hemisphere injury. *Neuropsychologia*, 44, 8, 1406-1412

**Artigo 2: Passion fruit juice with different sweeteners: sensory profile by
descriptive analysis and acceptance**

Artigo publicado na Food Science & Nutrition

Food Science & Nutrition

Open Access

ORIGINAL RESEARCH

Passion fruit juice with different sweeteners: sensory profile by descriptive analysis and acceptance

Izabela Furtado de Oliveira Rocha* & Helena Maria André Bolini

Faculty of Food Engineering, Food and Nutrition Department, University of Campinas, R. Monteiro Lobato 80, 6121 Campinas, Brazil

**Passion fruit juice with different sweeteners: sensory profile by
descriptive analysis and acceptance**

Izabela Furtado de Oliveira Rocha^{*a}, and Helena Maria André Bolini^a

^aFaculty of Food Engineering, Food and Nutrition Department, University of
Campinas, R. Monteiro Lobato 80, 6121 Campinas, Brazil

*Corresponding author

E-mail address: izabelaforocha@yahoo.com.br (Izabela Furtado de Oliveira
Rocha);

Tel.: +55 19 3521-4084; fax: +55 19 3521-3617

E-mail address: hellini@fea.unicamp.br (Helena Maria André Bolini).

ABSTRACT

This study evaluated the effect of different sweeteners on the sensory profile, acceptance, and drivers of preference of passion fruit juice samples sweetened with sucrose, aspartame, sucralose, stevia, cyclamate/saccharin blend 2:1, and neotame. Sensory profiling was performed by 12 trained assessors using quantitative descriptive analysis (QDA). Acceptance tests (appearance, aroma, flavor, texture and overall impression) were performed with 124 consumers of tropical fruit juice. Samples with sucrose, aspartame and sucralose showed similar sensory profile ($p < 0.05$), without bitter taste, bitter aftertaste, and metallic taste, and samples with sucrose and sucralose did not differ from each other for the attribute sweet aftertaste. Passion fruit flavor affected positively and sweet aftertaste affected negatively the acceptance of the samples. Samples sweetened with aspartame, sucralose, and sucrose presented higher acceptance scores for the attributes flavor, texture, and overall impression, with no significant ($p < 0.05$) differences between them. Aspartame and sucralose can be good substitutes for sucrose in passion fruit juice.

Key-words: passion fruit juice, sweeteners, QDA, PLS, sensory analysis, acceptance.

1. Introduction

Passion fruit is one of the most popular tropical fruits having a floral, estery aroma with an exotic tropical sulfury note. The yellow passion fruit, one important commercial variety, is more acidic and mainly used for juice preparation (Deliza et al. 2005). In addition, the production of concentrated passion fruit juice increased from approximately 4.4 thousand tons in 2005 to approximately 11.2 thousand tons in 2010 in Brazil (IBGE, 2011).

Parallel to the production and consume of concentrated passion fruit juice, nowadays, sweeteners have been used in foods, driven primarily by consumer demand for foods with lower carbohydrate content and energy density compared to sugar-containing variants. Sweeteners and products formulated with sucrose replacers increase consumer choice by providing the potential to reduce calories and to enhance nutritional and health benefits. Thereby, the availability and acceptability of the passion fruit juice in the Brazilian market and the increasing demand for low-calorie and low-sugar products should be evaluated together (De Marchi, et al., 2009, Shortt, 2014).

This way, sweeteners are added to foods to replace the sweetness normally provided by sucrose without contributing significantly to available energy and are a means for consumers to control caloric or carbohydrate intake (Pineiro et al, 2005; Trevisan Moraes and Bolini, 2009, O'Mullane, et al., 2014). Several sweeteners are permitted for use in diet foods and beverages, which should have low caloric density on a sweetness equivalency basis, be physiologically inert, organoleptically acceptable, commercially viable, besides assisting in weight loss maintenance and diabetes management, and dental cavities prevention (Malik, Jeyarani, & Raghavan, 2002).

The sweeteners must be studied in low-sugar products, because that sensory characteristics, acceptance and preference of low-calorie food products are highly dispersion matrix dependents. So, it is essential to study the substitution of sucrose by high-intensity sweeteners every time a formulation or concentration are changed or a new product is developed (De Marchi, et al. 2009; Pinheiro et al, 2005). And the sweeteners are only successful if they show a perfect match with the sensory profile of sucrose (Cadena and Bolini, 2012; Portmann and Kilcast, 1996).

Therefore, sensory evaluation is essential for its implementation in juice and blend formulations, and for the consumption of passion fruit, once the juice has intense acidic flavor, therefore water, sugar, or high-intensity sweeteners should be added to provide a palatable juice (Deliza et al. 2005).

The objective of this study was to evaluate the effect of different sweeteners on the sensory profile, acceptance, and drivers of preference of passion fruit juice samples.

2. Materials and methods

Passion fruit juice samples were prepared with unsweetened concentrated juice (Da Fruta®). The samples were sweetened with sucrose and five different sweeteners: aspartame (Ajinomoto), stevia extract, sucralose and neotame (Tovani-Benzaquen, Brazil), cyclamate and saccharin (Sweet Mix, Brazil).

2.1. Physicochemical analyses

In this study, were evaluated color, pH and soluble solid. Sample color (L^* , a^* , b^*) was determined in a Hunterlab Colorquest II model colorimeter. The apparatus was calibrated with the D65 illuminant (6900K), the reading being carried out using a 10mmquartz cuvette, illuminant C and hue of 10°, with Regular Transmission (RTRAN) at the moment of reading and a white reference plate (C6299 Hunter Color Standard). The pH of the samples was determined using an Orion Expandable Ion Analyzer EA 940 pH meter. The total titratable acidity was measured using AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International (1997) and expressed as % citric acid. The percentage of soluble solids in terms of °Brix was determined using a Carl Zeiss 844976 Jena refractometer with AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International (1997). And finally, the ratio was calculated as the ratio of total soluble solids (°Brix) to titratable acidity (Sabato et al., 2009).

2.2. Descriptive analysis

Approval for the study was obtained from the Ethics Committee of the University of Campinas, and written consent was given by all volunteers.

The sensory profiles were generated by a panel of 12 trained judges between 18 and 35 years of age, undergraduate or postgraduate students and employees from the University of Campinas, Brazil, and experienced in food and beverage sensory evaluation using quantitative descriptive analysis (Meilgaard et al., 1999; Stone and Sidel, 2004; Stone et al. 1974). The panelists were initially screened using the sequential method proposed by WALD (Amerine et al.1965), in which triangle tests are used to select subjects with a

good ability to discriminate samples. A series of triangular tests was conducted, in which the candidates were offered two passion fruit juice samples: A (containing 35g/L sucrose), and B (containing 50g/L sucrose), with significant difference of 0.1%.

The parameters used in the sequential analysis were: $p_0 = 0.45$ (maximum unacceptable ability), $p_1 = 0.75$ (minimum acceptable ability), $a = 0.10$ (likelihood of accepting a candidate without sensory acuity) and $b = 0.10$ (likelihood of rejecting a candidate with sensory acuity). Based on these parameters, the sensory panelists were selected according to the number of triangular tests and the cumulative number of correct judgments

2.2.1. Equi-sweetness determination

Initially, a study to determine the ideal sweetness of the passion fruit juice samples sweetened with sucrose was carried out. An acceptance test using a Just About Right (JAR) scale (Meilgaard, Civille, & Carr, 2004) was performed with 60 consumers of tropical fruit juices. The samples were sweetened with sucrose at five concentrations: 5.0, 7.5, 10.0, 12.5, and 15.0g/100g, in order to determine the ideal sweetness according to consumers acceptance.

After the determination of ideal sweetness, the relative sweetness of the sweeteners was measured using the Magnitude Estimation method (Stone & Oliver, 1969), which makes possible a direct quantitative measurement of the subjective intensity of sweetness.

Five concentrations of each sweetener were evaluated. Firstly, passion fruit juice sample sweetened with sucrose in the ideal concentration (reference

sample) was presented, followed by the samples containing five different concentrations of each sweetener, through randomized complete sets. The subjects were served 30 mL of each sample, and 90mL of reference sample. Each sweetener was tested in different days. Water was provided for palate cleansing.

The reference sample was taken as intensity of 100, followed by a random series of samples with intensities both less and greater than the reference. The subject was asked to estimate the sweetness intensity of the unknown samples in relation to the reference. For example, if the sample is two times sweeter than the reference, it should receive an intensity of 200, if the sample is half as sweet, the intensity should be 50, and so on. Assessors were instructed not to rate the samples' intensity as zero.

The “ideal sweetness determination” and “equi-sweetness determination” were described according to Rocha and Bolini (2014), and all juices were prepared to be equi-sweet. The juices with different sweeteners developed in this study are presented in Table 1

Table 1: Equi-sweet concentration of the sweeteners used this study

Sweeteners	Concentration equivalent (g/100mL)
Sucrose	9.400
Aspartame	0.05477
Sucralose	0.01593
Stevia	0.09924
Cyclamate/Saccharin blend 2:1	0.03584
Neotame	0.00156

2.2.2. Training and selection of panelist

Using Kelly's Repertory Grid Method described by Moskowitz (1983), panelists evaluated the samples of passion fruit juice with five different

sweeteners (sucrose, aspartame, sucralose, stevia, cyclamate/saccharin blend 2:1, and neotame). The individuals received two passion fruit juice samples and individually described their similarities and differences with respect to appearance, aroma, flavor, and texture. As a group, the panelists then discussed the terms generated by each individual and, with the supervision of a panel leader, consensually defined the terms that adequately described appearance, aroma, flavor and texture similarities and differences amongst the samples, writing down their definitions and suggesting references for training purposes. In subsequent sessions, the suggested references were presented, discussed, and approved or modified by the group. During this process, eighteen sensory descriptors were consensually generated, as well as the written definitions and references for each one (Table 2).

Table 2: Attributes and reference standards generated by the sensory panel.

Attributes	Definitions	References
Appearance		
Yellow color	Yellowish orange color characteristic of passion fruit juice	Weak: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 20 parts water Strong: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 1 part water
Apparent viscosity	Flow rate of juice in the cup wall	Weak: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 20 parts water Strong: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 1 part water
Brightness	The degree to which the sample reflects light in one direction	Weak: cooked egg yolk Strong: peach gelatin (Dr Oetker®) - prepared according to manufacturer
Aroma		
Passion fruit	Characteristic aroma from natural passion fruit juice	Weak: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 20 parts water Strong: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 1 part water
Sweet	Aroma due to the presence of sucrose and other sugar from passion fruit	Weak: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 6 parts water + 5g loaf sugar (Caravelas®) Strong: loaf sugar (Caravelas®)
Acid	Aroma related to the presence of characteristic organic acids from passion fruit	Weak: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 20 parts water Strong: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 2 part water
Cooked	Characteristic aroma from passion fruit submitted to thermal processing (heat)	Weak: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 20 parts water Strong: pulp of passion fruit juice (DeMarchi®)

Table 2: Attributes and reference standards generated by the sensory panel.

Flavor		
Passion Fruit	Characteristic flavor from natural passion fruit juice	Weak: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 20 parts water Strong: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 1 part water
Cooked	Characteristic flavor from passion fruit submitted to thermal processing (heat)	Weak: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 20 parts water Strong: pulp of passion fruit juice (DeMarchi®)
Sweet taste	Taste stimulated by the presence of sucrose and other substances, such as sweetner	Weak: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 6 parts water + 5g/L loaf sugar (Caravelas®) Strong: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 6 parts water + 20g loaf sugar (Caravelas®)
Bitter taste	Characteristic taste from caffeine	Weak: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 20 parts water Strong: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 6 parts water + 1g/L caffeine
Sweet aftertaste	Sweet sensation perceived at the back of the throat after swallowing.	Weak: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 6 parts water Strong: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 6 parts water + 15g/L aspartame (Ajinomoto®)
Bitter aftertaste	Bitter sensation perceived at the back of the throat after swallowing.	Weak: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 6 parts water Strong: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 6 parts water + 2g/L stevia extrat (Tovani-Benzazuén®)
Sour taste	Taste related to the presence of characteristic organic acids from passion fruit	Weak: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 20 parts water Strong: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 2 parts water
Sour aftertaste	Sour sensation perceived at the back of the throat after swallowing.	Weak: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 20 parts water Strong: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 2 parts water
Adstringency	Harsh sensation perceived in mouth and tongue characteristic of passion fruit	Weak: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 20 parts water Strong: cashew juice concentrate (Maguary®)
Metallic	Flavor associated with "rust"/"metal"	Weak: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 6 parts water Strong: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 6 parts water + 0,5g/L FeSO ₄
Texture		
Viscosity	Perceived time during swallowing	Weak: passion fruit juice concentrate (Maguary®) - 1 part pulp/ 20 parts water Strong: cashew juice concentrate (Maguary®)

In consensus, the panelists also elaborated a sensory descriptive term (Table 2) for the samples, associating each descriptor with a 9-cm unstructured

scale, anchored at its left and right extremes by the terms “none/weak” and “strong”, respectively.

After a training period, a final selection of the panelists was carried out, where each one evaluated three fruit juice samples with three replications. ANOVA with sample (p_{Fsample}) and replication ($p_{\text{Freplication}}$) as source of variation was carried out for each panelist and each sample.

The level of significance for the source of variation “sample” ($p_{\text{Fsample}} \leq 0.50$) was used as the criterion to estimate the discriminative power of each judge, and the level of significance for the source of variation “replication” ($p_{\text{Freplication}} \geq 0.05$) was used as the criterion to estimate the reproducibility of each judge. Only individuals showing adequate discriminative power ($P_{\text{Fsample}} \leq 0.50$), reproducibility ($P_{\text{Freplication}} \geq 0.05$) and consensus with the rest of the panel for at least 60% of the descriptors were selected to take part in the descriptive panel (Damásio and Costell, 1991).

2.2.3. Sensory profile

Samples of passion fruit juice (30 ml) were presented in codified white disposable cups with 3 digits, and sensory analyses were carried out in individual air-conditioned (22°C) booths with white light.

The samples were tested in complete balanced block design with three repetitions, and the order of presentation of the samples was balanced for the first-order effect (MacFie, et al 1989).

2.3 Acceptance test

One hundred twenty-four consumers of tropical fruit juice evaluated all the six passion fruit juice samples to determine liking of appearance, aroma, flavor, texture and overall impression.

Acceptance was determined using a 9-cm linear hedonic scale (not structured) (Stone and Sidel, 2004), with anchors of “dislike extremely” on the left and “like extremely” on the right.

All samples were presented using a balanced complete block design (MacFie et al. 1989). According to the Greene et al. (2006), sensitivity in defining consumer perception is greater with use of line scales than with the 9-point hedonic scale.

The sensory profile results were performed using the SAS version 9.1.3 (SAS_ Institute, Cary, NC). The sensory descriptive data were evaluated by ANOVA (sources of variation: passion fruit juice, judges, passion fruit juice _ judge) followed by Tukey's test for multiple mean comparisons ($p < 0.05$). The sensory and analytical data were also analyzed by Principal Component Analysis (PCA), and correlated with the analytical data using the Pearson correlation coefficient.

The acceptance results were analyzed by ANOVA, using two factors (consumer and passion fruit juice), and Tukey's test. Descriptive information obtained from the taste panel was related to the consumer preference data using partial least squares (PLS) regression (Bayarri et al. 2012; Cadena et al. 2012; Melo et al. 2009). PLS regression involved the development of a matrix data where the lines were the passion fruit juice samples (6 lines), and the columns were the eighteen attributes used by the consumers to describe the

samples. Statistical analyses were carried out using XLSTAT for Windows version 2012.5 (Addinsoft, Paris, France) at a 5% significance level.

3. Result and discussion

3.1. Physicochemical analyses

With respect to the pH values of the passion fruit juice (Table 3), there were no significant differences ($p>0.05$) between the different samples. The titratable acidity values were significant difference ($p>0.05$), and sample with sucrose presented the lowest mean.

Table 3: Physicochemical characteristics of passion fruit juice sample

	pH	Titratable acidity (%)	°Brix	Ratio ^c	L*	a*	b*
Sucrose	2.82 ^a	0.4621 ^c	10.00 ^a	21.64	45.6867 ^a	6.1567 ^a	30.5600 ^a
Aspartame	2.85 ^a	0.5206 ^{ab}	2.00 ^b	3.84	40.3933 ^c	5.8933 ^b	29.4200 ^b
Sucralose	2.79 ^a	0.5206 ^{ab}	2.00 ^b	3.84	40.4733 ^c	5.8000 ^c	29.2333 ^{bc}
Stevia	2.80 ^a	0.5262 ^a	1.83 ^{bc}	3.48	41.2267 ^b	5.7867 ^c	29.2133 ^c
Ciclamate/ Saccharin blend 2:1	2.80 ^a	0.5150 ^b	1.67 ^c	3.24	40.6700 ^c	5.7867 ^c	29.3433 ^{bc}
Neotame	2.81 ^a	0.5206 ^{ab}	1.75 ^{bc}	3.36	41.1300 ^b	5.8167 ^c	29.3433 ^{bc}

Means with same letters in a same line each parameter indicate that samples do not have statistical difference at a significance level of 5% by Tukey's means test.

*L=luminosity; +a=red, -a=green; +b=yellow, -b=blue.

^cRatio of °Brix and titratable acidity (%).

According to Etxeberria and Gonzalez, (2005) and Cadena et al. (2013), since sucrose is a soluble solid, this showed a significant influence in relation to °Brix, with a higher value in this sample. Therefore these sample (sweetened with sucrose), showed a much higher ratio than the other samples, due to the increase in soluble solids.

The color parameters (L*, a*, b*) were significant differences ($p>0.05$) (Table 3). The passion fruit juice samples lighter, the values for the parameter

of luminosity (L) retracting and the intensity of the yellow color (b) were lower. The passion fruit juice samples darker, the values for the parameter of luminosity (L) retracting and the intensity of the yellow color (b) were higher, as in the case of the sample with sucrose. According to Brito and Bolini (2010) and Cadena et al. (2013), this darkened color could be associated with non-enzymatic processes with the formation of caramel colored pigments.

3.2. Equi-sweetness determination

The ideal sweetness analysis revealed that 9.4g/100g was the ideal sucrose concentration. The relative sweetness analysis showed that neotame presented the highest sweetening power, being 6025.64 times sweeter than sucrose in relation to passion fruit juice containing 9.4g/100g of sucrose, followed by sucralose (590.02), cyclamate/saccharin blend 2:1 (262.28), aspartame (171.62), and stevia (94.72). These results were described according to Rocha and Bolini (2014).

3.3 Sensory profile

Table 4 shows the results of each sample for all the 18 descriptors generated by the trained panel.

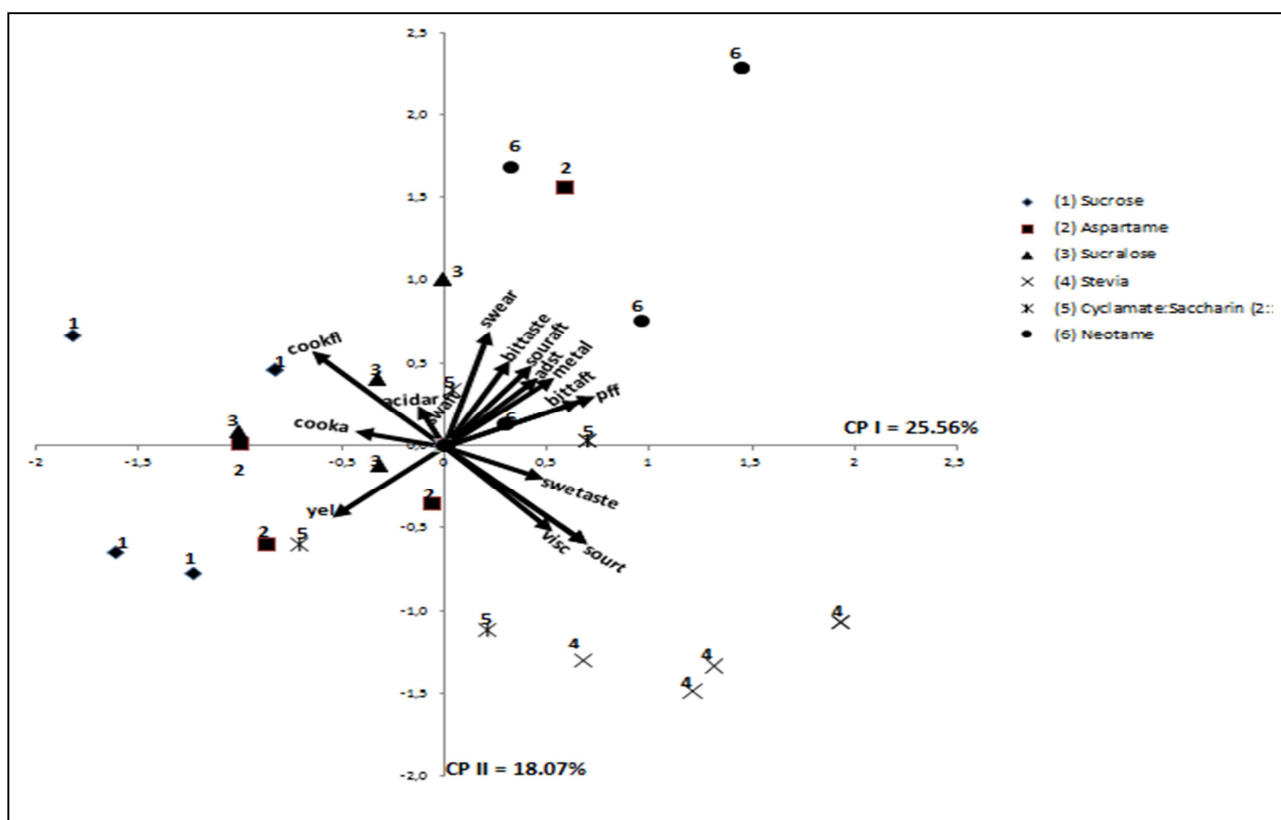
Table 4: Attributes of the descriptive sensory evaluation by the trained panel for each passion fruit juice sample (n=12 judges)

	Sucrose	Aspartame	Sucralose	Stevia	Cyclamate: Saccharin blend 2:1	Neotame	MSD*
Yellow Color	5,84 ^a	5,62 ^a	5,82 ^a	5,65 ^a	5,81 ^a	5,58 ^a	0,3852
Apparent viscosity	2,48 ^a	2,22 ^a	2,38 ^a	2,24 ^a	2,29 ^a	2,28 ^a	0,4077
Brightness	7,13 ^a	7,11 ^a	7,15 ^a	7,08 ^a	7,07 ^a	7,06 ^a	0,3159
Passion fruit aroma	5,26 ^a	5,14 ^a	5,18 ^a	5,14 ^a	5,20 ^a	5,13 ^a	0,4892
Sweet aroma	2,99 ^a	3,08 ^a	3,11 ^a	3,04 ^a	2,98 ^a	3,26 ^a	0,4861
Acid aroma	3,84 ^a	3,65 ^a	3,69 ^a	3,78 ^a	3,73 ^a	3,72 ^a	0,5341
Cooked aroma	1,26 ^a	1,54 ^a	1,51 ^a	1,58 ^a	1,54 ^a	1,58 ^a	0,4452
Passion Fruit flavor	5,25 ^a	5,12 ^a	5,18 ^a	4,67 ^b	4,96 ^{ab}	5,03 ^{ab}	0,4322
Cooked flavor	1,50 ^a	1,54 ^a	1,41 ^a	1,65 ^a	1,77 ^a	1,50 ^a	0,5688
Sweet taste	3,80 ^c	4,67 ^{ab}	4,03 ^{bc}	4,12 ^{abc}	3,53 ^c	4,80 ^a	0,7540
Bitter taste	0,46 ^c	0,62 ^c	0,87 ^c	3,64 ^a	1,56 ^b	0,97 ^c	0,5842
Sweet aftertaste	1,05 ^{de}	2,35 ^{bc}	1,77 ^{cd}	2,61 ^{ab}	1,15 ^{cd}	3,17 ^a	0,6815
Bitter aftertaste	0,33 ^c	0,39 ^c	0,64 ^c	3,56 ^a	1,39 ^b	0,71 ^c	0,5359
Sour taste	3,45 ^{ab}	3,38 ^b	3,74 ^{ab}	3,53 ^{ab}	3,74 ^{ab}	3,95 ^a	0,5166
Sour aftertaste	2,50 ^{ab}	2,38 ^b	2,69 ^{ab}	2,60 ^{ab}	2,80 ^{ab}	2,94 ^a	0,5390
Adstringency	3,48 ^{ab}	3,41 ^b	3,64 ^{ab}	3,64 ^{ab}	3,65 ^{ab}	3,94 ^a	0,5193
Metallic taste	0,43 ^b	0,50 ^b	0,52 ^b	0,93 ^a	0,50 ^b	0,52 ^b	0,3077
Viscosity	2,19 ^a	2,14 ^a	2,27 ^a	2,23 ^a	2,23 ^a	2,13 ^a	0,3545

*MSD = Minimum Significant Difference

^a Means in the same line showing common letter are not significantly different (p = 0.05).

Fig. 1 shows the results for the Principal Component Analysis (PCA) to illustrate the similarities and differences amongst the passion fruit juice samples with respect to their attributes.



Yel= Yellow Color, Apvis= Apparent viscosity, Brigh= Brightness, Pfar= Passion fruit aroma, Swear= Sweet Aroma, Acidar= Acid Aroma, Cooka= Cooked Aroma, Pffl= Passion Fruit Flavor, Cookfl= Cooked Flavor, Sweetaste= Sweet taste, Bittaste= Bitter Taste, Swaft= Sweet Aftertaste, Bittaft= Bitter Aftertaste, Sourt= Sour Taste, Souraft= Sour Aftertaste, Adst= Adstringency, Visc= Viscosity

Figure 1: PCA generated with the sensory data for appearance, aroma, flavor and texture

In Fig. 1, the sensory descriptors are represented as vectors and the passion fruit juice as numbers from 1 to 6. Each sample is represented 4 times, corresponding to the repetitions performed by the descriptive panel. The Principal Components I, II and III explain 55.7% of the total sensory variation amongst the samples. This percentage can be explained because no differences were observed in passion fruit juice with sucrose and sweeteners in many attributes.

As shown in Fig. 1, the position of the three samples sweetened with sucrose, aspartame and sucralose suggests that these samples presented similar characteristics to each other.

In this study, no differences were observed in color and brightness of passion fruit juice samples with sucrose and sweeteners. These findings are consistent with samples sweetened with different sweeteners and sucrose in peach nectar (Cardoso and Bolini, 2008), grape nectar (Voorpostel et al. 2014), and diabetic/reduced calorie chocolate (Melo et al. 2009).

No significant ($p < 0.05$) differences were found for all descriptive terms of the attribute aroma (passion fruit, cooked, acid and sweet), suggesting that those sweeteners had little influence on this attribute. Similar results were observed in a study on grape nectar (Voorpostel et al. 2014).

The presence of cooked aroma and cooked flavor may be due to the heat treatment of passion fruit juice (pasteurization), as described by Sandi et al. 2003.

The average scores for the attribute sweetness were significantly ($p < 0.05$) higher for neotame, aspartame, and stevia, differing in relation to cyclamate / saccharin 2: 1 and sucrose, which exhibited the lowest scores for this attribute. The lower sweetness observed in nectar sweetened with cyclamate / saccharin 2: 1 was also reported in mango pulp by Umbelino (2005). Although this result could be inconsistent with those obtained in the sweetness equivalence test, as reported by Umbelino (2005), it may be due to the sweetness equivalence of sweet taste was assessed globally, while QDA assessed the evaluation of initial and residual sweetness separately

Some undesirable descriptors were mentioned such as bitter taste, bitter aftertaste, sweet aftertaste, and metallic flavor, probably due to use of sweeteners (Brito and Bolini, 2010).

Samples with stevia presented the most bitter taste, bitter aftertaste, and metallic flavor, and samples with neotame presented the sweetest aftertaste, as also reported by Cardoso and Bolini (2008). Furthermore, the sample with stevia presented lower scores for passion fruit flavor. The undesirable descriptors bitter taste, bitter aftertaste, and metallic flavor may have hindered the passion fruit flavor (Brito and Bolini, 2010).

Samples sweetened with sucrose, aspartame, sucralose, and neotame did not present bitter taste or bitter aftertaste, and sweet aftertaste was not perceived in sucrose and sucralose samples either. These occurrences were reported in other studies on these sweetness (Cardoso and Bolini, 2008, Brito and Bolini, 2010, Cadena et al. 2013).

Sample sweetened with aspartame showed intermediate intensity of sweet aftertaste associated with low intensity of sour taste, sour aftertaste, and adstringency. This characteristic can be due the sweetener presented a significantly higher intensity of fruit-flavor than the sample sweetened with sucrose (Cloninger and Baldwin; 1979). Similar result was reported by Cavallini and Bollini (2003) in mango juices, because aspartame elicited significantly longer persistence of fruitiness, suggesting an intensification effect on fruitiness of mango juice. Therefore, the low intensity of sour taste, sour aftertaste, and adstringency may be due to the higher intensity of fruit-flavor of aspartame.

Similar sensory profiles ($p < 0.05$) were observed for the samples with sucrose, aspartame and sucralose, which did not exhibit bitter taste, bitter aftertaste, and metallic taste, with a higher intensity of the attribute passion fruit flavor; in addition, sucrose and sucralose presented similar results for sweet

aftertaste ($p < 0.05$). Therefore, these results demonstrate that aspartame and sucralose are the best sucrose substitutes.

3.4. Acceptance test

Amongst the consumers ($n=124$), 67.74% were female and 32.26% were male. The participants were between 18 - 30 (90.32%) and 31 or more years old (9.68%). The volunteers were phd students (38.71%) and graduated students (54.84%).

The 124 consumers evaluated the passion fruit juice samples for appearance, aroma, flavor, texture, and overall impression. The results are presented in Table 5.

Table 5: Mean scores obtained by consumers ($n = 124$) in the acceptance test of passion fruit juice samples

	Sucrose	Aspartame	Sucralose	Stevia	Cyclamate/Saccharin	Neotame	MSD
Appearance	6.37 ^a	6.44 ^a	6.29 ^a	6.27 ^a	6.19 ^a	6.16 ^a	0.3615
Aroma	5.79 ^{ab}	6.07 ^a	5.91 ^{ab}	5.55 ^b	5.87 ^{ab}	5.83 ^{ab}	0.5083
Flavor	5.79 ^a	5.87 ^a	5.77 ^a	2.92 ^c	4.69 ^b	4.24 ^b	0.6570
Texture	6.36 ^{abc}	6.55 ^a	6.40 ^{ab}	5.53 ^d	5.96 ^{cd}	6.03 ^{bc}	0.4412
Overall impression	6.09 ^a	6.27 ^a	5.98 ^a	3.77 ^c	5.28 ^b	4.85 ^b	0.5471

*MSD = Minimum Significant Difference

^a Means in the same line showing common letter are not significantly different ($p = 0.05$).

According to the results in Table 5, there was no significant difference ($p > 0.05$) for the attribute appearance between the passion fruit juice samples evaluated by consumers. Similar results were observed in grape nectar (Voorpostel et al. 2014), diabetic/reduced calorie chocolates (Melo et al. 2009), concentrated reconstituted pineapple juice (Marcellini et al. 2005), guava nectar (Brito and Bolini, 2008a), and acerola nectar (Dutra and Bolini; 2013).

Regarding the attribute aroma, the sample with aspartame presented high scores, followed by sucralose and cyclamate/saccharin blend 2:1. Samples with aspartame only differed from the samples sweetened with stevia. However, Marcellini et al.(2005) found no difference among samples of reconstituted pineapple juice, while Brito and Bolini (2008a) reported that the samples of guava nectar sweetened with sucrose, sucralose, and aspartame had the highest scores for this attribute

For the attributes flavor, texture, and overall impression, the sample with aspartame showed higher sensory acceptance, and it did not differ from the sample sweetened with sucralose and sucrose ($p<0.05$). This characteristic may be due to the significantly higher intensity of fruit-flavor of aspartame, thus it elicited significantly longer persistence of fruitiness (Cloninger and Baldwin; 1979, Cavallini and Bollini, 2003; Brito and Bolini, 2008b).

Bruto and Bolini (2008a) also reported that the samples of guava nectar with sucrose, sucralose, and aspartame had the highest flavor scores.

The sample sweetened with stevia had the lowest acceptance regarding the attributes aroma, flavor, texture, and overall impression ($p<0.05$). Stevia presents undesirable descriptors for beverages such as bitter taste, bitter aftertaste, and metallic flavor (Table 4). Several authors have reported these stevioside characteristics, including Voorpostel et al. (2014) (grape nectar), Melo et al. (2009) (chocolate), Dutra and Bolini, (2013) (acerola nectar), and Fernandes et al. (2009) (guava nectar). According to these studies, the samples with stevia had lower acceptance for the attribute flavor. Therefore, the lowest acceptance scores may be due to these descriptors almost covered the sweet

taste starting at concentration equi-sweet to 20% sucrose, as also reported by Bolini-Cardello et al. (1999).

The correlation between overall impression and sensory descriptors data using partial least squares regression (PLS) is shown in Fig 2 and Fig 3. PLS is one of the modeling approach used when predictive variables are intercorrelated (Tang et al. 2000; Melo et al. 2009). PLS is a multivariate method suitable for the analysis of sensory descriptors and overall impression by consumers. Furthermore, it may be useful to guide the selection of a subset of relevant attributes from the complete set of attributes, and the number of significant components to be evaluated is usually determined by a cross-validation procedure (Rossini, et al 2012).

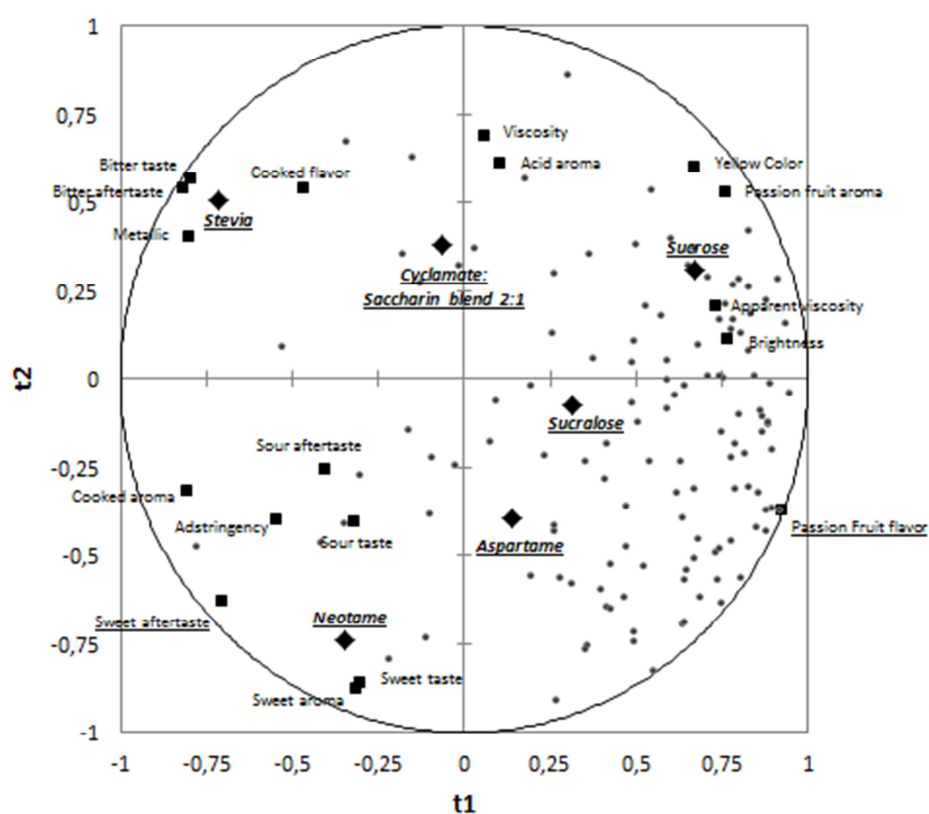


Fig 2: External preference map (X and Y are horizontal and vertical axes, respectively) obtained by partial least squares regression of descriptive data and respondent's overall liking scores for the sensory attributes of passion fruit juice (square= samples; circle= consumers; triangle = attributes of quantitative descriptive analysis).

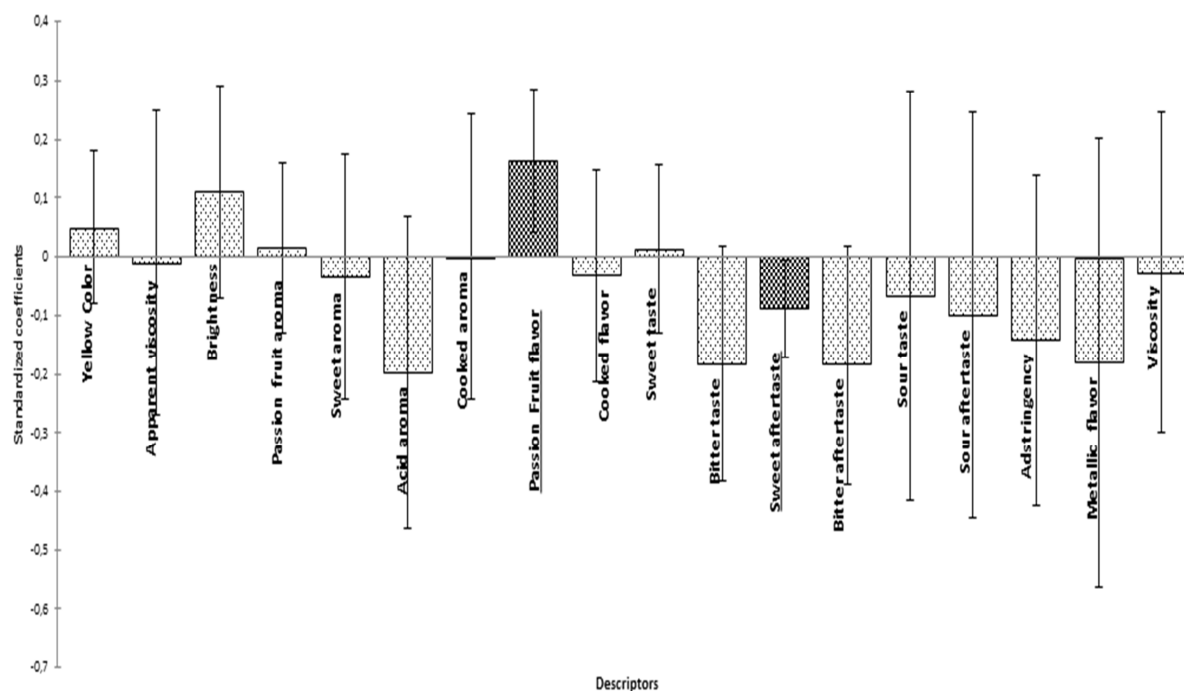


Fig. 3. Partial least squares standardized coefficients of passion fruit juice (darker= descriptor terms without significant contribution to consumer acceptance).

The purpose of PLS is to establish the sensory attributes that are mainly related to the preference of the passion fruit juice sweetened with different sweeteners, and to determine the attributes that have contributed positively and negatively to consumer's acceptance, verifying its degree of influence (Morais et al. 2014).

According to Fig 2, the columns represent the sensory descriptors. Columns located on the positive portions of the Y axis are considered to be positively correlated with the acceptance of the passion fruit samples, while columns on the negative portion of the Y axis represent the attributes that were negatively correlated with the acceptance of the samples (Gomes et al. 2014; Cadena et al. 2013)

The column size represents the effect (positive or negative) of the attribute on the sample acceptance, and the vertical line represents the 95%

confidence interval. It should be noted that when the vertical line crosses the X axis, the correspondent attribute does not have influence on the drivers of preferences (Gomes et al. 2014)

Furthermore, Fig. 2 shows that the attribute passion fruit flavor affected positively the acceptance of the passion fruit juice samples, while the attribute sweet aftertaste affected negatively. Despite a negative effect of sweet aftertaste was found in mango juice (Cadena et al. 2013), this attribute presented positive effect on vanilla ice creams with reduced fat and sugar (Cadena et al. 2012). A positive effect of fruit flavor was found by Voorpostel et al. (2014) in grape nectar.

According to External Preference Map (Fig 3), the consumers (circles) were close to the samples (squares) with the highest acceptance scores. Most of the consumer groups were near the passion fruit samples with sucrose, aspartame and sucralose, which were characterized by the attribute passion fruit flavor, whose intensity may have influenced consumers acceptance. The neotame was associated with sweet aftertaste, sour taste, sour aftertaste, and adstringency, and stevia was associated with bitter taste, bitter aftertaste, and metallic flavor, which are undesirable descriptors for this sample. Probably the association between these attributes and those that contributed to a better acceptance of the product may have influenced the lower mean scores observed for the samples with neotame and stevia, when compared with the other samples. These results demonstrate that the presence of some types of sweeteners can influence the preference of passion fruit juice by the consumers.

4. Conclusion

According to QDA, the sweeteners aspartame and sucralose showed sensory profile similar to sucrose, once the consumers that participated in the study preferred the samples sweetened with aspartame, sucralose and sucrose, which received the highest scores for the attributes flavor, texture and overall impression.

These results have proven that aspartame and sucralose are the best sucrose substitutes, because these sweeteners presented high intensity of passion fruit flavor, and did not present bitter taste, bitter aftertaste, and metallic taste.

The occurrence of undesirable descriptors (sweet aftertaste, bitter, bitter aftertaste, and metallic taste) is a constant problem when dealing with sweeteners. Thus, more studies are required for developing new sweeteners without these undesirable descriptors.

Acknowledgments

The present study was carried out with the support of the Brazilian Science and Technology Research Council (CNPq). The sweeteners were kindly donated by Ajinomoto®, Tovani-Benzaquen® and Sweet Mix®.

Reference

- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 1997. Fruits juices (16th ed.). Maryland: AOAC International.
- Amerine, M. A.; Pangborn, R. M.; and Roessler, E. B. 1965. *Principles of Sensory Evaluation of Food*. New York: Academic Press.
- Bayarri, S., Martí, M., Carbonell, I., and Costell, E. 2012. Identifying drivers of liking for commercial spreadable cheeses with different fat content. *Journal of Sensory Studies*, 27:1-11

- Bolini-Cardello, H. M. A., Da Silva, M. A. P. A., and Damasio, M. H. 1999. Measurement of the relative sweetness of stevia extract, aspartame and cyclamate/saccharin blend as compared to sucrose at different concentrations. *Plant Foods for Human Nutrition*, 54:119–130.
- Brito, C. A. K.; Bolini, and H. M. A. 2008a. Análise da aceitação de nectar de goiaba por testes afetivos e mapa de preferência interno. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, 2(1): 67-80.
- Brito, C. A. K.; and Bolini, H. M. A. 2008b. Percepção temporal de doçura, amargor e sabor de fruta em nectar de goiaba adoçado com diferentes adoçantes. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, 2(1): 49-66,
- Brito, C. A. K., and Bolini, H. M.A. 2010. Sensory profile of sweeteners in guava nectar. *Alimentos e Nutrição (UNESP. Marília)*, 20:561–572.
- Cadena, R. S. and Bolini, H.M.A. (2012) Ideal and relative sweetness of high intensity sweeteners in mango nectar. *International Journal of Food Science and Technology* , 12, 47, 991–996
- Cadena, R. S., Cruz, A. G., Faria, J. A. F., and Bolini, H. M. A. 2012. Reduced fat and sugar of vanilla ice creams: sensory profiling and external preference mapping. *Journal of Dairy Science*, 95: 4842-4850.
- Cadena, R. S., Cruz, A. G., Netto, R. R., Castro, W. F.; Faria, J. A. F., and Bolini, H. M. A. 2013. Sensory profile and physicochemical characteristics of mango néctar sweetened with high intensity sweeteners throughout storage time. *Food Research International* 54: 1670–1679.
- Cardoso, J. M. P., and Bolini, H. M.A. 2008. Descriptive profile of peach nectar sweetened with sucrose and different sweeteners. *Journal of Sensory Studies*, 23: 804–816.
- Cavallini, D. C. U., and Bolini, H. M.A. 2003. Comparação da percepção temporal de doçura, amargor e sabor de fruta em suco de manga reconstituído e adoçado com sacarose, mistura ciclamato/sacarona 2:1, aspartame, sucralose e estévia. *Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 23: 361–382.
- Cloninger M. R. and Baldwin, R. E. 1974. L-Aspartyl-L-Phenylalanine Methyl Ester (Aspartame) as a sweetener. *Journal of Food Science* .39(2): 347–349
- Damásio, M. H., and Costell, E. 1991. Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptors y selección de catadores. *Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos*, 31:165 -178.
- Deliza, R.; MacFie, H., and Hedderley, D. 2005. The consumer sensory perception of passion-fruit juice using free-choice profiling. *Journal of Sensory Studies* 20: 17–27
- Dutra, M. B. L. and Bolini, H. M. A. 2013 Sensory and physicochemical evaluation of acerola nectar sweetened with sucrose and different sweeteners. *Food Sci. Technol, Campinas*, 33(4): 612-618.
- Etxeberria, E., and Gonzalez, P. 2005. Accumulation of sucrose and other soluble solids in citrus juice cells. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 118: 43–48.
- Fernandes, A. G.; Sousa, P. H. M.; Maia, G. A.; Silva, D. S.; and Santos, S. M. L. 2009. Avaliação sensorial de bebidas de goiaba adoçadas com diferentes agentes adoçantes *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas*, 29(2): 358-364.
- Gomes, C. L.; Pflanzner, S. B., Cruz, A. G., Felício, P. E. and Bolini, H. M. A. 2014. Sensory descriptive profiling and consumer preferences of beef strip loin steaks. *Food Research International* 59: 76–84.

Greene, J. L., Bratka, K. J., Drake, M. A., and Sanders, T. H. 2006. Effectiveness of category and line scales to characterize consumer perception of fruit fermented flavor in peanuts. *Journal of Sensory Studies*, 21: 146-154.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), 2010. Produção agrícola municipal. Culturas temporárias e permanentes, 37.

MacFie, H. J., Bratchell, N., Greenhoff, K., and Vallis, L. V. 1989. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effect in halls tests. *Journal of Sensory Studies*, 4, 129-148.

Malik, A., Jeyarani, T., and Raghavan, B. (2002). A comparison of artificial sweeteners' stability in a lime-lemon flavored carbonated beverage. *Journal of Food Quality*, 25, 1, 75–82.

Marcellini, P. S.; Chainho, T. F.; and Bolini, H. M. A. 2005. Doçura ideal e análise de aceitação de suco de abacaxi concentrado reconstituído adoçado com diferentes edulcorantes e sacarose. *Alimentos e Nutrição*, 16 (2), 177-182.

Meilgaard, M., Civille, G. V., and Carr, B. T. 1999. *Sensory evaluation techniques*. Boca Raton: CRC Press.

Melo, L. L. M. M., Bolini, H. M. A., and Efraim, P. 2009. Sensory profile, acceptability, and their relationship for diabetic/reduced calorie chocolates. *Food Quality and Preference*, 20: 138-143.

Morais, E. C.; Cruz, A. G.; Faria, J. A. F. and Bolini, H. M. A. 2014. Prebiotic gluten-free bread: Sensory profiling and drivers of liking. *LWT - Food Science and Technology*, 55: 248-254.

Moskowitz, H. R. 1983. *Product testing and sensory evaluation of foods: Marketing and RandD approaches*. Westport: Food and Nutrition Press.

O'Mullane, M., Fields, B.; Stanley, G. (2014) Food Additives: Sweeteners. *Encyclopedia of Food Safety*, 2: 477–484

Pinheiro, M.V.S., Oliveira, M.N., Penna, A.L.B.; and Tamime, A.Y. (2005). The effect of different sweeteners in low-calorie yogurts – a review. *International Journal of Dairy Technology*. 58, 193–199.

Portmann, M. O. and Kilcast, D. (1996). Psychophysical characterization of new sweeteners of commercial importance for the EC food industry. *Food Chemistry*, 56, 291–302.

Rocha, I. F. O., and Bolini, H. M. A., (2014) Different sweeteners in passion fruit juice: Ideal and equivalent sweetness, *LWT - Food Science and Technology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.055>

Rossini, K.; Verdun, S.; Cariou, V.; Qannari, E. M. and Fogliatto, F. S. 2012. PLS discriminant analysis applied to conventional sensory profiling data. *Food Quality and Preference*, 23: 18–24.

Sabato, S. S., da Silva, J. M., da Cruz, J. N., Salmieri, S., Rela, P. R., and Lacroix, M. 2009. Study of physical–chemical and sensorial properties of irradiated Tommy Atkins mangoes (*Mangifera indica* L.) in an international consignment. *Food Control*, 20: 284–289.

Sandi, D., Chaves, J. B. P., Parreiras, J. F. M., Souza, A. C. G and Silva, M. T. C. 2003. Sensory quality of yellow passion fruit juice (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) under pasteurization and storage. *Food Res. Proc. Centre Bull.* 21(1): 141–158.

SAS System for Windows (Statistical Analysis System) 2008. version 9.2. Cary, USA: SAS Institute Inc.

Shortt, C. (2014) 8 – Authorised EU health claims for intense sweeteners and sugar replacers *Foods, Nutrients and Food Ingredients with Authorised Eu Health Claims*, 151–176.

Stone, H.; and Oliver, S.M. 1969 Measurement of the Relative Sweetness of Selected Sweeteners and Sweetener Mixtures. *Journal of Food Science*, 34(2): 215–222.

Stone, H. S., Sidel, J. L., Oliver, S., Woosley, A., and Singleton, R. C. 1974. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. *Food Technology*, 28: 24–34.

Stone, H., and Sidel, J. 2004. Sensory evaluation practices (3rd ed.). San Diego: Academic Press.

Tang, C., Heymann, H., and Hsieh, F. 2000. Alternatives to data averaging of consumer preference data. *Food Quality and Preference*, 11: 99–104.

Trevisam Moraes, P. C. B.; and Bolini, H. M. A. (2010) Different sweeteners in beverages prepared with instant and roasted ground coffee: ideal and equivalent sweetness. *Journal of Sensory Studies*, 25, 215-225.

Umbelino, D. C. 2005. Caracterização sensorial por análise descritiva quantitativa e análise tempointensidade de suco e de polpa de manga (mangífera indica l.) adoçados com diferentes edulcorantes. Tese de doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Unicamp.

Voorpostel, C. R.; Dutra, M. B. L. and Bolini, H. M. A. 2014. Sensory profile and drivers of liking for grape nectar among smoker and nonsmoker consumers. *Food Sci. Technol*, Campinas, 34(1): 164-173, Jan.-Mar.

XLSTAT. (2007). XLStat version 2007. 7. Paris, France: Addinsoft SARL.

Artigo 3: Sensibilidade gustativa em pacientes diabéticos tipo 1 e 2 para os cinco gostos básicos em suco de maracujá.

Artigo a ser publicado na revista Food Research International

Izabela Furtado de Oliveira Rocha^{*a}, Arnaldo Moura Neto^b, Maria Cândida Ribeiro Parisi^b, Elizabeth João Pavin^b & Helena Maria André Bolini^a

^aFaculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Alimentos e Nutrição, Universidade de Campinas, R. Monteiro Lobato 80, 6121 Campinas, Brasil

^bDivisão de Endocrinologia, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade de Campinas, UNICAMP, Rua Tessália Vieira de Camargo, 126 - Barão Geraldo, CEP 13084-971, Campinas, São Paulo, Brasil.

*Autor correspondente

E-mail: izabelaforocha@yahoo.com.br (Izabela Furtado de Oliveira Rocha);

Tel.: +55 19 3521-4084; fax: +55 19 3521-3617

E-mail: ejpavin@gmail.com (Elizabeth João Pavin)

E-mail: hellini@fea.unicamp.br (Helena Maria André Bolini).

Resumo

O estudo avaliou a função gustativa de pacientes diabéticos tipo 1 e tipo 2 comparativamente com grupo controle sem diabetes utilizando-se suco de maracujá. Foram estudados 3 grupos: 44 pacientes com DM2, 34 com DM1 e 73 indivíduos sem diabetes. Os *thresholds* de detecção e reconhecimento foram determinados pelo método “*three-alternative-forced-choice*”, com concentrações presentes em ordem crescente (3AFC), utilizando-se cinco gostos básicos em suco de maracujá. Os valores de *threshold* para cada gosto básico em cada um dos grupos avaliados foi calculado como *Best Estimate Threshold*. Realizou-se também análise de regressão linear entre os valores de *threshold* e as variáveis sócio-demográficas, clínicas, presença de comorbidades e complicações crônicas do diabetes. Para análise estatística foi utilizado o programa estatístico SAS (2008). Os resultados demonstraram que nem a duração da doença nem a hemoglobina glicada (HbA1c) apresentaram correlação com a percepção dos gostos básicos nos grupos avaliados; além disso, houve diminuição na função gustativa dos pacientes DM2, em relação ao *threshold* de detecção dos gostos ácido e umami e de reconhecimento dos gostos amargo, ácido, doce e umami. Já os pacientes com DM1 apresentaram prejuízo na detecção e reconhecimento dos gostos doce e umami. A prática de atividade física, Índice de Massa Corpórea (IMC), insulino-terapia, glicemia capilar ao momento do teste e retinopatia foram preditores significativos em relação a percepção dos gostos básicos. O conhecimento desta redução da sensibilidade da percepção dos gostos básicos pelos diabéticos e familiares é importante, pois pode atuar diretamente na seleção e consumo dos alimentos além de melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Inversamente, o desconhecimento dessa condição pode resultar em aumento na ingestão de alimentos específicos, dificultando a obtenção do bom controle glicêmico e predispondo ao aparecimento de complicações crônicas da doença.

Palavras-chave: suco de maracujá, gostos básicos, *threshold*, diabetes *mellitus*.

ABSTRACT

This study evaluated the gustatory function using passion fruit juice in patients with type 1 and type 2 diabetes compared to a control group without diabetes. We studied three groups: 44 patients with type 2 diabetes, 34 with type 1 diabetes and 73 healthy people. The detection and recognition *thresholds* were determined by a three-alternative, forced choice method, with concentrations present in ascending order (3AFC), using five basic tastes in passion fruit juice. The *threshold* values for each basic taste in each group was calculated as the best estimate *threshold* (Senthil&Bhat, 2010; ASTM, 2011). Linear regression analysis between the *threshold* values and sociodemographic variables, clinical, comorbidities and complications associated with diabetes were performed. Statistical analysis was executed using the SAS statistical software. Results showed that neither time of diabetes nor glycated hemoglobin (HbA1c) were correlated with the perception of basic tastes (for bitter, sour, sweet and umami tastes). Furthermore, in type 2 diabetics, detection *threshold* of acid, umami and bitter tastes as well as recognition of sour, sweet and umami tastes were worse. Individuals with DM1 had worse detection and recognition of sweet and umami tastes. Physical activity, Body Mass Index (BMI), HbA1c, insulin dose, blood glucose at the time of the test and retinopathy were significant predictors regarding the perception of basic tastes. Knowledge of this reduced sensitivity to the perception of basic tastes by diabetic patients and their families is important and can improve the quality of life of these patients. Conversely, the lack of this condition may result in increased intake of specific foods by patients, making it difficult to obtain good glycemic control and predisposing to the onset of chronic diabetic complications.

Key-words: passion fruit juice, basic tastes, *threshold*, diabetes mellitus.

1. Introdução

O sentido do paladar desempenha um papel crítico no estado nutricional. O paladar pode afetar a saúde do indivíduo, alterando os hábitos alimentares, o apetite e a ingestão alimentar, além de participar dos mecanismos de regulação envolvidos na aceitação ou rejeição de alimentos e da proteção contra ingestão de substâncias nocivas (Khobragade et al., 2012; Gondivkar et al., 2009).

O sentido do paladar pode ser modificado, e essas alterações são classificadas em hipogeusia (diminuição do paladar), ageusia (perda total), disgeusia (sensação de alteração do paladar), parageusia (distorção gosto com estímulo) e phantogeusia (gosto distorção sem estímulo) (Wrobel, Leopold, 2004). Essas alterações na percepção gustativa podem ser desencadeadas pelos seguintes fatores: 1) problemas nos transportadores dos gostos para os botões gustativos; 2) liberação de substâncias de gosto ruim da cavidade oral ou nasal; 3) destruição de receptores gustativos; 4) lesão dos nervos que inervam os botões gustativos e, 5) distúrbios neurais centrais (Wrobel, Leopold, 2004; Doty, 2012; Bromley, Doty, 2003; Doty et al., 2008).

Vários mecanismos podem contribuir para a perda ou alteração da percepção gustativa, tais como: idade, etnia, uso de drogas para tratamento de outras doenças, consumo de álcool, tabaco, infecções, má higiene oral, deficiências do consumo de certos nutrientes e doenças, como a doença de Alzheimer, doença de Parkinson, hipotireoidismo e diabetes *mellitus* (Khobragade et al., 2012; Wrobel, Leopold, 2004; Daly et al., 2012).

De acordo com a International Diabetes Federation (IDF), o diabetes é uma doença crônica que ocorre quando o organismo não consegue produzir

insulina suficiente e/ou não consegue utilizá-la de forma eficaz. Distúrbios secretórios ou da ação da insulina promovem um estado de hiperglicemia crônica que se não corrigida ao longo do tempo resulta em danos em vários tecidos do corpo, destacando-se cérebro, coração, membros inferiores, retina e rins. Os vasos arteriais são os mais afetados pelo diabetes não tratado levando ao que denominamos de micro e macroangiopatias. Na presença de tais complicações o portador de diabetes pode ter grande prejuízo da sua saúde, já que elas podem resultar em cegueira adquirida, insuficiência renal, neuropatia e pé diabético, além de acidente vascular cerebral e infarto agudo do miocárdio (IDF, 2013).

O Diabetes *Mellitus* tipo 1 (DM1), desencadeado na sua grande maioria por processo autoimune, é mediado por linfócitos T reguladores e resulta da destruição das células β pancreáticas secretoras de insulina; Já no Diabetes *Mellitus* tipo 2 (DM2), há predomínio do estado de resistência insulínica no qual o pâncreas endócrino produz insulina, no entanto, esta produção precisa ser muito maior do que deveria para manutenção de níveis normais de glicemia. Este quadro caracteriza resistência à ação da insulina nos órgãos alvos; com a evolução da doença, as células β vão perdendo sua capacidade secretória e o mecanismo compensatório é incapaz de manter os níveis glicêmicos na faixa da normalidade levando à hiperglicemia (IDF, 2013).

Stolbova et al., (1999) e Ship (2003) demonstraram que adultos portadores de diabetes podiam apresentar hipogeusia ou percepção gustativa diminuída com consequente hiperfagia e obesidade, assim como inibição da capacidade de manter uma dieta adequada com prejuízo no controle glicêmico. O não controle metabólico da doença poderia resultar em aumento da

incidência e progressão das complicações relacionadas ao diabetes (Ship, 2003).

Os relatos disponíveis sobre as possíveis alterações da função gustativa em diabetes *mellitus* tipo 1 e tipo 2 mostram-se contraditórios em muitos aspectos, justificando a necessidade de mais estudos para melhor a compreensão desta associação (Gondivkar, et al., 2009). Somado a isto, tais estudos avaliaram a percepção gustativa somente em solução aquosa, e não em matrizes alimentares, o que pode comprometer os resultados obtidos.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a função gustativa de pacientes portadores de DM1 e DM2 por meio dos valores de *threshold* de reconhecimento e detecção dos cinco gostos básicos em suco de maracujá. Bem como possíveis correlações destas alterações de gosto com variáveis sócio demográficas, clínicas, presença de comorbidades e complicações crônicas do diabetes.

2. Metodologia

2.1 Sujeitos

O estudo foi realizado com 164 sujeitos com idade entre 18 e 65 anos, divididos em três grupos: 44 pacientes portadores de DM tipo 2 (19 homens e 25 mulheres); 34 pacientes portadores de DM tipo 1 (12 homens e 23 mulheres) e, grupo controle com 73 indivíduos (12 homens e 61 mulheres) sem diabetes selecionados e convidados para participar do estudo no próprio Hospital das Clínicas, Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp, e moradores da cidade de Campinas (Brasil). O estudo foi do tipo transversal, observacional e os pacientes diabéticos foram selecionados durante a consulta

de rotina nos ambulatórios especializados de diabetes tipo 1 e tipo 2 do Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (Campinas, Brasil) entre janeiro 2013 e julho de 2014.

2.1.1 Critérios de Inclusão

- Ser portador de diabetes *mellitus* tipo 1, ou tipo 2 de acordo com os seguintes critérios da American Diabetes Association (ADA): HbA1C $\geq$ 6,5% ou glicose plasmática em jejum (no mínimo de 8 horas) $\geq$ 126mg/dL (7,0mmol / L) ou glicose plasmática de 2 horas $\geq$ 200mg/dL (11,1 mmol / L) após a ingestão de 75 gr de glicose por via oral, teste conhecido como GTT oral (Teste de Tolerância a Glicose), ou glicose plasmática aleatória $\geq$ 200mg/dL (11,1 mmol / L) na presença de 2 ou mais sintomas compatíveis com diabetes descompensado tais como: podipsia, poliúria, emagrecimento (ADA, 2013).
- Ter entre 18 e 65 anos de idade;
- Ser portador de diabetes há pelo menos 1 ano;
- Ser acompanhado no Serviço de Endocrinologia da Unicamp há pelo menos 6 meses.

2.1.2 Critérios de Exclusão

- Ter menos de 18 anos;
- Pacientes tabagistas ou etilistas (bebedor excessivo, cuja dependência em relação ao álcool é acompanhada de perturbações mentais, da saúde física, da relação com os outros e do comportamento social e econômico) (WHO, 2004);
- Pacientes diabéticas gestantes ou lactantes;

- Pacientes em uso de drogas imunossupressores devido a realização de transplantes de órgãos ou em quimioterapia ou radioterapia por algum tipo de neoplasia.

2.2. Cálculo Amostral

Para o cálculo do tamanho da amostra foi utilizada a comparação das variáveis numéricas entre os 3 grupos, fixando α em 5% e β em 20% (poder da amostra de 80%). As variáveis foram transformadas em postos (ranks) nos cálculos devido à ausência de distribuição normal das variáveis.

A aprovação do estudo foi obtida pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade de Campinas (parecer nº 25968, de 03/05/2012), e a participação no estudo se deu mediante a leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

2.3. Características clínicas e laboratoriais dos pacientes diabéticos

Os dados que seguem foram obtidos através da pesquisa dos prontuários dos pacientes.

- Gênero e idade.
- Peso (kg), altura (m), IMC (Índice de Massa Corporal): calculado através da fórmula $\text{peso}/\text{altura}^2$ (kg/m^2).
- Duração do diabetes (em anos).
- Controle metabólico da doença obtido através da média das 3 últimas avaliações de análise de Hemoglobinas A1c (HbA1c), Método: Cromatografia em Coluna de troca iônica em sistema de HPLC, valor referencia: 4 – 6%.
- Tratamento do Diabetes

- Drogas orais como secretagogos do tipo sulfoniluréias: glibenclamida, glicazida, glimepirida e amplificadores da ação da insulina (metformina).
- Insulina: tipo NPH, Regular, Análogos de Insulina (plana e ultra-rápida), dose (em Unidades) por via subcutânea.
- Associação de drogas orais e insulina;
- Presença de comorbidades: hipertensão arterial sistêmica (indivíduos com pressão sistólica > 130mmHg e/ou pressão diastólica > 85mmHg) (ADA, 2010), dislipidemia (alterações do perfil lipídico, incluindo colesterol total > 200mg/dL, triglicerídeos > 150mg/dL, colesterol de lipoproteína de alta densidade baixo (HDL-c) < 50 mg/dL e níveis elevados de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) >100 mg/dL) (ADA, 2013), disfunção tireoidiana como hipotireoidismo franco diagnosticado por diminuição dos níveis de T4Livre (T4L), método Imunoensaio competitivo por quimioluminescência (VR: 0,6 a 1,3 ng/dL) e aumento dos níveis de TSH ultra-sensível (TSHUs), método eletroquimioluminométrico de terceira geração (VR: 0,45 – 4,5 mUI/L) ou hipertireoidismo franco (aumento dos níveis de T4L e diminuição dos níveis de TSHUs),
- Complicações crônicas do diabetes: retinopatia diagnosticada através do exame de retina realizado anualmente por oftalmologistas do HC-Unicamp; nefropatia diagnosticada pela presença do aumento da excreção urinária de albumina em urina isolada da manhã (níveis entre 30 a 299mg/g de creatinina), neuropatia sensitivo-motora definida como diminuição ou perda das sensibilidades tátil, térmica, vibratória e/ou dolorosa e diagnosticada utilizando-se o teste de percepção vibratória através de diapasão de 128 Hz em 2 pontos dos pés (base do hálux e maléolo); teste de pressão através de monofilamento

de 10g da SemmesWeinstein em 7 locais de ambos os pés; e pesquisa dos reflexos dos tendões de Aquiles. A irrigação arterial adequada dos pés foi determinada através da palpação dos pulsos arteriais pediosos e tibiais posteriores (ADA, 2010).

- Uso de outros medicamentos que não para o diabetes: Antidepressivos (Amitriptilina), Anti-hipertensivos (diuréticos como furosemida e tiazídicos, inibidores da enzima conversora de angiotensina como captopril e enalapril, antagonistas do receptor de angiotensina como losartana, bloqueadores de canal de cálcio como nifedipina e betabloqueadores como propranolol), Agentes antivirais (Aciclovir e Amantadina), Agentes hipolipemiantes (Atorvastatina e Lovastatina), Enzimas Pancreáticas (Pancrelipase), Drogas para disfunções tireoidianas (Levotiroxina, Propiltiouracil) (Naik, Shetty, Maben; 2010).

2.4. Glicemia capilar ao momento dos testes gustativos

Avaliamos a glicemia capilar ao momento dos testes dos 5 gostos por meio de uma gota de sangue obtida através de punção do dedo indicador dos pacientes utilizando-se glicosímetro da marca One-Touch®.

2.5. Covariáveis

As variáveis demográficas incluíram: grau de escolaridade, estado civil e procedência. Os fatores de estilo de vida avaliados foram: frequência de atividade física (sim ou não), prótese dentária (sim ou não), alergia do trato respiratório (sim ou não) e doenças digestivas (sim ou não). Foi considerado

praticante de atividade física o indivíduo que praticava algum tipo de exercício no mínimo 150min/semana de acordo com Sigal et al. (2006) e ADA (2010).

2.6 Estímulo

Cinco gostos básicos foram avaliados: doce (sucralose), ácido (ácido cítrico), salgado (cloreto de sódio), amargo (cafeína) e umami (glutamatomonossódico) em suco de maracujá. Para cada gosto básico, oito concentrações foram preparadas (com fator de multiplicação de 1,6) e o suco de maracujá foi preparado seguindo a diluição de 1 parte de suco concentrado (Da Fruta®) para 6 parte de água. A **Tabela 1** demonstra as concentrações utilizadas nos cinco gostos básicos.

Tabela1: Séries de diluições para cada gosto básico

Gostos Básicos	Salgado	Amargo	Ácido	Doce	Umami
Substâncias de Referência	Cloreto de Sódio	Cafeína anidra	Ácido Cítrico monohidratado	Sucralose	Glutamato Monossódico
M (mol/L)	58,44	194,19	210,14	397,64	187,13
Diluições (mM)					
D1	3,5934	0,2013	3,7475	0,0065	1,0153
D2	5,8179	0,3218	5,9960	0,0105	1,6245
D3	9,2402	0,5149	9,5936	0,0168	2,5992
D4	14,8870	0,8239	15,3497	0,0266	4,1586
D5	23,9561	1,3182	24,5593	0,0427	6,6541
D6	38,3299	2,1092	39,2952	0,0684	10,6466
D7	61,2594	3,3750	62,8723	0,1096	17,0346
D8	98,0492	5,3998	100,5963	0,1755	27,2553
Diluições (g/L)					
D1	0,2100	0,0391	0,7875	0,0026	0,1900
D2	0,3400	0,0625	1,2600	0,0042	0,3040
D3	0,5400	0,1000	2,0160	0,0067	0,4864
D4	0,8700	0,1600	3,2256	0,0106	0,7782
D5	1,4000	0,2560	5,1609	0,0170	1,2452
D6	2,2400	0,4096	8,2575	0,0272	1,9923
D7	3,5800	0,6554	13,2120	0,0436	3,1877
D8	5,7300	1,0486	21,1393	0,0698	5,1003

Todas as soluções foram preparadas no dia anterior ao teste e estocadas a 3°C e mantidos em temperatura ambiente no momento do teste. Os provadores receberam 20mL de cada estímulo em copos plásticos codificados com algarismos de 3 dígitos.

2.7 Threshold

O *threshold* de detecção e reconhecimento para todos os gostos básicos foi avaliado de acordo com *three-alternative-forced-choice*, com concentração presente em ordem ascendente (3AFC) (ASTM, 2011). *Threshold* de detecção é a menor concentração que cada gosto básico pode ser detectado. O provador pode apenas detectar a presença do gosto básico, mas não pode identificar a qualidade do gosto avaliado. O *threshold* de reconhecimento é a menor concentração que cada gosto básico pode ser reconhecido. Nesse

threshold o provador pode perceber qual a qualidade do gosto avaliado (ASTM, 2011).

Para cada um dos voluntários, oito tríades foram apresentadas em cada sessão com intervalo mínimo de 15 minutos entre cada apresentação. Cada tríade foi formada com duas amostras brancas (com apenas suco de maracujá) e uma amostra-teste (com suco de maracujá e um dos gostos básicos). Ao julgador foi solicitado a provar as amostras da esquerda para a direita e indicar qual a amostra diferente (*threshold* de detecção). Em seguida, era questionado em que essa amostra se difere das outras, ou seja, se o indivíduo era capaz de reconhecer essa diferença (*threshold* de reconhecimento) entre as amostras avaliadas (qual o gosto básico presente). Se o julgador não fosse capaz de identificar o gosto, era apresentada outra tríade de amostras com a concentração imediatamente superior do gosto básico (Tabela 1) avaliado.

O *threshold* de detecção é a menor concentração que cada gosto básico pode ser detectado, sem necessariamente ser identificado. Já o *threshold* de reconhecimento é a menor concentração que o gosto básico pode ser reconhecido (ASTM, 2011; MEILGAARD et al., 1999).

Os testes foram concluídos quando o provador ou completava a avaliação de todas as concentrações da escala (Tabela 1), ou quando chegasse a uma tríade em que o estímulo fosse reconhecido corretamente, em seguida, continuava a escolher corretamente a amostra que possuía uma concentração mais elevada desse gosto básico estudado (ASTM, 2011).

A ordem de apresentação das amostras em cada tríade foi balanceada, e as concentrações de cada gosto básico foram apresentadas em ordem

crescente. Os valores foram calculados como o *Best Estimate Threshold* (Senthil, Bhat; 2011; ASTM, 2011).

2.8 Avaliação dos dados e análise estatística

O *Best Estimate Threshold* (BET) foi utilizado para calcular o *threshold* individual, que corresponde a um valor de concentração interpolada, mas não necessariamente o valor de concentração que foi realmente identificada pelo julgador. Esse valor corresponde a média geométrica da última concentração identificada e a concentração seguinte (adjacente) inferior (ASTM, 2011).

Para aqueles indivíduos em que a concentração mais baixa foi corretamente identificada, a sua BET foi estimada como a média geométrica da concentração mais baixa e a hipotética próxima concentração inferior. Para aqueles que não puderam identificar/reconhecer o estímulo avaliado, utilizou-se a hipotética próxima concentração mais elevada. Assim, a BET foi estimada como a média geométrica da concentração mais elevada testada no estudo e a próxima concentração, caso a série de concentrações tivesse sido estendida (Senthil, Bhat; 2010; ASTM, 2011). Em seguida, calculou-se a BET de cada grupo avaliado (DM1, DM2 e controle) para cada gosto básico, como a média geométrica de cada BET individual (Senthil, Bhat; 2011; ASTM, 2011).

Para descrever o perfil da amostra segundo as variáveis em estudo foram feitas tabelas de frequência das variáveis categóricas com valores de frequência absoluta (n) e percentual (%), e estatísticas descritivas das variáveis numéricas com valores de média, desvio padrão, valores mínimo, máximo e mediana.

Para comparação dos resultados da percepção dos gostos entre os grupos foi utilizada a análise de variância (ANOVA), seguido do teste post-hoc de Tukey ($p \leq 0.05$) para identificação da diferença entre os grupos. Para a análise da relação entre os fatores estudados e os resultados da percepção dos gostos foi utilizada a análise de regressão linear. As variáveis foram transformadas em postos (ranks) devido a ausência de distribuição normal.

Para comparação dos resultados da percepção dos gostos entre os valores das glicemias ao momento dos testes e as taxas de hemoglobina glicada entre os grupos de diabéticos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis. Quando o teste apresentou diferença significativa, foi utilizado o teste post-hoc de Dunn para identificação dessa diferença.

O programa computacional SAS (2008) foi utilizado para a análise estatística.

3. Resultados

3.1 Características clínico-laboratoriais e sócio-demográficas

As características clínico-laboratoriais e sócio-demográficas de cada grupo estão descritas na **Tabela 2**.

O sexo feminino prevaleceu em todos os grupos avaliados (56,8%; 65,7% e 83,6%, respectivamente para os diabéticos tipo 1, tipo 2 e grupo controle), com diferença significativa ($p < 0.05$).

Dos 44 pacientes DM2, 32 (74,41%) eram casados e 60,46% possuíam apenas o Ensino Fundamental. Diferentemente, 31,42% dos diabéticos tipo 1 eram casados e 71,42% cursavam o ensino médio.

A idade média do grupo DM2 ($57,14 \pm 5,25$) foi superior ($p < 0,001$) a dos outros grupos: $32,54 \pm 7,03$ e $37,34 \pm 14,10$ para DM1 e grupo controle respectivamente.

Em relação ao Índice de Massa Corporal (IMC) e ao uso de prótese dentária ambos foram maiores nos pacientes com DM2 ($31,22 \pm 6,99$ e $81,40\%$) quando comparados aos diabéticos tipo 1 ($26,36 \pm 5,54$ e $28,57\%$) e aos controles ($24,65 \pm 4,38$ e $23,29\%$).

Ambos os grupos de diabéticos apresentaram valores de Hemoglobina glicada superiores a 7% (DM1: $8,2\%$ e DM2: $8,8\%$), apontando para um controle metabólico inadequado da doença.

Quando se analisou as médias das glicemias capilares realizadas ao momento dos testes, observou-se que os valores foram muito semelhantes nos 2 grupos de diabéticos (aproximadamente 190mg/dL). No grupo controle esta média foi de $121,3 \pm 33,8$, valor considerado normal já que os indivíduos não estavam em jejum de 8 horas.

Em relação ao Índice de Massa Corporal ($26,36 \pm 5,54$; $31,22 \pm 6,99$ e $24,65 \pm 4,38$), uso de prótese dentária ($28,57\%$, $81,40\%$ e $23,29\%$), desordens digestivas ($39,53\%$, $11,43\%$ e $17,81\%$), hipertensão arterial ($50,00\%$, $88,64\%$ e $5,48\%$), dislipidemia ($55,88\%$, $84,09\%$ e $8,22\%$) e disfunções tireoidianas ($35,29\%$, $22,73\%$ e $9,59\%$) houve diferença significativa entre os grupos avaliados (DM1, DM2 e controle respectivamente).

Tabela 2. Características clínico-laboratoriais e sócio-demográficas dos grupos DM1, DM2 e controle.

	DM1 n=35	DM2 n=44	Controle n=73	P valor
Gênero				
Feminino	23 (65,71%)	25 (56,82%)	61 (83,56%)	0,0053
Idade (anos)	32,54 ± 7,03	57,14 ± 5,25	37,34 ± 14,10	<0,0001
Duração do diabetes (anos)	14,56 ± 8,97	19,49 ± 8,71	-----	
IMC (kg/m²)	26,36 ± 5,54	31,22 ± 6,99	24,65 ± 4,38	<0,0001
HbA1c (%)				
<7,0%	4 (11,42%)	8 (18,18%)	-----	
>7,0%	31 (88,57%)	36 (81,82%)	-----	
Glicemia capilar (mg/dL) ao momento do teste	190,29(52,86)	189,16(64,85)	121,26(33,77)	
Grau de escolaridade				
Fundamental	5 (14,27%)	26 (60,46%)	7 (9,71%)	
Médio	25 (71,42%)	10 (23,25%)	18 (24,99%)	
Superior	5 (14,27%)	7 (16,28%)	47 (65,27%)	
Estado Civil				
Solteiro	20 (57,14%)	5 (11,62%)	37 (50,68%)	
Casado	11 (31,42%)	32 (74,41%)	30 (41,09%)	
Divorciado	3 (8,57%)	2 (4,65%)	1 (1,36%)	
Viúvo	1 (2,86%)	4 (9,30%)	5 (6,84%)	
Frequência de atividade física	16 (45,71%)	26 (59,09%)	45 (61,64%)	0,2809
Prótese dentária	10 (28,57%)	35 (81,40%)	17 (23,29%)	<0,0001
Alergia de vias aéreas superiores	13 (30,95%)	8 (22,86%)	11 (15,07%)	0,1306
Desordens digestivas	17 (39,53%)	4 (11,43%)	13 (17,81%)	0,0068
Hipertensão Arterial	17 (50,00%)	39 (88,64%)	4 (5,48%)	<0,0001
Dislipidemia	19 (55,88%)	37 (84,09%)	6 (8,22%)	<0,0001
Disfunções Tireoidianas	12 (35,29%)	10 (22,73%)	7 (9,59%)	0,0056

Os dados são demonstrados como média (desvio padrão) ou em número de respostas (porcentagem)

Em relação às complicações crônicas do diabetes mellitus, observou-se que não houve diferença significativa entre os grupos DM1 e DM2, de acordo com o exposto na **Tabela 3**.

Tabela 3: Comorbidades e Complicações Crônicas associadas ao DM

	DM1 n=35	DM2 n=44	P
Retinopatia	19 (55,88%)	20 (45,45%)	0,3611
Nefropatia	20 (58,82%)	23 (52,27%)	0,5641
Neuropatia	13 (38,24%)	18 (40,91%)	0,8109
Doença Vascular Periférica	0 (0,00%)	3 (6,82%)	0,2527
Infarto Agudo do Miocárdio	0 (0,00%)	3 (6,82%)	0,2527

Os dados são demonstrados em número de respostas (porcentagem)

3.2 Comparativos entre os dados de threshold para os cinco gostos básicos entre DM1, DM2 e grupo controle.

Os resultados da **Tabela 4** e a **Figura 1** demonstram os valores de *threshold* comparativamente entre os grupos de DM1, DM2 e controle. Inicialmente a avaliação desses dados foi feita sem ajuste, e em seguida, este ajuste foi feito em relação às seguintes variáveis: idade, sexo, uso de medicamentos, tais como anti-hipertensivos entre outros, anti-dislipidemia, e para tratamento de disfunções tireoidianas. Tal ajuste foi necessário, pois a idade dos pacientes, a utilização de medicamentos e o predomínio do sexo feminino nos 3 grupos poderiam interferir nos resultados, independentemente da presença do Diabetes Mellitus.

Tabela 4: Comparativo entre os dados de *threshold* para os cinco gostos básicos entre DM1, DM2 e grupo controle sem ajuste e ajustado por idade, sexo e uso de medicamentos.

Gostos Básicos	DM1 n=35 g/L	DM2 n=44 g/L	Controle n=73 g/L	P*	P ajustado**
Salgado					
Detecção	0,83(0,59)	1,32(1,22)	0,94(0,65)	0,0409^c	0,3372
Reconhecimento	1,23(0,62)	1,86(1,26)	1,30(0,70)	0,0058^{bc}	0,0804
Amargo					
Detecção	0,20(0,12)	0,42(0,33)	0,25(0,23)	0,0014^{bc}	0,2476
Reconhecimento	0,38(0,30)	0,55(0,33)	0,34(0,24)	0,0021^{bc}	0,0033^{bc}
Ácido					
Detecção	1,93(1,54)	2,94(2,80)	1,53(1,00)	0,0011^{bc}	0,0008^{bc}
Reconhecimento	2,80(1,82)	3,64(3,18)	1,98(1,26)	0,0004^{bc}	0,0002^b
Doce					
Detecção	0,01(0,01)	0,01(0,01)	0,02(0,04)	0,0356^a	0,0282^a
Reconhecimento	0,02(0,01)	0,01(0,01)	0,02(0,05)	0,0003^a	0,0063^{ab}
Umami					
Detecção	0,72(0,61)	1,06(1,30)	0,48(0,47)	0,0102^a	0,0035^{ab}
Reconhecimento	1,23(1,07)	1,63(1,37)	0,72(0,53)	0,0001^b	0,0175^{ab}

Os dados são demonstrados como médias (desvio padrão)

*p valor referente aos dados brutos, **p valor referente aos dados ajustados por idade, sexo e uso de medicamentos.

^aDM1 vs. controle; ^bDM2 vs. controle; ^cDM1 vs. DM2

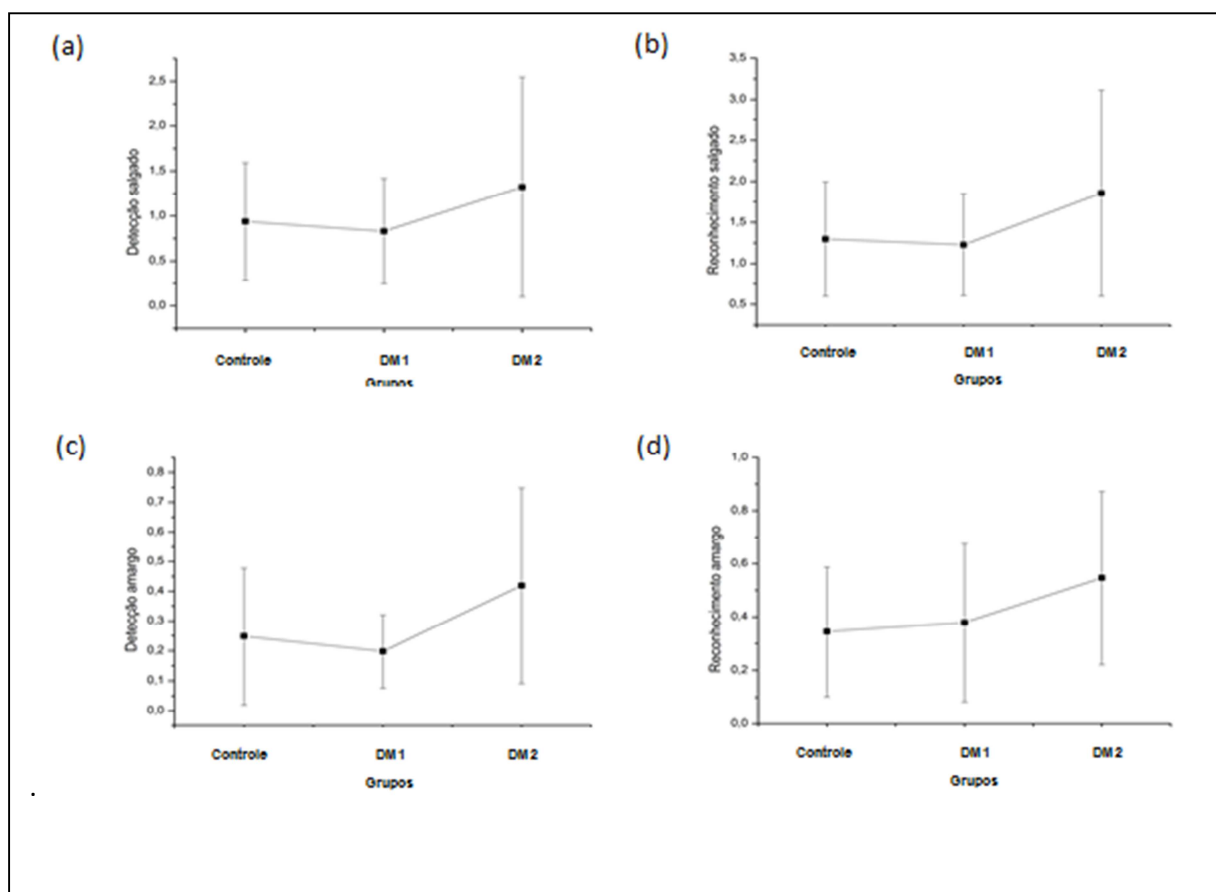


Figura 1: Média dos valores de *threshold* (g/L) para (a) detecção e (b) reconhecimento do gosto salgado, (c) detecção e (d) reconhecimento do gosto amargo

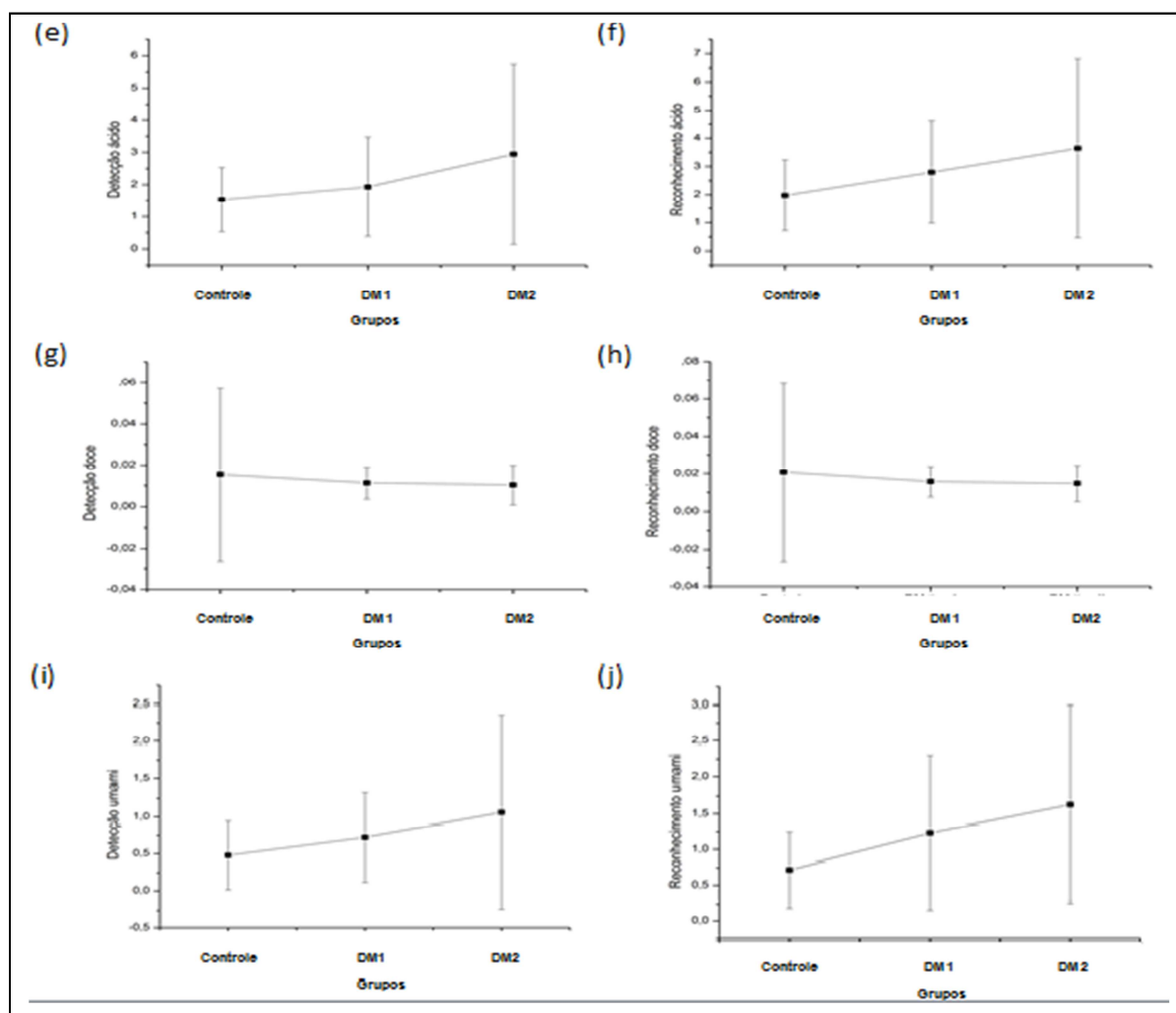


Figura 1: Média dos valores de *threshold* (g/L) para (e) detecção e (f) reconhecimento do gosto ácido, (g) detecção e (h) reconhecimento do gosto doce e (i) detecção e (j) reconhecimento do gosto umami

Em relação aos indivíduos com DM2 identificamos menor capacidade de reconhecimento do gosto amargo, ácido, doce e umami e menor detecção do gosto ácido e umami em suco de maracujá comparativamente aos indivíduos do grupo com DM1. Entretanto, em relação ao reconhecimento do gosto amargo e detecção do gosto ácido, os indivíduos com DM2 apresentaram valores de *threshold* significativamente superiores ($p < 0.05$) quando comparado ao DM1.

Os dados da **Tabela 4** demonstram diminuição da sensibilidade dos diabéticos tipo 1 em relação aos controles para o gosto doce (reconhecimento e detecção) e umami (reconhecimento) em suco de maracujá.

O gosto salgado (detecção e reconhecimento) e a detecção do gosto amargo foram os únicos que não apresentaram diferença significativa entre os grupos avaliados, quando são considerados os dados ajustados para idade, sexo e uso de medicamento (Tabela 4).

3.3 Análise multivariada entre a percepção dos gostos básicos e IMC, HbA1c, duração do DM, glicemia capilar ao momento do teste, atividade física, complicações do diabetes e insulinoterapia para os grupos DM1, DM2 e controle

A análise de regressão linear dos resultados de *threshold* para os cinco gostos básicos comparativamente ao IMC, Hemoglobina glicosilada, duração da doença, glicemia capilar ao momento do teste, atividade física, complicações do diabetes e insulinoterapia, em relação aos 3 grupos estudados: DM1, DM2 e controle, estão dispostos nas **Tabelas 5a, 5b, 5c, 5d e 5e**.

Tabela 5a: P-valor referentes à análise de regressão univariada entre a percepção do gosto salgado e as variáveis IMC, HbA1c, duração da doença, glicemia capilar ao momento do teste, atividade física, complicações do DM e insulino terapia para os 3 grupos estudados: DM1, DM2 e controle

Variáveis	DM1 n=35		DM2 n=44		Controle n=73	
	DT	RT	DT	RT	DT	RT
IMC	0,7837	0,3661	0,3266	0,0929	0,7843	0,9502
HbA1c	0,9153	0,9449	0,5070	0,0315	-----	-----
Duração da doença	0,7402	0,5873	0,3217	0,5720	-----	-----
Glicemia capilar ao momento do teste	0,3520	0,0868	0,7644	0,7329	0,2978	0,1896
Atividade física	0,0005	0,0240	0,0831	0,6271	0,6853	0,5972
Retinopatia	0,5771	0,1782	0,1309	0,0877	-----	-----
Nefropatia	0,6794	0,9780	0,4305	0,3517	-----	-----
Neuropatia	0,6785	0,2405	0,3891	0,5073	-----	-----
Insulina Basal (NPH)	0,2136	0,2780	0,0359	0,5618	-----	-----
Insulina Bolus (Regular)	0,0847	0,1341	0,3313	0,6812	-----	-----
Dose total de insulina	0,468	0,345	0,531	0,890	-----	-----

DT = *Threshold* de Detecção, RT= *Threshold* de Reconhecimento - Gosto Salgado

Tabela 5b: P-valor referentes à análise de regressão univariada entre a percepção do gosto amargo e as variáveis IMC, HbA1c, duração do DM, glicemia capilar ao momento do teste, atividade física, complicações do DM e insulino terapia para os 3 grupos estudados: DM1, DM2 e controle

Variáveis	DM1 n=35		DM2 n=44		Controle n=73	
	DT	RT	DT	RT	DT	RT
IMC	0,0239	0,0091	0,5989	0,9702	0,7020	0,2222
Hemoglobina glicada	0,8850	0,1798	0,3626	0,8758	-----	-----
Duração da doença	0,7326	0,1074	0,9679	0,6066	-----	-----
Glicemia capilar ao momento do teste	0,6893	0,8393	0,7251	0,5996	0,3354	0,3155
Atividade física	0,9053	0,6060	0,8986	0,9941	0,6453	0,4080
Retinopatia	0,9779	0,2507	0,0374	0,0999	-----	-----
Nefropatia	0,3543	0,4857	0,9648	0,8802	-----	-----
Neuropatia	0,9821	0,9671	0,0996	0,2434	-----	-----
Insulina Basal (NPH)	0,8592	0,2768	0,3149	0,5555	-----	-----
Insulina Bolus (Regular)	0,8270	0,2704	0,8055	0,9616	-----	-----
Dose total de insulina	0,9180	0,9090	0,545	0,2882	-----	-----

DT = *Threshold* de Detecção, RT= *Threshold* de Reconhecimento - Gosto Amargo

Tabela 5c: P-valor referentes à análise de regressão univariada entre a percepção do gosto ácido e as variáveis IMC, HbA1c, duração do DM, glicemia capilar ao momento do teste, atividade física, complicações do DM e insulinoterapia para os 3 grupos estudados: DM1, DM2 e controle

Variáveis	DM1 n=35		DM2 n=44		Controle n=73	
	DT	RT	DT	RT	DT	RT
IMC	0,1457	0,4758	0,0639	0,0969	0,0315	0,0054
HbA1c	0,5002	0,5482	0,2983	0,2125	-----	-----
Duração da doença	0,7809	0,9409	0,4590	0,9446	-----	-----
Glicemia capilar ao momento do teste	0,6650	0,8786	0,1128	0,2983	0,9025	0,3660
Atividade física	0,2839	0,2601	0,4036	0,0166	0,8529	0,2666
Retinopatia	0,2014	0,3000	0,7731	0,9612	-----	-----
Nefropatia	0,7048	0,3816	0,4913	0,1869	-----	-----
Neuropatia	0,3581	0,4845	0,7416	0,1115	-----	-----
Insulina Basal (NPH)	0,5859	0,1350	0,9673	0,2797	-----	-----
Insulina Bolus (Regular)	0,9043	0,3282	0,4039	0,8739	-----	-----
Dose total de insulina	0,0410	0,2360	0,512	0,8530	-----	-----

DT = *Threshold* de Detecção, RT= *Threshold* de Reconhecimento – Gosto Ácido

Tabela 5d: P-valor referentes à análise de regressão univariada entre a percepção do gosto doce e as variáveis IMC, HbA1c, duração do DM, glicemia capilar ao momento do teste, atividade física, complicações do DM e insulinoterapia para os 3 grupos estudados: DM1, DM2 e controle

Variáveis	DM1 n=35		DM2 n=44		Controle n=73	
	DT	RT	DT	RT	DT	RT
IMC	0,8557	0,8612	0,8627	0,9870	0,3527	0,2444
HbA1c	0,6154	0,9870	0,9861	0,2607	-----	-----
Duração da doença	0,0731	0,0624	0,1955	0,1049	-----	-----
Glicemia capilar ao momento do teste	0,6467	0,2865	0,8224	0,7479	0,9646	0,4851
Atividade física	0,4437	0,3993	0,5531	0,2056	0,9761	0,8797
Retinopatia	0,1318	0,2061	0,2733	0,8509	-----	-----
Nefropatia	0,5616	0,5101	0,9001	0,9508	-----	-----
Neuropatia	0,6879	0,1017	0,1528	0,8054	-----	-----
Insulina Basal (NPH)	0,6649	0,2131	0,5549	0,5922	-----	-----
Insulina Bolus (Regular)	0,8274	0,1166	0,5840	0,2838	-----	-----
Dose total de insulina	0,5450	0,6020	0,4950	0,649	-----	-----

DT = *Threshold* de Detecção, RT= *Threshold* de Reconhecimento – Gosto Doce

Tabela 5e: P-valor referentes à análise de regressão univariada entre a percepção do gosto umami e as variáveis IMC, HbA1c, duração do DM, glicemia capilar ao momento do teste, atividade física, complicações do DM e insulino terapia para os 3 grupos estudados: DM1, DM2 e controle

Variáveis	DM1 n=35		DM2 n=44		Controle n=73	
	DT	RT	DT	RT	DT	RT
IMC	0,9131	0,4135	0,6867	0,5425	0,0194	
HbA1c	0,8315	0,9789	0,8905	0,6404	-----	-----
Duração da doença	0,7007	0,6361	0,9215	0,8254	-----	-----
Glicemia capilar ao momento do teste	0,5206	0,7480	0,0439	0,0697	0,4655	
Atividade física	0,5589	0,6404	0,2182	0,3674	0,1274	
Retinopatia	0,5874	0,8411	0,0228	0,0192	-----	-----
Nefropatia	0,9620	0,8790	0,4835	0,5751	-----	-----
Neuropatia	0,8344	0,0638	0,4036	0,7993	-----	-----
Insulina Basal (NPH)	0,5759	0,7724	0,9434	0,2824	-----	-----
Insulina Bolus (Regular)	0,5072	0,5409	0,5621	0,1460	-----	-----
Dose total de insulina	0,4130	0,3390	0,3410	0,2670	-----	-----

DT = *Threshold* de Detecção, RT= *Threshold* de Reconhecimento – Gosto Umami

A regressão univariada das variáveis revelou que o fator prática de atividade física foi preditor significativo e positivo para o gosto salgado (**Tabela 5a**) ($p=0,0005$ para detecção e $p=0,0240$ para reconhecimento) nos indivíduos com DM1 e para o gosto ácido (**Tabela 5c**) ($p=0,0166$ para reconhecimento) no DM2, indicando que os pacientes pertencentes a estes grupos que não praticavam regularmente exercícios físicos detectaram menos o gosto salgado e reconheceram menos os gostos salgado e ácido.

De forma semelhante, o IMC foi um preditor significativamente positivo para a percepção gustativa do gosto amargo em DM1 (**Tabela 5b**) ($p=0,0239$ para detecção e $p=0,0091$ para reconhecimento); entretanto, verificou-se um preditor negativo para o grupo controle nos gostos ácido (**Tabela 5c**) ($p=0,0315$ para detecção e $p=0,0054$ para reconhecimento) e umami (**Tabela 5e**) ($p=0,0194$ para detecção e $p=0,0093$ para reconhecimento).

O tempo de diabetes e as taxas de HbA1c para os gostos amargo, ácido, doce e umami não se correlacionaram de forma significativa para a percepção dos gostos básicos nos grupos avaliados.

Similarmente, para o reconhecimento do gosto salgado em diabéticos tipo 2, as taxas de HbA1c foram preditoras significativamente positivas (**Tabela 5a**) ($p=0,0315$) para os valores de *threshold* de reconhecimento, indicando que quanto menor o valor da HbA1c, menor a capacidade de reconhecimento do gosto salgado neste grupo de pacientes.

A retinopatia foi preditora significativamente negativa para o reconhecimento dos gostos umami (**Tabela 5e**) ($p= 0,0228$) e amargo (**Tabela 5b**) ($p= 0,0374$) e para a detecção do gosto umami (**Tabela 5e**) ($p= 0,0192$), utilizando-se suco de maracujá entre pacientes com DM2.

Em relação à insulinoterapia, o tratamento com insulina basal foi preditor significativamente positivo apenas para a detecção do gosto salgado (**Tabela 5a**) ($p= 0,0359$) em suco de maracujá em pacientes com DM2. Desta forma, pode-se inferir que pacientes que não fazem uso de insulina basal apresentam maior tendência para reconhecimento do gosto salgado. Quando se avaliou a dose total de insulina, observou-se que a mesma foi preditora positiva para o *threshold* de detecção do gosto ácido em suco de maracujá em pacientes com DM1. Esse resultado demonstra que quanto maiores as doses de insulina utilizadas para o tratamento do paciente diabético, maior a dificuldade para detectar o gosto ácido.

O valor da glicemia capilar ao momento dos testes revelou que o mesmo é um preditor significativo apenas para o gosto umami em suco de maracujá, indicando que quanto maior a glicemia capilar, menor é a capacidade de

detecção do gosto umami em diabéticos tipo 2 (Tabela 5e) ($p=0,0439$) e menor a capacidade de reconhecimento desse mesmo gosto para o grupo controle (Tabela 5e) ($p=0,0077$).

4. Discussão

A ocorrência de alterações na função gustativa pode estar associada a diversos fatores, dentre eles a idade, consumo de álcool, tabagismo, infecções, má higiene oral, deficiências nutricionais, alergias, rinite/sinusite alérgicas, intervenções farmacológicas ou cirúrgicas e patologias, como a doença de Alzheimer, doença de Parkinson, o hipotireoidismo e o diabetes mellitus (Khobragade et al., 2012; Wrobel, Leopold, 2004; Daly et al., 2012; Doty et al., 2008). Diante disso, esse estudo teve como objetivo analisar as possíveis alterações relacionadas aos gostos utilizando suco de maracujá em pacientes diabéticos tipo 1, tipo 2 em comparação ao grupo controle.

Nos três grupos estudados houve predomínio do gênero feminino e o grupo DM2 diferiu de forma significativa em relação ao grupo DM1 quanto à idade, IMC, alterações bucais, presença de outras doenças relacionadas ao diabetes e uso de outros medicamentos que não os direcionados ao tratamento do diabetes. Muitas dessas diferenças, já esperadas, sobretudo pela etiopatogenia distinta de ambos os tipos de DM, também foram identificadas em relação ao grupo controle.

O controle metabólico, expresso em média das três últimas taxas de HbA1c, bem como a glicemia capilar realizada ao momento dos testes, foram muito semelhantes em ambos os grupos de diabéticos, evidenciando mau controle metabólico inadequado da doença.

A comparação entre os valores de *threshold* entre os grupos de DM2, DM1 e controle após ajuste dos dados, verificou-se que a utilização de medicamentos para tratamento da hipertensão arterial, dislipidemia e disfunções tireoidianas podem interferir na capacidade de reconhecimento do gosto amargo, ácido, doce e umami e na detecção do gosto ácido e umami pelos pacientes diabéticos tipo 2. A possível interferência também foi estudada por Naik et al. (2010), cujos resultados foram semelhantes ao do presente estudo, no qual há elevada porcentagem de pacientes diabéticos em uso de medicamentos para controle de comorbidades associadas ao DM.

Em relação ao gosto salgado, não foi observada diferença significativa entre os três grupos estudados. Estes achados também foram descritos por Lawson et al. (1979) e Le Floch et al. (1989) quando compararam pacientes com DM2 e grupo controle.

Entretanto, Gondivkar et al. (2009), Isezuo et al. (2008) e Okoro, et al. (2002) demonstraram diferença significativa na percepção do gosto salgado entre diabéticos tipo 2 e grupo controle.

Os resultados do presente estudo demonstram-se discordantes quanto à detecção e reconhecimento do gosto salgado em relação aos últimos autores. Esse fato pode ser explicado pela utilização do suco de maracujá como meio de apresentação das amostras, diferentemente dos estudos citados cujos autores utilizaram solução aquosa. O suco de maracujá possui características que podem modificar a percepção do gosto salgado. O maracujá pode interagir quimicamente e alterar a percepção dos gostos. De acordo com Keast e Breslim (2002), misturas entre substâncias de caráter ácido e salgado afetam

simetricamente a intensidade de ambos os gostos com realce em baixa concentração e supressão ou nenhum efeito em altas concentrações.

Adicionalmente, Breslim e Beauchamps (1997) relataram que sais contendo sódio são considerados potencializadores dos gostos básicos, pois atuam seletivamente suprimindo compostos, tais como o amargo e talvez o ácido e estimulando outros, como o gosto doce.

Diante do exposto, é possível que a detecção do gosto salgado não tenha apresentado diferença significativa entre o grupo de indivíduos com DM1, DM2 e controle devido a interação entre o gosto salgado, proveniente do NaCl e o gosto ácido, proveniente do ácido cítrico presente no suco de maracujá.

O mesmo foi demonstrado para a detecção do gosto amargo, pois de acordo com Keast e Breslim (2002), a mistura de baixa intensidade entre compostos ácidos e amargos pode realçar a intensidade dos mesmos entre si resultando em maior evidência do gosto ácido, característica mais pronunciada em sucos de frutas ácidas, como o maracujá.

O estudo demonstrou que pacientes diabéticos tipo 1 apresentaram menor sensibilidade para detecção e reconhecimento dos gostos doce e umami em suco de maracujá comparativamente ao grupo controle. Este achado está de acordo com os encontrados por Khobragade et al. (2012), que ao avaliar pacientes portadores de DM 1 evidenciaram deterioração na sensibilidade dos gostos básicos, em especial para o gosto doce, quando comparados aos controles em solução aquosa. Uma das hipóteses para esta diminuição da sensibilidade, em especial para o gosto doce, pode ser decorrente da maior ingestão de alimentos e bebidas com elevado teor de sacarose e similares (edulcorantes) em sua composição por estes pacientes. O aumento do

consumo deste tipo de alimentos e bebidas com concentração elevada de sacarose/edulcorantes pode também resultar em uma maior dificuldade para obtenção do controle glicêmico. (Khobragade et al., 2012; Gondivkar et al., 2009).

O mecanismo exato pelo qual o diabetes, tanto o tipo 1 quanto o tipo 2 diminuem a percepção gustativa ainda não é totalmente conhecido, mas uma das hipóteses seria decorrente de defeito inerente ou adquirido dos receptores gustativos e de neuropatia periférica, que afetariam os nervos gustativos. A neuropatia é uma complicação do diabetes e ela pode ser do tipo periférica sensitivo-motora ou autonômica; esta última compromete os sistemas simpático e parassimpático e também está associada à perda de dentes nestes pacientes (Collins et al., 2000).

Outra hipótese estaria relacionada à presença de microangiopatia, complicação frequente em pacientes diabéticos com tempo longo e com mau controle metabólico da doença, fatores presentes em ambos os grupos de DM. Assim, a microangiopatia poderia alterar o paladar e promover estas alterações gustativas (Gondivkar et al., 2009).

Estudo realizado por Pai et al., (2007), avaliou as relações entre alterações do paladar causadas por DM e a inervação e alterações morfológicas nos botões gustativos. Para isso, os autores estudaram as papilas valadas de ratos com DM (o DM foi induzido nestes ratos por meio da estreptozotocina (STZ), que provoca a morte das células β pancreáticas). A inervação das papilas valadas e os botões gustativos dos ratos com DM e do grupo controle foram detectadas. Os resultados revelaram não haver nenhuma diferença significativa no tamanho das papilas entre os grupos controle e

diabéticos, mas havia um menor número de botões gustativos em cada papila (por animal). A quantificação da inervação nos botões gustativos dos ratos diabéticos apoiou a avaliação visual da imunohistoquímica, que a inervação das células gustativas foi significativamente reduzida em animais diabéticos. Estes resultados sugerem que a deficiência gustativa em indivíduos diabéticos pode ser causada por defeitos de neuropatia e/ou alterações morfológicas nos botões gustativos (Pai et al. 2007).

Quando se procedeu à análise de regressão univariada entre a percepção dos gostos básicos e as variáveis estudadas, demonstrou-se que o IMC é um preditor significativo da percepção gustativa (Tabela 5c e 5e). Este resultado está de acordo com estudo de Naka et al. (2010), e pode ser justificado pelo fato da obesidade ser um dos fatores de desencadeamento de disgeusia, independente da presença de DM, pois a sensação adequada de detecção dos gostos pode associar-se à satisfação na ingestão de alimentos, e consequentemente, a diminuição da detecção dos gostos pode ser um dos mecanismos para o desenvolvimento de obesidade (Stolbová et al., 1999).

Stolbová et al. (1999) avaliaram 73 pacientes com DM2, 11 com DM1, 12 indivíduos obesos (índice de massa corporal ≥ 30) sem DM, e um grupo controle (sem diabetes e sem obesidade) contendo 29 voluntários. Todos os indivíduos foram submetidos a exame gustativo elétrico. Durante este exame, os limiares elétricos de gosto foram obtidos estimulando diversas regiões da língua. De acordo com os testes realizados, a hipogeusia foi observada em 40% dos pacientes com DM2, em 33% dos DM1 e em 25% do grupo composto por obesos sem DM. No grupo controle não foi encontrado nenhum indivíduo com hipogeusia. Em relação a ageusia, esta foi observada em 5% dos

pacientes com DM2, em 3% com DM1, em 14% dos indivíduos obesos e não foi encontrada no grupo controle. Diante disso, os autores sugeriram que a diminuição da detecção gustativa (hipogeusia ou ageusia) presente em indivíduos com DM pode resultar em um quadro de hiperfagia e consequentemente, obesidade.

Desta forma, são necessários mais estudos para esclarecer se a obesidade é causa da diminuição da percepção gustativa ou uma complicação do quadro de hipogeusia/ageusia presente em pacientes diabéticos. Esta relação causa-efeito é de difícil compreensão, pois a percepção gustativa constitui apenas um dos diversos fatores relacionados à fisiopatologia da obesidade, bem como das escolhas alimentares e preferências dos indivíduos (Donaldson et al., 2009).

Resultados contraditórios foram encontrados sobre a relação entre IMC e *threshold*. De acordo com Donaldson et al. (2009), pessoas com IMC elevado podem ter maior dificuldade para reconhecimento da saciedade e para encerrarem a alimentação, principalmente quando realizam outras atividades concomitantes às refeições, não prestando atenção no tipo de gosto ingerido. É possível que uma mudança na percepção do paladar possa alterar a atenção para um gosto específico (Donaldson et al., 2009).

A associação positiva entre a prática de atividade física e o controle glicêmico na melhora da percepção gustativa observada neste estudo, também foi demonstrada por Nichols et al. (2000) e Loprinzi et al. (2014).

Quanto às taxas de HbA1c e os valores de *threshold* de reconhecimento para o gosto salgado, observamos que quanto menor o valor da HbA1c, menor

a capacidade de reconhecimento deste gosto. Este resultado é consistente com os relatos por Gondivkar et al., (2009).

Com relação à dose total de insulina, verificou-se que a mesma constitui um preditor significativo para o *threshold* de detecção do gosto ácido, sugerindo que quanto maior a dose de insulina utilizada para o tratamento do diabetes, maior a dificuldade de detecção deste gosto. Esta correlação inversa também foi relatada por Yoshida (2012) e Baquero e Gilbertson (2011) em estudos utilizando-se modelo experimental com ratos.

Nesses estudos, Yoshida (2012) e Baquero e Gilbertson (2011) demonstraram, que a insulina pode afetar a sensibilidade ao sal. O canal epitelial de sódio (ENaC) é essencial para equilíbrio hídrico e eletrolítico e acredita-se ser um receptor do gosto salgado. Contudo, o ENaC pode ser inibido pela amiloride e/ou benzamil e sua função do ENaC pode ser modificada por diversos hormônios, dentre eles a insulina, cuja função é de ativar os canais ENaC presentes na membrana apical de células do gosto. Dessa forma, a insulina ao ser administrada nos botões gustativos ativa ENaC, aumentando assim, a sensibilidade dos ratos ao gosto salgado. Esses resultados podem explicar, em parte, porque os pacientes diabéticos que faziam uso de insulina basal apresentaram capacidade superior para reconhecer o gosto salgado quando comparados aos pacientes diabéticos que não utilizavam insulino-terapia (Yoshida 2012; Baquero, Gilbertson 2011).

Os valores de glicemia capilar ao momento do teste constituíram-se preditores significativos da percepção do gosto umami em suco de maracujá, indicando que quanto maior a glicemia capilar menor a capacidade de detecção do gosto umami em diabéticos tipo 2 e menor a capacidade de reconhecimento

desse mesmo gosto nos controles. Estes achados estão de acordo com os observados por Gondivkar et al. (2009) e Le Floch et al. (1989).

Kawagushi e Murata (1995) estudaram a relação entre o limiar gustativo elétrico de pacientes diabéticos com relação à idade, duração da doença e complicações diabéticas. Os pacientes com maior tempo de doença apresentaram maior limiar gustativo elétrico. Esta correlação não foi verificada no presente estudo. Os mesmos autores concluíram que a elevação do limiar gustativo elétrico em diabéticos foi observado antes do início ou no estágio mais precoce do aparecimento das complicações do DM (neuropatia, retinopatia e nefropatia) e aumento crescente deste limiar com a progressão dessas complicações diabéticas. Assim, o limite gustativo elétrico pode ser considerado um indicador extremamente útil para a prevenção de complicações diabéticas, uma vez que permite a detecção das três principais complicações diabéticas nas suas fases iniciais.

Apesar dos resultados encontrados no nosso estudo correlacionando *threshold* dos gostos básicos e parâmetros de controle metabólico, Wasalathanthri et al. (2014) afirmam que as respostas de cada indivíduo aos estímulos sensoriais (gostos básicos) não podem ser consideradas estáticas, pois sofrem influência de diversos fatores, tais como alterações do peso corporal, e diferentes níveis de neurotransmissores, em especial a serotonina e a noradrenalina. Ambas estão associadas ao impulso dos estímulos nervosos responsáveis pela percepção dos gostos/sabores. Segundo os mesmos autores, estados de ansiedade e depressão podem cursar com oscilações dos níveis destes neurotransmissores. A presença destas alterações em pacientes

diabéticos ou diabéticos portadores de outras doenças poderia explicar em parte, o aparecimento de distúrbios relacionados ao paladar.

O tempo de diabetes e as taxas de hemoglobina glicada (HbA1c) não foram considerados fatores preditores significativos para os gostos amargo, ácido, doce e umami. Os resultados deste estudo estão de acordo com os descritos por Naka et al. (2010), Le Floch et. al. (1992), Perros et al. (1996) e Siddiqui et al. (2014).

Segundo Naka et al. (2010) a maioria dos pacientes diabéticos, especialmente os do tipo 2, não são avaliados quanto à presença de alterações gustativas e olfatórias, sobretudo às relacionadas ao prejuízo destas funções (Naka et al., 2010).

Diante do exposto, pode-se supor que o diagnóstico e o conhecimento da redução da sensibilidade gustativa em pacientes diabéticos poderiam auxiliar em questões relevantes relacionadas às escolhas, consumo e quantidades dos alimentos ingeridos. Uma implicação imediata deste conhecimento seria a possibilidade de orientação e prevenção de ingestão de quantidades elevadas de sódio ou sacarose, devido a menor sensibilidade gustativa e olfativa destes alimentos (Naka et al., 2010; Gondivkar, et al., 2009; Le Floch, et al., 1989).

É importante ressaltar que, de acordo com Prescott et al (2001) o tipo de matriz alimentícia utilizada é relevante para a avaliação da percepção gustativa. Os estudos disponíveis na literatura utilizaram solução aquosa para descrever as alterações relacionadas a esta percepção. Desta forma, os resultados não podem ser extrapolados para outros tipos de alimentos, pois quando estes são inseridos em alguma matriz alimentar, podem resultar em

interações entre as substâncias, suprimindo ou exacerbando a percepção e o reconhecimento de algum gosto. Assim, o efeito de cada substância na qualidade final da percepção gustativa é variável e deve ser avaliado levando-se em conta estas variáveis (Prescott, et al., 2001).

Dessa forma, conclui-se que há a presença de alterações dos gostos, tanto de reconhecimento como de detecção em pacientes portadores de diabetes. Há principalmente prejuízo na função gustativa de pacientes diabéticos tipo 2 em relação aos gostos amargo, ácido, doce e umami em suco de maracujá, enquanto nos pacientes com DM1, esta alteração ocorreu para os gostos doce e umami. É provável que o maior prejuízo da função gustativa no DM2 seja decorrente da maior duração e presença de doenças associadas ao diabetes e do uso de diversos medicamentos que podem interferir nesta função. O diagnóstico e o conhecimento da redução da sensibilidade da percepção dos gostos básicos, tanto pelos diabéticos quanto seus familiares é de extrema importância, pois interfere nas escolhas e quantidades dos alimentos consumidos e pode acarretar em ganho de peso, maior dificuldade para obtenção do controle glicêmico e por conseguinte, surgimento de complicações crônicas do diabetes com piora da qualidade de vida.

5. Limitações do estudo

A comparabilidade dos resultados encontrados em literatura com os resultados do estudo é limitada, visto que, os valores de *threshold* de gostos básicos em suco de maracujá são distintos daqueles encontrados em solução

aquosa. Além disso, a realização da glicemia capilar ao momento do teste pode apresentar grandes variações ao longo do dia.

Por fim, os voluntários podem ter encontrado dificuldade para reconhecer o gosto umami, pois esse gosto básico ainda não está totalmente familiarizado na população brasileira, quando comparado aos outros gostos (doce, salgado, amargo e ácido).

6. Referências

American Diabetes Association (ADA) (2010) Standards of Medical Care in Diabetes. **Diabetes Care**, 33, supl 1: S11-61.

American Diabetes Association (ADA) (2013) Standards of Medical Care in Diabetes. **Diabetes Care**, 36, supl 1: S11-66.

American Society For Testing And Materials (ASTM) (2011) **Standard Practice for Determination of Odor and Taste Thresholds By a Forced-Choice Ascending Concentration** Series Method of Limits. Method E679-04. Accessed at http://enterprise.astm.org/filtrexx40.cgi?+REDLINE_PAGES/E679.htm. Accessed at 15 July 2012.

Baquero, A. F., Gilbertson, T. A. (2011) Insulin activates epithelial sodium channel (ENaC) via phosphoinositide 3-kinase in mammalian taste receptor cells. **American Journal of Physiology - Cell Physiology** ;300:C860–71.

Bastos, A. S.; Leite, A. R. P.; Spin-Neto, R.; Nassar, P. O.; Massucato, E. M. S., Orrico, S. R. P. (2011) Diabetes mellitus and oral mucosa alterations: Prevalence and risk factors **Diabetes Research and Clinical Practice** 92: 100–105.

Breslim, P. A. S., Beauchamps, G. K. (1997) Salt enhances flavour by suppressing bitterness **Nature** 387: 563.

Bromley, S. M.; Doty, R. L. (2003) Clinical Disorders Affecting Taste: Evaluation and Management. **Handbook of olfaction and gustation** 935-957.

Busato, I. M. S.; Bittercourt, M. S.; Machado, M. A. N.; Grégio, A. M. T. , Azevedo-Alanis, L. R. (2010) Association between metabolic control and oral health in adolescents with type 1 diabetes mellitus. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology** 109:e51-e56.

Collins, H-L., Niskanen, L., Uusitupa, M.; Toyry, J.; Collins, P.; Koivisto, A.-M.; Viinamaki, H.; ,Meurman (2000) Oral symptoms and signs in elderly patients with type 2 diabetes mellitus. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology** 90(3):299-305.

Daly, B. P., Daly, M. P., Minniti, N.; Daly, J. M. (2012) **Sense of taste** (Effect on Behavior) Encyclopedia of Human Behavior (Second Edition). 373-378.

Donaldson, L. F.; Bennett, L.; Baic, S. ,Melichar, J. K. (2009) Taste and weight: is there a link? **American Journal of Clinical Nutrition** 90(suppl):800S–3S.

Doty, R. L. (2012) Gustation. **WIREs Cognitive Science**, v. 3, p. 29–46. doi: 10.1002/wcs.156.

Doty, R. L.; Saito, K.; Bromley, S. M. (2008) Disorders of taste and smell **The Senses: A Comprehensive Reference**, 4: 859-887.

Gondivkar, S. M., Indurkar, A., Degwekar, S., Bhowate, R. (2009) Evaluation of gustatory function in patients with diabetes mellitus type 2. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Oral Endodontology**. 108(6): 876-880.

International Diabetes Federation (IDF) (2013). **IDF Diabetes Atlas**, sixth edition Available in www.idf.org/diabetesatlas Accessed in august 05 2014

Isezuo, S. A.; Saidu, Y.; Anas, S.; Tambwai, B. ,Bilbis, I. S. (2008) Comparative analysis of salt taste perception among diabetics, hypertensives and diabetic hypertensives. **Nigerian Medical Practitioner** 53(1/2): 7-10.

IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (2007) **Arquivos Brasileiros de Cardiologia** 88, supl I, 2-19.

Kawaguchi H.,Murata K. (1995) Electric gustatory threshold in diabetics and its clinical significance. **Journal of Otolaryngology of Japan**, 98(8):1291-1296

Keast, R. S. J., Breslin, P. A. S. (2002) An overview of binary taste–taste interactions. **Food Quality and Preference** 14, 111–124

Khobragade, R. S.; Wakode, S. L. , Kale; A. H. (2012). Physiological taste threshold in type 1 Diabetes Mellitus. **Indian Journal of Physiology and Pharmacology** 56(1): 42-47.

Lawson, Zeidler, Rubenstein (1979) Taste detection and preferences in diabetics and their relatives. **Psychosomatic Medicine**. 41(3): 219-27.

Le Floch, J. P.; Lièvre, G. L; Sadoun, J. Perlemuter, L; Peynegre, R.; , Hazard, J. (1989) Taste impairment and related factors in type I diabetes mellitus. **Diabetes Care**; 12:173-178.

Le Floch, J. P.; Le Lièvre, G.; Labroue, M.; Peynègre, R.; Perlemuter, L. (1992) Early detection of diabetic patients at risk of developing degenerative complications using electric gustometry: a five-year follow-up study. **European Journal of Medicinal Chemistry** 1:208–214

Loprinzi, P. D.; Hager, K. K.; Hamulu, P. Y. (2014) Physical activity, glycemic control, and diabetic peripheral neuropathy: A national sample. **Journal of Diabetes and Its Complications** 28: 17–21.

Naik, B. S.; Shetty, N. , Maben, E. V. S. (2010) Drug-induced taste disorders. **European Journal of Internal Medicine** 21: 240–243.

Naka, A.; Riedl, M.; Luger, A.; Hummel, T.; Mueller, C. A. (2010) Clinical significance of smell and taste disorders in patients with diabetes mellitus. **European Archives Otorhinolaryngology** 267: 547-550.

Nichols, G. A.; Javor, K.; Hillier, T. A. , Brown, J. B. (2000) Predictors of Glycemic Control in Insulin-Using Adults With Type 2 Diabetes. **Diabetes Care** 23: 273–277.

Okoro, E. O. Oyejola, B. A. ,Jolayemi, E. T. (2002). Pattern of salt taste perception and blood pressure in normotensive offspring of hypertensive and diabetic patients **Annals of Saudi Medicine**, 22(3 -4), 249-251.

Pai, M.-H.; Ko, T.-L.; Chou, H.-C. (2007) Effects of streptozotocin-induced diabetes on taste buds in rat vallate papillae. **Acta Histochemica**, 109 (3): 200–207

Perros, P.; MacFarlane, T. W.; Counsell, C. ,Frier, B. M. (1996) Altered taste sensation in newly-diagnosed NIDDM. **Diabetes Care** 19:768–770

Prescott, J.; Rippandelli, N.; ,Wakelling, I. (2001) Binary taste mixture interactions in PROP non-tasters, médium-tasters and super-tasters. **Chemical Senses** 26: 993-1003.

Sandberg, G. E., Sundberg, H. E.; Fjellstrom, C. F. ,Wikblad, K. F. (2000) Type 2 diabetes and oral health. A comparison between diabetic and non-diabetic subjects **Diabetes Research and Clinical Practice** 50, 27–34.

Ship, J. A. (2003) Diabetes and oral health: an overview. **Journal of the American Dental Association**, 134: 4S-10S

Siddiqui, F. J., Avan, B. I.; Mahmud, S.; Nanan, D. J.; Jabbar, A.; Assam, P. N. (2014) Uncontrolled diabetes mellitus: Prevalence and risk factors among people with type 2 diabetes mellitus in an Urban District of Karachi, Pakistan. **Diabetes Research and Clinical Practice**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2014.09.025>

Sigal, R. J.; Kenny, G. P.; Wasserman, D. H.; Castaneda-Sceppa, C. , White, R. D. (2006) Physical Activity/Exercise and Type 2 Diabetes A consensus statement from the American Diabetes Association. **Diabetes Care**, 29(6): 1433-1438.

Stolbová, K.; Hahn, A.; Benes, B.; Andel, M. ,Treslová, L. (1999) Gustometry of Diabetes Mellitus Patients and Obese Patients.**International Tinnitus Journal**, 5(2):135-140.

Tepper, B. J.; Hartfiel, L. M. , Schneider, S. H. (1996). Sweet taste and diet in type II diabetes. **Physiology , Behavior**, 60(1): 13-18.

Umpierrez G. E., Latif, K. A., Murphy, M. B., Lambert, H. C., Stentz, F., Bush, A. (2003) Thyroid dysfunction in patients with type 1 diabetes.**Diabetes Care** 26:1181-1185.

Yoshida, R. (2012) Hormones and bioactive substances that affect peripheral taste sensitivity.**Journal of Oral Biosciences** 54: 67–72.

Wasalathanthri, S., Hettiarachchi, P. , Prathapan, S. (2014). Sweet taste sensitivity in prediabetics, diabetics and normoglycemic controls: A comparative cross sectional study. **BMC Endocrine Disorders**, 14, 67.

World Health Organization – WHO. Global status report on alcohol. Geneva: WHO, 2004

Wrobel, B. B., Leopold, D. A. (2004) Smell and taste disorders. **Facial Plastic Surgery Clinics of North America**. 12: 459-468

3. Discussão Geral

3.1 Escala do Ideal

Através da Escala do Ideal (*just-about-right scale*) foi possível determinar a doçura ideal do suco de maracujá adoçado com sacarose: 9,4g/100g. Resultados semelhantes foram encontrados por outros pesquisadores em sucos/néctares, como segue: néctar de pêssago, 10,04g/100g (Cardoso e Bolini, 2007); suco de abacaxi, 8,5g/100g (Marcellini, 2005); néctar de manga, 7,5g/100 g (Cadena e Bolini, 2012); suco de manga reconstituído, 8,0g/100g, e suco de manga preparado com uma polpa comercial, 7,5g/100g (Cavallini, 2005); e suco de maracujá, 10g/100g (De Marchi et al., 2009) (Tabela 3 artigo 1).

Essas pequenas diferenças entre o resultado do presente estudo e os resultados encontrados na literatura eram esperadas, e provavelmente foram devido às interações entre os edulcorantes e os componentes/ingredientes de cada produto avaliado (Cardoso e Bolini, 2007). Assim as diferenças na concentração ideal de sacarose de produtos similares evidenciam a importância da realização de análise sensorial para cada produto, e nunca uma generalização dos mesmos (Cadena e Bolini, 2011).

3.2. Determinação da Equivalência de Doçura

Os resultados de Doçura Equivalente (Figura 2 artigo 1), por meio do Método de Estimativa de Magnitude (Stone e Oliver, 1969) permitiram estabelecer as concentrações equivalentes de cada edulcorante avaliado (aspartame, sucralose, estévia, ciclamato:sarina (2:1) e neotame) em relação a concentração ideal de sacarose (9,4g/100g) em suco de maracujá.

Por meio do Método de Estimativa de Magnitude (Stone e Oliver, 1969) foi possível verificar que o neotame foi o edulcorante com maior intensidade de doçura quando comparado aos outros edulcorantes, seguido da sucralose, mistura ciclamato/sacarina (2:1), aspartame e estévia, em relação a concentração de 9,4g/100g de sacarose em suco de maracujá. Estes resultados estão de acordo com o estudo da Cadena e Bolini (2012), que relataram que o neotame apresentou o poder edulcorante mais alto, seguido de sucralose.

Em relação aos valores de R^2 (Tabela 2 artigo 1), que correspondem aos coeficientes de determinação das funções de potência, observou-se que para todos os edulcorantes avaliados, o valor de R^2 foi superior a 0,90, associados a um alto nível de significância, conferindo validade e confiabilidade aos resultados. O menor valor de R^2 foi observado para a estévia (0,9521). De acordo com Cardoso e Bolini (2007), isso pode ter sido resultante da presença de gosto amargo e residual amargo na estévia, especialmente em altas concentrações, que pode ter influenciado na percepção do gosto doce e na linearidade da reta.

Em relação a concentração de cada edulcorante a ser adicionada no suco de maracujá para obter a mesma doçura em relação à concentração de 9,4g/100g de sacarose, demonstrou que o neotame possui o poder de doçura mais alto, sendo 6025,64 vezes mais doce do que a sacarose em suco de maracujá com 9,4g/100g de sacarose. Estes resultados estão de acordo com o estudo da Cadena e Bolini (2012), que relataram o neotame como sendo 6026 vezes mais doce do que a sacarose em néctar de manga.

A sucralose apresentou um poder edulcorante de 590,02 vezes superior ao da sacarose, que é semelhante ao valor de 600 vezes encontrado por Brito e Bolini, (2009), em bebida a base de polpa de goiaba, e 599 vezes encontrado por Trevizam Moraes e Bolini (2010) em café torrado e moído.

A mistura ciclamato/sacarina (2:1) apresentou maior poder edulcorante (262,28) do que o aspartame (171,62). Resultados semelhantes foram observados por Freitas, Dutra e Bolini (2012) em néctar de pitanga, por Cardoso, Battocchio e Cardello (2004) em chá frio, equivalente a 8,3g/100g de sacarose, e por Reis et al. (2011) em iogurte de morango (11,5g/100g de sacarose). A menor diferença entre o ciclamato/sacarina e aspartame foi encontrado em iogurte de morango. Isto pode ser explicado pelo fato de que, de acordo com Reis et al. (2011), é importante verificar a diferença do poder edulcorante, quando o produto é mais complexo, isto é, quando outros ingredientes, tais como gordura, proteínas, ácidos e carboidratos estão envolvidos. Quando um edulcorante é adicionado a um produto alimentar, é necessário considerar as várias interações entre os edulcorantes e os ingredientes alimentares, pois os mesmos podem promover mudanças na potência edulcorante.

Essas interações entre doçura e acidez foram demonstradas por Prescott, Ripandelli e Wakeling (2001). Este efeito é variável e influenciado pelas concentrações de sacarose, uma vez que em todas as concentrações de ácido cítrico avaliados (0, 3, 6, e 12mM), a redução da percepção do estímulo foi observada apenas nas concentrações mais elevadas de sacarose (0,3 e 0,6M). No que diz respeito à adstringência, como relatado por Lyman e Green

(1990), o aumento na viscosidade e doçura com a sacarose reduziu a adstringência de soluções de ácidos tânico.

A adstringência de frutas e bebidas é exercida principalmente por polímeros flavanol (proantocianidinas ou taninos condensados). Em bebidas, vários fatores tem influenciado essa sensação, incluindo pH, doçura e viscosidade (Lesschaeve e Noble, 2005).

A concentração de sacarose considerada ideal pelos consumidores (9,4g/100g) (Figura 1 artigo 1) foi maior quando comparado a outros produtos, como suco de abacaxi reconstituído (Marcellini, 2005), cupuaçu tropical com redução de calorias (Martins, 2008), suco de manga e polpa de manga (Umbelino, 2005). Dessa forma, a maior quantidade de sacarose e de outros edulcorantes pode ser justificada pela necessidade de uma maior percepção do gosto doce para suprimir a acidez e adstringência, predominantemente presentes no suco de maracujá. Além disso, a relação entre o gosto residual doce/gosto residual amargo pode ter também modificado as características sensoriais do suco de maracujá.

Outros fatores também devem ser considerados, tais como o pH, a acidez e temperatura. Assim, diferentes potenciais de doçura podem ser encontrados em produtos similares, mas com temperaturas diferentes, tais como bebidas de chá quente e fria (Cardoso, Battocchio e Cardello, 2004).

Para suco de maracujá, de acordo com Marchi, McDaniel e Bolini (2009), o valor do potencial de doçura da sucralose e aspartame foram 625 e 232,59, respectivamente. Essa variação pode ser devido às diferenças no método utilizado, formulação de cada bebida, e, conseqüentemente, a concentração de sacarose utilizada na determinação de doçura relativa (Cadena e Bolini, 2012).

A estévia apresentou a menor potência de gosto doce (94,72), comparativamente aos outros edulcorantes, que está próximo aos resultados encontrados em néctar de pêssgo (potência de 10g/100g de sacarose) por Cardoso e Bolini (2007) e suco de abacaxi reconstituído (8,5g/100g de sacarose) por Marcellini (2005), que correspondem aos valores mais altos e mais baixos respectivamente.

As concentrações de equivalência de doçura determinados para sucralose, aspartame, mistura ciclamato/sacarina (2:1), e neotame (Tabela 2 artigo 1) estão dentro dos limites propostos pela legislação brasileira (Brasil, 2008). No entanto, as concentrações de estévia são mais elevados do que o limite, o que pode ser explicado, de acordo com Cardoso e Bolini (2007), por seu forte amargor que pode ter influenciado a percepção de doçura. Esse fato também foi relatado por Marcellini (2005), Cavallini (2005) e Cardoso e Bolini (2007), em suco de abacaxi reconstituído e suco de manga.

3.3 Perfil sensorial

O perfil sensorial do suco de maracujá com sacarose e com os edulcorantes avaliados foi realizado utilizando todas as amostras na mesma intensidade de gosto doce, de acordo com o Método de Estimativa de Magnitude.

Utilizando a análise de componentes principais (ACP), os eixos I, II e III foram capazes de explicar 55,7% do total de variação existente entre as amostras (Figura 1 artigo 2). Esta porcentagem pode ser explicada pelo fato do suco de maracujá com sacarose e com os edulcorantes não apresentarem diferenças em relação a diversos atributos avaliados: cor amarela, viscosidade

aparente, brilho, aromas de maracujá, doce, ácido e cozido, sabor cozido e viscosidade.

Na ACP (Figura 1 artigo 2), a posição das amostras adoçadas com sacarose, o aspartame e a sucralose sugere que estas amostras apresentaram características semelhantes entre si.

Neste estudo, não foram observadas diferenças na cor e brilho das amostras de suco de maracujá adoçadas com sacarose e os outros edulcorantes. Estes resultados são consistentes com as amostras adoçadas com diferentes edulcorantes e sacarose em néctar de pêssago (Cardoso e Bolini, 2008), néctar de uva (Voorpostel et al. 2014) e chocolate com redução de calorias e açúcar (Melo et al. 2009).

Não foram encontradas diferenças significativas ($p > 0,05$) em todos os atributos de aroma (aroma de maracujá, cozido, ácido e doce), sugerindo que os edulcorantes tiveram pouca influência sobre estes atributos. Resultados semelhantes foram observados em estudo com néctar de uva (Voorpostel et al. 2014).

A presença de aroma e sabor de cozido observados podem estar correlacionados ao tratamento térmico aplicado ao suco de maracujá (pasteurização), como descrito por Sandi et al. (2003).

Os escores médios para o atributo gosto doce foram significativamente ($p < 0,05$) mais elevado para neotame, aspartame e estévia, diferindo em relação ao ciclamato/sacarina (2:1) e sacarose, que exibiram resultados mais baixos para este atributo. A intensidade mais baixa do gosto doce observado em néctar adoçado com ciclamato/sacarina (2:1), também foi relatado em polpa de manga por Umbelino (2005). Embora este resultado possa ser considerado

incompatível com os obtidos no teste de equivalência de doçura, tal diferença, conforme relatado por Umbelino (2005), pode ser devido ao fato de na equivalência de doçura o gosto doce ser avaliado de maneira global, enquanto que na ADQ, o gosto doce foi avaliado separadamente, considerando-se a avaliação da doçura inicial e residual.

Alguns descritores indesejáveis foram mencionados pelos julgadores, tais como gosto amargo, amargo residual, doce residual e sabor metálico (Tabela 4 artigo 2), que provavelmente foram resultantes da utilização dos edulcorantes avaliados. Esses resultados corroboram com Brito e Bolini (2010).

A amostra com estévia apresentou gosto amargo, amargo residual e sabor metálico, e a amostra com neotame apresentou gostos doce residual (Tabela 4 e Figura artigo 2), como também relatado por Cardoso e Bolini (2008) em néctar de pêssago. Além disso, a amostra com a estévia apresentou pontuações mais baixas para o atributo sabor de maracujá. Essa média mais baixa (Tabela 4 artigo 2) para o sabor de maracujá pode ter sido causada pela presença dos descritores indesejáveis: gosto amargo, amargo residual e sabor metálico, que podem ter encoberto o sabor de maracujá da amostra com estévia (Brito e Bolini, 2010).

As amostras adoçadas com sacarose, aspartame, sucralose, e neotame não apresentaram gosto amargo ou amargo residual, e o gosto doce residual não foi percebido nas amostras com sacarose e sucralose (Tabela 4 artigo 2). Estas ocorrências foram reportadas em outros estudos com estes edulcorantes (Cardoso e Bolini, 2008, Brito e Bolini, 2010, Cadena et al. 2013).

Amostra de suco de maracujá adoçada com aspartame mostrou intensidade intermediária de gosto doce residual associado com baixa

intensidade de gosto ácido, gosto residual ácido e adstringência. Esta característica pode ser devido ao edulcorante apresentar uma intensidade significativamente maior de sabor frutado do que a amostra adoçada com sacarose (Cloninger e Baldwin, 1979). Resultado semelhante foi relatado por Cavallini e Bollini (2003) em suco de manga, pois o aspartame provocou significativamente mais longa persistência do sabor frutado, sugerindo um efeito de intensificação desse atributo em suco de manga. Portanto, as baixas intensidades de gosto ácido, gosto residual ácido e adstringência podem ser devido à maior intensidade do sabor frutado provado pelo aspartame.

O perfil sensorial similar ($p < 0,05$) foi observado entre as amostras contendo sacarose, aspartame e sucralose, que não exibiram gosto amargo, amargo residual e gosto metálico, e com uma maior intensidade do atributo sabor de maracujá. Além disso, sacarose e sucralose apresentaram resultados similares para o gosto residual doce ($p < 0,05$). Por conseguinte, estes resultados demonstram que o aspartame e a sucralose são os melhores substitutos da sacarose em suco de maracujá.

3.4 Teste de aceitação

Entre os consumidores avaliados ($n = 124$), 67,74% eram do sexo feminino e 32,26% do sexo masculino. Os participantes tinham entre 18 - 30 (90,32%) e 31 ou mais anos de idade (9,68%). Os voluntários eram alunos de pós graduação (38,71%), graduação (54,84%) e funcionários da Unicamp (6,45%). Os 124 consumidores avaliaram as amostras de suco de maracujá em relação a aparência, aroma, sabor, textura e impressão global, utilizando-se

escala hedônica não estruturada de 9 cm, ancorada nos extremos pelos termos “desgostei extremamente” e “gostei extremamente”.

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para o atributo aparência entre as amostras de suco de maracujá avaliadas pelos consumidores (Tabela 5 artigo 2). Resultados semelhantes foram observados em néctar de uva (Voorpostel et al. 2014), chocolates com reduzido valor calórico (Melo et al. 2009), suco de abacaxi (Marcellini et al., 2005), néctar de goiaba (Brito e Bolini, 2008a), e néctar de acerola (Dutra e Bolini; 2013).

Em relação ao atributo aroma, a amostra com aspartame apresentou escores elevados, seguidos da sucralose e da mistura ciclamato/sacarina (2:1). A amostra com aspartame diferiu somente da amostra adoçada com estévia (Tabela 5 artigo 2). No entanto, Marcellini et al. (2005) não encontraram nenhuma diferença entre as amostras de suco de abacaxi reconstituído, enquanto Brito e Bolini (2008a) relataram que as amostras de néctar de goiaba adoçados com sacarose, sucralose e aspartame tiveram as maiores médias para este atributo.

Para os atributos sabor, textura e impressão global, a amostra com aspartame apresentou as maiores médias de aceitação, não diferindo das amostras adoçadas com sucralose e sacarose ($p < 0,05$) (Tabela 5 artigo 2). Esta característica pode ser devido à maior intensidade de sabor frutado ($p < 0,05$) causado pelo aspartame, de acordo com relatado por Cloninger e Baldwin, (1979), Cavallini e Bollini, (2003); e Brito e Bolini, (2008b).

Brito e Bolini (2008a) relataram que as amostras de néctar de goiaba com sacarose, sucralose, aspartame obtiveram maior aceitação de sabor comparativamente aos outros edulcorantes avaliados.

A amostra adoçada com estévia apresentou a menor aceitação quanto aos atributos aroma, sabor, textura e impressão global ($p < 0,05$) (Tabela 5 artigo 2). Essa menor aceitação pode ser causada pelo fato da estevia apresentar descritores indesejáveis, tais como o gosto amargo, amargo residual e sabor metálico (Tabela 4 artigo 2). Vários autores relataram estas características em esteviosídeo, incluindo Voorpostel et al. (2014) (néctar de uva), Melo et al. (2009) (chocolate), Dutra e Bolini, (2013) (néctar acerola) e Fernandes et al. (2009) (néctar de goiaba). Segundo esses estudos, as amostras com estevia tiveram menor aceitação para o atributo sabor. Portanto, as pontuações mais baixas de aceitação podem ser devido a esses descritores encobrirem o gosto doce a partir da concentração de equivalência de doçura a 20% de sacarose, como também relatado por Bolini-Cardello et al. (1999).

O resultado do Mapa Interno de Preferência (MDPREF) (Figura 3 artigo 1) indicou que os dois primeiro eixos explicaram 75,40% do total de variação entre as amostras. Os consumidores estavam concentrados próximo da amostra contendo sacarose e aspartame, sugerindo que estas amostras foram as mais aceitas pelos consumidores. Isto pode ser confirmado pelos resultados da aceitação global, em que estas amostras apresentaram médias mais altas de aceitação.

Apesar do aspartame e sucralose não diferirem significativamente ($p < 0,05$) da sacarose, o aspartame apresentou escores médios mais elevados em comparação com sacarose (Tabela 5 artigo 2). Este melhoramento do aspartame foi observado por Cloninger e Baldwin (1974) em certos ingredientes, tais como gomas, gelatina e bebida não gaseificada com aroma de laranja. Essa maior aceitação global encontrada no suco de maracujá

adoçado com aspartame pode ser devido ao fato desse edulcorante ter uma intensidade significativamente maior de sabor frutado do que os outros adoçantes avaliados. Resultado similar também foi relatado por Cavallini e Bollini (2003) em suco de manga, uma vez que, apesar da amostra adoçada com sacarose ter uma maior intensidade de sabor frutado, o aspartame provocou significativamente mais longa persistência de sabor frutado, sugerindo um efeito intensificador desse atributo em suco de manga. Além disso, o aspartame é geralmente mais potente nos produtos à temperatura ambiente do que em alimentos congelados ou quentes (Candido e Campos, 1996), e todas as amostras deste estudo foram apresentadas, à temperatura ambiente.

É importante enfatizar que a maior aceitação do aspartame (Tabela 4 artigo 1) pode ser devido à presença deste edulcorante na maioria dos alimentos brasileiros de baixa caloria. Em adição a esse fato, a composição de edulcorantes em refrigerantes, sucos e chás vendidos no Brasil contém aspartame em combinação com outros adoçantes, como o acesulfame-K, sacarina e ciclamato de sódio (Rossini, Graebin e Moura, 2007).

Deve-se ressaltar que alguns consumidores estavam localizados na região negativa do componente principal I e II (Figura 3 artigo 1), sugerindo que os mesmos preferiram amostras contendo o neotame e mistura contendo ciclamato/sacarina (2:1). A amostra adoçada com estévia provavelmente foi menos aceita, uma vez que de acordo com Cardoso e Bolini (2007), este edulcorante tem um gosto amargo e amargo residual característico.

Conforme relatado pela Cadena e Bolini (2012), a indústria de alimentos generaliza a quantidade de sacarose e os seus substitutos na elaboração de

sucos de fruta. No entanto, a doçura ideal pode variar de acordo com a fruta utilizada no processo de fabricação, assim, a doçura ideal e doçura equivalente dos edulcorantes devem ser determinadas para cada tipo de amostra.

A correlação entre a impressão global e os descritores sensoriais é realizada utilizando-se a regressão dos mínimos quadrados parciais (PLS). PLS é um método de modelagem utilizado quando são variáveis preditoras intercorrelacionadas (Tang et al., 2000; Melo et al., 2009). PLS é um método multivariado adequado para a análise de descritores sensoriais e impressão geral pelos consumidores. Além disso, pode ser útil para orientar a selecção de um subconjunto de atributos relevantes dentro de um conjunto completo de atributos, e o número de componentes importantes a serem avaliados, que são geralmente determinados por um procedimento de validação cruzada (Rossini, et al., 2012).

O objetivo do PLS é estabelecer os atributos sensoriais que estão principalmente relacionados com a preferência do suco de maracujá adoçado com diferentes edulcorantes, e para determinar os atributos que contribuíram positivamente e negativamente na aceitação do consumidor, verificando o seu grau de influência (Morais et al., 2014).

Dessa forma foi possível concluir que o sabor de maracujá afetou positivamente a aceitação das amostras de suco de maracujá, enquanto que o gosto residual doce afetou negativamente (Figura 4 artigo 2). O efeito negativo do gosto residual doce foi encontrado em suco de manga (Cadena et al., 2013). Este atributo apresentou efeito positivo sobre sorvete de baunilha com teor reduzido de gordura e açúcar (Cadena et al., 2012). O efeito positivo do sabor da fruta foi encontrado por Voorpostel et al. (2014) em néctar de uva.

De acordo com o Mapa Externo de Preferência (Figura 3 artigo 2), os consumidores ficaram próximo das amostras com as maiores médias de aceitação. A maioria dos grupos de consumidores ficou próximo das amostras de suco de maracujá com sacarose, aspartame e sucralose, que foram caracterizados pela presença de sabor de maracujá, cuja intensidade pode ter influenciado a aceitação dos consumidores. O neotame foi associado com gosto doce residual, gosto ácido, gosto residual ácido e adstringência, e estévia foi associado com gosto amargo, gosto amargo residual e sabor metálico, que são descritores indesejáveis para este tipo de amostra. Provavelmente, a associação entre esses atributos e aqueles que contribuíram para uma melhor aceitação do produto pode ter influenciado os escores médios mais baixos observados para as amostras com neotame e estevia, quando comparados com as outras amostras. Estes resultados demonstram que a presença de alguns tipos de edulcorantes pode influenciar a preferência de suco de maracujá pelos consumidores.

3.5 Análises físico-químicas

No que diz respeito aos valores de pH em suco de maracujá, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras avaliadas. Os valores de acidez titulável foram significativamente diferentes ($p < 0,05$), sendo a amostra com sacarose a que apresentou a menor média (Tabela 3 artigo 2).

De acordo com Etxeberria e Gonzalez, (2005) e Cadena et al. (2013), uma vez que a sacarose é um sólido solúvel, este demonstrou uma influência significativa em relação ao °Brix, com um valor mais elevado nesta amostra.

Por conseguinte, a amostra adoçada com sacarose, mostrou um ratio muito mais elevado do que as outras amostras, devido ao aumento em sólidos solúveis.

Os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^*) (Tabela 3 artigo 2) foram significativamente diferentes ($p > 0,05$). As amostras de suco de maracujá mais claras, os valores para o parâmetro de luminosidade (L) de retracção e a intensidade da cor amarela (b) foram menores. As amostras de suco de maracujá mais escuras, os valores para o parâmetro de luminosidade (L) de retracção e a intensidade da cor amarela (b) foram mais elevadas, como no caso da amostra com sacarose. De acordo com Brito e Bolini (2010) e Cadena et al. (2013), esta cor escurecida poderia estar associada com processos não enzimáticos e com a formação de pigmentos cor de caramelo.

3.6 Análises da função gustativa em indivíduos com Diabetes Mellitus tipo 1 e 2

A ocorrência de alterações na função gustativa pode estar associada a diversos fatores, dentre eles a idade, consumo de álcool, tabagismo, infecções, má higiene oral, deficiências nutricionais, alergias, rinite/sinusite alérgicas, intervenções farmacológicas ou cirúrgicas e patologias, como a doença de Alzheimer, doença de Parkinson, o hipotireoidismo e o diabetes mellitus (Khobragade et al., 2012; Wrobel, Leopold, 2004; Daly et al., 2012; Doty et al., 2008). Diante disso, esse estudo teve como objetivo analisar as possíveis alterações relacionadas aos gostos utilizando suco de maracujá em pacientes diabéticos tipo 1, tipo 2 em comparação ao grupo controle.

Nos três grupos estudados houve predomínio do gênero feminino e o grupo DM2 diferiu de forma significativa em relação ao grupo DM1 quanto à idade, IMC, alterações bucais, presença de outras doenças relacionadas ao diabetes e uso de outros medicamentos que não os direcionados ao tratamento do diabetes (Tabela 2 artigo 3). Muitas dessas diferenças, já esperadas, sobretudo pela etiopatogenia distinta de ambos os tipos de DM, também foram identificadas em relação ao grupo controle.

O controle metabólico, expresso em média das três últimas taxas de HbA1c, bem como a glicemia capilar realizada ao momento dos testes, foram muito semelhantes em ambos os grupos de diabéticos, evidenciando mau controle metabólico inadequado da doença (Tabela 2 artigo 3).

A comparação entre os valores de *threshold* entre os grupos de DM2, DM1 e controle após ajuste dos dados (Tabela 2 artigo 3), verificou-se que a utilização de medicamentos para tratamento da hipertensão arterial, dislipidemia e disfunções tireoidianas podem interferir na capacidade de reconhecimento do gosto amargo, ácido, doce e umami e na detecção do gosto ácido e umami pelos pacientes diabéticos tipo 2. A possível interferência também foi estudada por Naik et al. (2010), cujos resultados foram semelhantes ao do presente estudo, no qual há elevada porcentagem de pacientes diabéticos em uso de medicamentos para controle de comorbidades associadas ao DM.

Em relação ao gosto salgado, não foi observada diferença significativa entre os três grupos estudados (Tabela 4 artigo 3). Estes achados também foram descritos por Lawson et al. (1979) e Le Floch et al. (1989) quando compararam pacientes com DM2 e grupo controle.

Entretanto, Gondivkar et al. (2009), Isezuo et al. (2008) e Okoro, et al. (2002) demonstraram diferença significativa na percepção do gosto salgado entre diabéticos tipo 2 e grupo controle.

Os resultados do presente estudo demonstram-se discordantes quanto à detecção e reconhecimento do gosto salgado em relação aos últimos autores. Esse fato pode ser explicado pela utilização do suco de maracujá como meio de apresentação das amostras, diferentemente dos estudos citados cujos autores utilizaram solução aquosa. O suco de maracujá possui características que podem modificar a percepção do gosto salgado. O maracujá pode interagir quimicamente e alterar a percepção dos gostos. De acordo com Keast e Breslim (2002), misturas entre substâncias de caráter ácido e salgado afetam simetricamente a intensidade de ambos os gostos com realce em baixa concentração e supressão ou nenhum efeito em altas concentrações.

Adicionalmente, Breslim e Beauchamps (1997) relataram que sais contendo sódio são considerados potencializadores dos gostos básicos, pois atuam seletivamente suprimindo compostos, tais como o amargo e talvez o ácido e estimulando outros, como o gosto doce.

Diante do exposto, é possível que a detecção do gosto salgado não tenha apresentado diferença significativa entre o grupo de indivíduos com DM1, DM2 e controle devido a interação entre o gosto salgado, proveniente do NaCl e o gosto ácido, do ácido cítrico presente no suco de maracujá.

O mesmo foi demonstrado para a detecção do gosto amargo (Tabela 4 artigo 3), pois de acordo com Keast e Breslim (2002), a mistura de baixa intensidade entre compostos ácidos e amargos pode realçar a intensidade dos

mesmos entre si resultando em maior evidência do gosto ácido, característica mais pronunciada em sucos de frutas ácidas, como o maracujá.

O estudo demonstrou que pacientes diabéticos tipo 1 apresentaram menor sensibilidade para detecção e reconhecimento dos gostos doce e umami em suco de maracujá comparativamente ao grupo controle (Tabela 4 artigo 3). Este achado está de acordo com os encontrados por Khobragade et al. (2012), que ao avaliar pacientes portadores de DM 1 evidenciaram deterioração na sensibilidade dos gostos básicos, em especial para o gosto doce, quando comparados aos controles em solução aquosa. Uma das hipóteses para esta diminuição da sensibilidade, em especial para o gosto doce, pode ser decorrente da maior ingestão de alimentos e bebidas com elevado teor de sacarose e similares (edulcorantes) em sua composição por estes pacientes. O aumento do consumo de alimentos e bebidas com concentração elevada de sacarose/edulcorantes pode também resultar em uma maior dificuldade para obtenção do controle glicêmico. (Khobragade et al., 2012; Gondivkar et al., 2009).

O mecanismo exato pelo qual o diabetes, tanto o tipo 1 quanto o tipo 2 diminuem a percepção gustativa ainda não é totalmente conhecido, mas uma das hipóteses seria decorrente de defeito inerente ou adquirido dos receptores gustativos e de neuropatia periférica, que afetariam os nervos gustativos. A neuropatia é uma complicação do diabetes e ela pode ser do tipo periférica sensitivo-motora ou autonômica; esta última compromete os sistemas simpático e parassimpático e também está associada à perda de dentes nestes pacientes (Collins et al., 2000).

Outra hipótese estaria relacionada à presença de microangiopatia, complicação frequente em pacientes diabéticos com tempo longo e com mau controle metabólico da doença, fatores presentes em ambos os grupos de DM. Assim, a microangiopatia poderia alterar o paladar e promover estas alterações gustativas (Gondivkar et al., 2009).

Estudo realizado por Pai et al., (2007), avaliou as relações entre alterações do paladar causadas por DM e a inervação e alterações morfológicas nos botões gustativos. Para isso, os autores estudaram as papilas valadas de ratos com DM (o DM foi induzido nestes ratos por meio da estreptozotocina (STZ), que provoca a morte das células β pancreáticas). A inervação das papilas valadas e os botões gustativos dos ratos com DM e do grupo controle foram detectadas. Os resultados revelaram não haver nenhuma diferença significativa no tamanho das papilas entre os grupos controle e diabéticos, mas havia um menor número de botões gustativos em cada papila (por animal). A quantificação da inervação nos botões gustativos dos ratos diabéticos apoiou a avaliação visual da imunohistoquímica, que a inervação das células gustativas foi significativamente reduzida em animais diabéticos. Estes resultados sugerem que a deficiência gustativa em indivíduos diabéticos pode ser causada por defeitos de neuropatia e/ou alterações morfológicas nos botões gustativos (Pai et al. 2007).

Quando se procedeu à análise de regressão univariada entre a percepção dos gostos básicos e as variáveis estudadas, demonstrou-se que o IMC é um preditor significativo da percepção gustativa (Tabela 5c e 5e artigo 3). Este resultado está de acordo com estudo de Naka et al. (2010), e pode ser justificado pelo fato da obesidade ser um dos fatores de desencadeamento de

disgeusia, independente da presença de DM, pois a sensação adequada de detecção dos gostos pode associar-se à satisfação na ingestão de alimentos, e consequentemente, a diminuição da detecção dos gostos pode ser um dos mecanismos para o desenvolvimento de obesidade (Stolbová et al., 1999).

Stolbová et al. (1999) avaliaram 73 pacientes com DM2, 11 com DM1, 12 indivíduos obesos (índice de massa corporal ≥ 30) sem DM, e um grupo controle (sem diabetes e sem obesidade) contendo 29 voluntários. Todos os indivíduos foram submetidos a exame gustativo elétrico. Durante este exame, os limiares elétricos de gosto foram obtidos estimulando diversas regiões da língua. De acordo com os testes realizados, a hipogeusia foi observada em 40% dos pacientes com DM2, em 33% dos DM1 e em 25% do grupo composto por obesos sem DM. No grupo controle não foi encontrado nenhum indivíduo com hipogeusia. Em relação a ageusia, esta foi observada em 5% dos pacientes com DM2, em 3% com DM1, em 14% dos indivíduos obesos e não foi encontrada no grupo controle. Diante disso, os autores sugeriram que a diminuição da detecção gustativa (hipogeusia ou ageusia) presente em indivíduos com DM pode resultar em um quadro de hiperfagia e consequentemente, obesidade.

Desta forma, são necessários mais estudos para esclarecer se a obesidade é causa da diminuição da percepção gustativa ou uma complicação do quadro de hipogeusia/ageusia presente em pacientes diabéticos. Esta relação causa-efeito é de difícil compreensão, pois a percepção gustativa constitui apenas um dos diversos fatores relacionados à fisiopatologia da obesidade, bem como das escolhas alimentares e preferências dos indivíduos (Donaldson et al., 2009).

Resultados contraditórios foram encontrados sobre a relação entre IMC e *threshold* (Tabela 5b e 5e artigo 3). De acordo com Donaldson et al. (2009), pessoas com IMC elevado podem ter maior dificuldade para reconhecimento da saciedade e para encerrarem a alimentação, principalmente quando realizam outras atividades concomitantes às refeições, não prestando atenção no tipo de alimento ingerido. É possível que uma mudança na percepção do paladar possa alterar a atenção para um gosto específico (Donaldson et al., 2009).

A associação positiva entre a prática de atividade física e o controle glicêmico (Tabela 5a e 5c artigo 3) na melhora da percepção gustativa observada neste estudo, também foi demonstrada por Nichols et al. (2000) e Loprinzi et al. (2014).

Quanto às taxas de HbA1c e os valores de *threshold* de reconhecimento para o gosto salgado (Tabela 5a artigo 3), observamos que quanto menor o valor da HbA1c, menor a capacidade de reconhecimento deste gosto. Este resultado é consistente com os relatados por Gondivkar et al., (2009).

Com relação à dose total de insulina, verificou-se que a mesma constitui um preditor significativo para o *threshold* de detecção do gosto ácido (Tabela 5a artigo 3), sugerindo que quanto maior a dose de insulina utilizada para o tratamento do diabetes, maior a dificuldade de detecção deste gosto. Esta correlação inversa também foi relatada por Yoshida (2012) e Baquero e Gilbertson (2011) em estudos utilizando-se modelo experimental com ratos.

Nesses estudos, Yoshida (2012) e Baquero e Gilbertson (2011) demonstraram, que a insulina pode afetar a sensibilidade ao sal. O canal epitelial de sódio (ENaC) é essencial para equilíbrio hídrico e eletrolítico e

acredita-se ser um receptor do gosto salgado. Contudo, o ENaC pode ser inibido pela amiloride e/ou benzamil e sua função do ENaC pode ser modificada por diversos hormônios, dentre eles a insulina, cuja função é de ativar os canais ENaC presentes na membrana apical de células do gosto. Dessa forma, a insulina ativa ENaC, aumentando assim, a sensibilidade dos ratos ao gosto salgado. Esses resultados podem explicar, em parte, porque os pacientes diabéticos que faziam uso de insulina basal apresentaram capacidade superior para reconhecer o gosto salgado quando comparados aos pacientes diabéticos que não utilizavam insulinoterapia (Yoshida 2012; Baquero, Gilbertson 2011).

Os valores de glicemia capilar ao momento do teste constituíram-se preditores significativos da percepção do gosto umami em suco de maracujá (Tabela 5e artigo 3), indicando que quanto maior a glicemia capilar menor a capacidade de detecção do gosto umami em diabéticos tipo 2 e menor a capacidade de reconhecimento desse mesmo gosto nos controles. Os resultados estão de acordo com os observados por Gondivkar et al. (2009) e Le Floch et al. (1989).

Kawagushi e Murata (1995) estudaram a relação entre o limiar gustativo elétrico de pacientes diabéticos com relação à idade, duração da doença e complicações diabéticas. Os pacientes com maior tempo de doença apresentaram maior limiar gustativo elétrico. Esta correlação não foi verificada neste estudo. Os mesmos autores concluíram que a elevação do limiar gustativo elétrico em diabéticos foi observado antes do início ou no estágio mais precoce do aparecimento das complicações do DM (neuropatia, retinopatia e nefropatia) e houve aumento crescente deste limiar com a

progressão dessas complicações diabéticas. Assim, o limite gustativo elétrico pode ser considerado um indicador extremamente útil para a prevenção de complicações diabéticas, uma vez que permite a detecção das três principais complicações diabéticas nas suas fases iniciais.

Apesar dos resultados encontrados no nosso estudo correlacionando *threshold* dos gostos básicos e parâmetros de controle metabólico, Wasalathanthri et al. (2014) afirmam que as respostas de cada indivíduo aos estímulos sensoriais (gostos básicos) não podem ser consideradas estáticas, pois sofrem influência de diversos fatores, tais como alterações do peso corporal, e diferentes níveis de neurotransmissores, em especial a serotonina e a noradrenalina. Ambas estão associadas ao impulso dos estímulos nervosos responsáveis pela percepção dos gostos/sabores. Segundo os mesmos autores, estados de ansiedade e depressão podem cursar com oscilações dos níveis destes neurotransmissores. A presença destas alterações em pacientes diabéticos ou diabéticos portadores de outras doenças poderia explicar em parte, o aparecimento de distúrbios relacionados ao paladar.

O tempo de diabetes e as taxas de hemoglobina glicada (HbA1c) não foram considerados fatores preditores significativos para os gostos amargo, ácido, doce e umami (Tabela 5b, 5c, 5d e 5e artigo 3). Os resultados deste estudo estão de acordo com os descritos por Naka et al. (2010), Le Floch et. al. (1992), Perros et al. (1996) e Siddiqui et al. (2014).

Segundo Naka et al. (2010) a maioria dos pacientes diabéticos, especialmente os do tipo 2, não são avaliados quanto à presença de alterações gustativas e olfatórias, sobretudo às relacionadas ao prejuízo destas funções (Naka et al., 2010).

Diante do exposto, pode-se supor que o diagnóstico e o conhecimento da redução da sensibilidade gustativa em pacientes diabéticos poderiam auxiliar em questões relevantes relacionadas às escolhas, consumo e quantidades dos alimentos ingeridos. Uma implicação imediata deste conhecimento seria a possibilidade de orientação e prevenção de ingestão de quantidades elevadas de sódio ou sacarose, devido a menor sensibilidade gustativa e olfativa destes alimentos (Naka et al., 2010; Gondivkar et al., 2009; Le Floch et al., 1989).

Ressalta-se que, de acordo com Prescott et al (2001), o tipo de matriz alimentícia utilizada é relevante para a avaliação da percepção gustativa. Os estudos disponíveis na literatura utilizaram solução aquosa para descrever as alterações relacionadas a esta percepção. Desta forma, os resultados não podem ser extrapolados para outros tipos de alimentos, pois quando estes são inseridos em alguma matriz alimentar, podem resultar em interações entre as substâncias, suprimindo ou exacerbando a percepção e o reconhecimento de algum gosto. Assim, o efeito de cada substância na qualidade final da percepção gustativa é variável e deve ser avaliado levando-se em conta estas variáveis (Prescott et al., 2001).

Dessa forma, conclui-se que há a presença de alterações dos gostos, tanto de reconhecimento como de detecção em pacientes portadores de diabetes. Há principalmente prejuízo na função gustativa de pacientes diabéticos tipo 2 em relação aos gostos amargo, ácido, doce e umami em suco de maracujá, enquanto nos pacientes com DM1, esta alteração ocorreu para os gostos doce e umami. É provável que o maior prejuízo da função gustativa no DM2 seja decorrente da maior duração e presença de doenças associadas ao

diabetes e do uso de diversos medicamentos que podem interferir nesta função. O diagnóstico e o conhecimento da redução da sensibilidade da percepção dos gostos básicos, tanto pelos diabéticos quanto seus familiares é de extrema importância, pois interfere nas escolhas e quantidades dos alimentos consumidos e pode acarretar em ganho de peso, maior dificuldade para obtenção do controle glicêmico e por conseguinte, surgimento de complicações crônicas do diabetes com piora da qualidade de vida.

4. Conclusão Geral

Esse trabalho reforça a importância do estudo dos edulcorantes em diferentes matrizes alimentícias, pois o tipo de alimento em que o edulcorante está inserido exerce influência sobre o ideal de gosto doce, equivalência de doçura, perfil sensorial e aceitação do produto por parte dos consumidores.

O tipo de edulcorante utilizado exerceu grande influência na percepção do sabor de maracujá, gosto doce residual, gosto amargo, amargo residual, ácido residual, adstringência e sabor metálico das amostras de suco de maracujá com diferentes edulcorantes.

Com base no estudo da aceitação e do perfil sensorial das bebidas, concluiu-se que, as amostras contendo sucralose e o aspartame foram as que apresentaram perfil sensorial mais próximo ao da sacarose, além de não diferiram da mesma, no teste de aceitação, em relação à aparência, aroma, sabor, textura e impressão global. Diante disso, a sucralose e o aspartame podem ser considerados os melhores substitutos da sacarose em suco de maracujá.

Finalmente, este estudo demonstrou a presença de prejuízo na função gustativa em indivíduos com DM2, em relação aos gostos salgado, amargo e ácido e em indivíduos com DM1, em relação aos gostos doce e umami. E o conhecimento dessa redução da sensibilidade da percepção dos gostos básicos pelos diabéticos e familiares é de extrema importância para aumentar a qualidade de vida dos indivíduos diabéticos, pois atua diretamente na seleção e consumo de alimentos. O não conhecimento dessa condição pode resultar em aumento na ingestão de alimentos e conseqüentemente na piora do controle glicêmico, o que compromete toda a doença.

5. Referências Bibliográficas

AL-MASKARI, A., AL-MASKARI, M. Y., AL-SUDAIRY, S. Oral Manifestations and Complications of Diabetes Mellitus: A review. **SQU Medical Journal**, May, v. 11, n. 2, 2011.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA) Standards of Medical Care in Diabetes. **Diabetes Care**, v.33, supl 1, S11-61, 2010.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA) Standards of Medical Care in Diabetes. **Diabetes Care**, v.36, supl 1, S11-66, 2013.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM) **Standard Practice for Determination of Odor and Taste Thresholds By a Forced-Choice Ascending Concentration Series Method of Limits. Method E679-04.** Accessed at http://enterprise.astm.org/filtrexx40.cgi?+REDLINE_PAGES/E679.htm. Accessed at 15 July 2012, 2011.

ARAVINDHA BABU,N.; MASTHAN, K.M.K.; BHATTACHARJEE, T ; ELUMALAI, M. Diabetes Mellitus Affect the Oral Cavity - A Review. **Global Journal of Pharmacology** v. 8, n. 2, p. 166-169, 2014

BAQUERO, A. F., GILBERTSON, T. A. Insulin activates epithelial sodium channel (ENaC) via phosphoinositide 3-kinase in mammalian taste receptor cells. **American Journal of Physiology - Cell Physiology** v. 300, C860–71, 2011.

BASTOS, A. S., LEITE, A. R. P., SPIN-NETO, R., NASSAR, P. O., MASSUCATO, E. M. S., ORRICO, S. R. P. Diabetes mellitus and oral mucosa alterations: Prevalence and risk factors. **Diabetes research and clinical practice**, v. 92, p.100-105, 2011

BOLINI-CARDELLO, H. M. A., DA SILVA, M. A. P. A., DAMASIO, M. H.. Measurement of the relative sweetness of stevia extract, aspartame and cyclamate/saccharin blend as compared to sucrose at different concentrations. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 54, p.119–130, 1999

BRESLIM, P. A. S. & BEAUCHAMPS, G. K. Salt enhances flavour by suppressing bitterness **Nature** v. 387, p.563, 1997.

BRITO, C. A. K. **Perfil sensorial de bebidas “light” de polpa de goiaba adoçada com diferentes edulcorantes.** Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brazil, 2009, 158p.

BRITO, C. A. K.; BOLINI, H. M. A^a. Análise da aceitação de nectar de goiaba por testes afetivos e mapa de preferência interno. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 2, n. 1, p. 67-80, 2008.

BRITO, C. A. K.; BOLINI, H. M. A^b Percepção temporal de doçura, amargor e sabor de fruta em nectar de goiaba adoçado com diferentes adoçantes. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 2, n. 1, p. 49-66, 2008.

BRITO, C. A. K., BOLINI, H. M.A.. Sensory profile of sweeteners in guava nectar. **Alimentos e Nutrição (UNESP. Marília)**, v. 20, p. 561–572, 2010.

BROMLEY, S. M.; DOTY, R. L. Clinical Disorders Affecting Taste: Evaluation and Management. **Handbook of olfaction and gustation**, 2003, p. 935-957.

BUSATO, I. M. S., BITTENCOURT, M. S., MACHADO, M. A. N., GRÉGIO, A. M. T. AZEVEDO-ALANIS, L. R. Association between metabolic control and oral health in adolescents with type 1 diabetes mellitus **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**; v. 109, p.51-56, 2010.

CADENA, R. S.; BOLINI, H. M. A. Time–intensity analysis and acceptance test for traditional and light vanilla ice cream. **Food Research International**, v. 44, p. 677–683, 2011.

CADENA, R. S., BOLINI, H. M. A. Ideal and relative sweetness of high intensity sweeteners in mango nectar. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 12, n. 47, p. 991–996, 2012.

CADENA, R. S., CRUZ, A. G., NETTO, R. R., CASTRO, W. F.; FARIA, J. A. F., BOLINI, H. M. A.. Sensory profile and physicochemical characteristics of mango néctar sweetened with high intensity sweeteners throughout storage time. **Food Research International** v. 54, p. 1670–1679, 2013.

CÂNDIDO, L. M. B; CAMPOS, A.M. **Alimentos para fins especiais: Dietéticos**. São Paulo: Livraria Varela, 1996. 423p

CARDELLO, H.M.A.B.; SILVA, M.A.A.P.; DAMÁSIO, M.H. Measurement of the relative sweetness of stevia extract, aspartame and cyclamate/saccharin blend as compared to sucrose at different concentrations. **Plant Foods for Human Nutr.**, v.54, n.2, p.119-130, 1999.

CARDELLO, H. M. A. B.; DA SILVA, M. A. A. P., DAMÁSIO, M. H., Análise descritiva quantitativa de edulcorantes em diferentes concentrações. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 20, n. 3, p. 318-328, 2000

CARDOSO, J. M. P. Análise de Diferentes Edulcorantes em Néctar de Pêssego: Determinação da Doçura Ideal, Equivalências em Doçura, Análise de Aceitação e Determinação do Perfil Sensorial. 2007. Dissertação (Mestre em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007. 185p.

CARDOSO, J. M. P.; BATTOCHIO, J. R.; CARDELLO, H. M. A. B. Equivalência de dulçor e poder edulcorante de edulcorantes em função da temperatura de consumo em bebidas preparadas com chá-mate em pó solúvel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** v. 24, n. 3, p.448-452, 2004.

CAVALLINI, D. C. U., BOLINI, H. M. A.. Comparação da percepção temporal de doçura, amargor e sabor de fruta em suco de manga reconstituído e adoçado com sacarose, mistura ciclamato/sacarona 2:1, aspartame, sucralose e estévia. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 23, p. 361–382, 2003.

CLAPP, T. R.; TRUBEY, K. R.; VANDENBEUCH, A.; STONE, L.M.; MARGOLSKEE, R. F.; CHAUDHARI, N.; KINNAMON, S.; Tonic activity of G-gustducin regulates taste cell responsivity. **Federation of European Biochemical Societies Letters** v. 582, p. 3783–3787, 2008.

CLONINGER M. R.; BALDWIN, R. E.. L-Aspartyl-L-Phenylalanine Methyl Ester (Aspartame) as a sweetener. **Journal of Food Science** v. 39, n. 2, p.347–349, 1974.

COELHO, A. A., CENCI, S. A., RESENDE, E. D. Qualidade do suco de maracujá-amarelo em diferentes pontos de colheita e após o amadurecimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 3, p. 722-729, maio/jun., 2010.

COIMBRA, E. C. A. S. **Doença periodontal e Diabetes Mellitus** monografia de conclusão de curso, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, 2009.

COLLIN, H-L.; NISKANEN, L.; UUSITUPA, M.; TÖYRY, J.; COLLIN, P.; KOIVISTO, A-M.; VIINAMÄKI, H.; MEURMAN, J. H.; KUOPIO, H.; FINLAND, T. Oral symptoms and signs in elderly patients with type 2 diabetes mellitus. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology** v. 90, n. 3, p. 299-305, 2000.

CUMMING, T. A.; KINNAMON, S. C. Apical K⁺ channels in *Necturus* taste cells. **Journal of General Physiology** v. 99, p. 591-613, 1992.

DE MARCHI, R., MCDANIEL, M. R.; BOLINI, H. M. A.. Formulating a new passion fruit juice beverage with different sweetener systems. **Journal of Sensory Studies**, v.24, p.698–711, 2009.

DALY, B. P., DALY, M. P., MINNITI, N.; DALY, J. M. Sense of taste (Effect on Behavior) Encyclopedia of Human Behavior (Second Edition), p. 373-378, 2012.

DELIZA, R.; MACFIE, H., HEDDERLEY, D. The consumer sensory perception of passion-fruit juice using free-choice profiling. **Journal of Sensory Studies** v. 20, p. 17–27, 2005.

DELLA MODESTA; R. C.; GONÇALVES; E. B.; ROSENTHAL; A.; SILVA, A. L. S.; FERREIRA; J. C. S. Desenvolvimento do perfil sensorial e Avaliação sensorial/instrumental de suco de maracujá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 345-352, abr.-jun., 2005.

DONALDSON, L. F.; BENNETT, L.; BAIC, S. & MELICHAR, J. K. Taste and weight: is there a link? **American Journal of Clinical Nutrition** v. 90(suppl), 800S–3S, 2009.

DOTY, R. L. Gustation. **WIREs Cognitive Science**, v. 3, p. 29–46. doi: 10.1002/wcs.156, 2012.

DOTY, R. L.; SAITO, K.; BROMLEY, S. M. Disorders of taste and smell **The Senses: A Comprehensive Reference**, v. 4, p. 859-887, 2008.

DUTRA, M. B. L. AND BOLINI, H. M. A. Sensory and physicochemical evaluation of acerola nectar sweetened with sucrose and different sweeteners. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 33, n. 4, p. 612-618, 2013.

ETXEBERRIA, E., AND GONZALEZ, P.. Accumulation of sucrose and other soluble solids in citrus juice cells. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 118, p. 43–48, 2005.

FARK, T., HUMMEL, C.; HÄHNER, A.; NIN, T.; HUMMEL, T. Characteristics of taste disorders. **European Archives of Otorhinolaryngology** v. 270, p. 1855–1860, 2013.

FERNANDES, A. G., SANTOS, G. M., SILVA, D. S., de SOUSA, P. H. M., MAIA, G. A., FIGUEIREDO, R. W., Chemical and physicochemical characteristics changes during passion fruit juice processing. **Food Science and Technology (Campinas)**, Campinas, v. 31, n. 3, p. 747-751, jul.-set., 2011.

FREITAS, M. L. F. "Néctar de pitanga preparado com diferentes edulcorantes: determinação do perfil sensorial e estudos com consumidores. 2013. Dissertação (Mestre em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013. 141p.

FREITAS, M. L. F.; DUTRA, M. B. L.; BOLINI, H. M. A. Development of pitanga nectar with different sweeteners by sensory analysis: Ideal pulp dilution, ideal sweetness, and sweetness equivalence. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 34, n. 1, p. 174-180, 2014.

GONDIVKAR, S. M., INDURKAR, A., DEGWEKAR, S., BHOWATE, R. Evaluation of gustatory function in patients with diabetes mellitus type 2. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Oral Endodontology** v.108, n. 6, p. 876-880, 2009.

GUYTON, A. C., HALL, J. E. **O Tratado de Fisiologia Médica**. São Paulo: Elsevier Medicina Brasil, 2006, 1264p.

HERSHKOVICH, O.; NAGLER, R. M. Biochemical analysis of saliva and taste acuity evaluation in patients with burning mouth syndrome, xerostomia and/or gustatory disturbances. **Archives of Oral Biology** v. 49, p. 515-522, 2004.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Produção agrícola municipal. Culturas temporárias e permanentes**, v. 39, 2012.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) **Banco de Dados Agregados** Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=3464&z=t&o=22> Acessado em 22.07.2014, 2013.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION (IDF). **IDF Diabetes Atlas**, sixth edition Disponível em: www.idf.org/diabetesatlas Acessado em 05.08.2014, 2013.

ISEZUO, S. A.; SAIDU, Y.; ANAS, S.; TAMBWAI, B., BILBIS, I. S. Comparative analysis of salt taste perception among diabetics, hypertensives and diabetic hypertensives. **Nigerian Medical Practitioner** v. 53, n. ½, p. 7-10, 2008.

IV DIRETRIZ BRASILEIRA SOBRE DISLIPIDEMIAS E PREVENÇÃO DA ATEROSCLEROSE **Arquivos Brasileiros de Cardiologia** v. 88, supl I, p. 2-19. 2007.

JANZANTTI, N. S., MACORIS, M. S. GARRUTTI, D. S. MONTEIRO, M. Influence of the cultivation system in the aroma of the volatile compounds and total antioxidant activity of passion fruit. **LWT - Food Science and Technology** v. 46, p. 511-518, 2012.

KAWAGUCHI H.,MURATA K. Electric gustatory threshold in diabetics and its clinical significance.**Journal of Otolaryngology of Japan**, v. 98, n. 8, p. 1291-1296, 1995.

KEAST, R. S. J., BRESLIN, P. A. S. An overview of binary taste–taste interactions. **Food Quality and Preference** v. 14, p. 111–124, 2002.

KETTANEH, A.; PARIÈS, J.; STIRNEMANN, J.; STEICHEN, O.; ECLACHE, V.; FAIN, O.; THOMAS, M. Clinical and biological features associated with taste loss in internal medicine patients. A cross-sectional study of 100 cases **Appetite** v. 44, p. 163-169, 2005.

KHAN, N. A., BESNARD, P. Oro-sensory perception of dietary lipids: New insights into the fat taste transduction. **Biochimica et Biophysica Acta** v.1791, p. 149–155, 2009.

KHOBRADE, R. S.; WAKODE, S. L., KALE; A. H.. Physiological taste threshold in type 1 Diabetes Mellitus. **Indian Journal of Physiology and Pharmacology**. v. 56, n.1, p. 42-47, 2012.

LAWLESS, H. T. A simple alternative analysis for threshold data determined by ascending forced-choice methods of limits. **Journal of Sensory Studies** v. 25, p. 332-346, 2010.

LAWSON, ZEIDLER, RUBENSTEIN Taste detection and preferences in diabetics and their relatives. **Psychosomatic Medicine**. v. 41, n. 3, p. 219-27, 1979.

LE FLOCH, J. P.; LIÈVRE, G. L; SADOUN, J. PERLEMUTER, L; PEYNEGRE, R.; HAZARD, J. Taste impairment and related factors in type I diabetes mellitus. **Diabetes Care**; v. 12, p. 173-178, 1989.

LE FLOCH, J. P.; LE LIÈVRE, G.; LABROUE, M.; PEYNÈGRE, R., PERLEMUTER, L. Early detection of diabetic patients at risk of developing degenerative complications using electric gustometry: a five-year follow-up study. **European Journal of Medicinal Chemistry** v. 1, p. 208-214, 1992.

LESSCHAEVE, I., NOBLE, A. C. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. **American Journal of Clinical Nutrition** v. 81(suppl), p.330S–335S, 2005.

LÓPEZ-VARGAS, J. H., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A., VIUDAMARTOS, M. Chemical, physico-chemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of dietary fiber powder obtained from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) co-products. **Food Research International** v. 51, p. 756–763, 2013

LOPRINZI, P. D; HAGER, K. K.; HAMULU, P. Y. Physical activity, glycemic control, and diabetic peripheral neuropathy: A national sample. **Journal of Diabetes and Its Complications** v. 28, p. 17–21, 2014

LYMAN, B. J., GREEN, B. G. Oral astringency: effects of repeated exposure and interactions with sweeteners. **Chemical Senses** v. 15, n. 2, p. 151-164, 1990.

MACHADO, S.S.; CARDOSO, R.L.; MATSUURA, F.C.A.U.; FOLEGATTI, M.I.S. Caracterização física e físico-química de frutos de maracujá amarelo provenientes da região de Jaguaquara. **Magistra, Cruz das Almas**, v.15, n.2, p.229-233, 2003.

- MALIK, A., JEYARANI, T., RAGHAVAN, B. A comparison of artificial sweeteners' stability in a lime-lemon flavored carbonated beverage. **Journal of Food Quality**, v. 25, n. 1, p. 75–82, 2002.
- MARCELLINI, P. S.; CHAINHO, T. F.; BOLINI, H. M. A. Doçura ideal e análise de aceitação de suco de abacaxi concentrado reconstituído adoçado com diferentes edulcorantes e sacarose. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 2, p. 177-182, 2005.
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; Carr, B.T. **Sensory Evaluation Techniques**. Boca Raton: CRC Press, 1999. ed 3^a. 386p.
- MELO, L. L. M. M., BOLINI, H. M. A., EFRAIM, P. Sensory profile, acceptability, and their relationship for diabetic/reduced calorie chocolates. **Food Quality and Preference**, v. 20, p. 138-143, 2009.
- MOORE, P. A.; GUGGENHEIMER, J.; ORCHARD, T. Burning mouth syndrome and peripheral neuropathy in patients with type 1 diabetes mellitus **Journal of Diabetes and Its Complications** v. 21, p. 397-402, 2007.
- MORAIS, E. C.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. BOLINI; H. M. A.. Prebiotic gluten-free bread: Sensory profiling and drivers of liking. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, p. 248-254, 2014.
- NABORS, L. O.. Sweet choices: sugar replacements for foods and beverages. *Food Technology*, v. 56, n. 7, p. 28–35, 2002.
- NAIK, B. S.; SHETTY, N.; MABEN, E. V. S. Drug-induced taste disorders. **European Journal of Internal Medicine** v. 21, p. 240–243, 2010.
- NAKA, A.; RIEDL, M.; LUGER, A.; HUMMEL, T.; MUELLER, C. A. Clinical significance of smell and taste disorders in patients with diabetes mellitus. **European Archives Otorhinolaryngology** v. 267, p.547–550, 2010.
- NEGRATO, C. A.; TARZIA, O. Buccal alterations in diabetes mellitus. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 2, n. 3, p. 2-11, 2010.
- NICHOLS, G. A.; JAVOR, K.; HILLIER, T. A., BROWN, J. B. Predictors of Glycemic Control in Insulin-Using Adults With Type 2 Diabetes. **Diabetes Care** v. 23, p. 273–277, 2000.
- OKORO, E. O. OYEJOLA, B. A. & JOLAYEMI, E. T. Pattern of salt taste perception and blood pressure in normotensive offspring of hypertensive and diabetic patients **Annals of Saudi Medicine**, v. 22, n.3 -4, p. 249-25, 2002.
- PAI, M.-H.; KO, T.-L.; CHOU, H.-C. Effects of streptozotocin-induced diabetes on taste buds in rat vallate papillae. **Acta Histochemica**, v. 109, n. 3, p.200–207, 2007.
- PERROS, P.; MACFARLANE, T. W.; COUNSELL, C., FRIER, B. M. Altered taste sensation in newly-diagnosed NIDDM. **Diabetes Care** v. 19, p. 768–770, 1996.
- PINHEIRO, M.V.S., OLIVEIRA, M.N., PENNA, A.L.B.; TAMIME, A.Y. The effect of different sweeteners in low-calorie yogurts – a review. **International Journal of Dairy Technology**. v.58, p.193–199, 2005.

PRAKASH, I.; CORLISS, G.; PONAKALA, R.; ISHIKAWA, G. Neotame: the next generation sweetener. **Food Technology**, v.56, p.36-40, 2002.

PRESCOTT, J., RIPANDELLI, N., WAKELING, I., Binary taste mixture interactions in PROP non-tasters, medium-tasters and supertasters. **Chemical Senses** v. 26, p. 993–1004, 2001.

REIS, R. C.; MINIM, V. P. R.; BOLINI, H. M. A.; DIAS, B. R. P., MINIM, L. A.; CERESINO, E. B. Sweetness equivalence of different sweeteners in strawberry-flavored yogurt. **Journal of Food Quality** v. 54, p. 163-170, 2011.

ROSSLER, P., BOEKHOFF, I., TAREILUS, E., BECK, S., BREER, H., AND FREITAG, J. G-protein complexes in circumvallate taste cells involved in bitter transduction. **Chemical Senses** v. 25, n. 4, p. 413-421, 2000.

ROSSINI, K.; VERDUN, S.; CARIOU, V.; QANNARI, E. M. AND FOGLIATTO, F. S. PLS discriminant analysis applied to conventional sensory profiling data. **Food Quality and Preference**, v. 23, p. 18–24, 2012.

RUIZ-AVILA, L., MCLAUGHLIN, S. K., WILDMAN, D., MCKINNON, P. J., ROBICHON, A., SPICKOFSKY, N., MARGOLSKEE, R. F. Coupling of bitter receptor to phosphodiesterase through transducin in taste receptor cells. **Nature** v. 376, p. 80-85, 1995.

SALMINEN, S.; HALLIKAINEN, A. Sweeteners. In: Food Additives. New York: Marcel Dekker Inc., 2002

SANDBERG, G. E., SUNDBERG, H. E.; FJELLSTROM, C. F. WIKBLAD, K. F. Type 2 diabetes and oral health. A comparison between diabetic and non-diabetic subjects **Diabetes Research and Clinical Practice** v. 50, p. 27–34, 2000.

SANDERS, O. G.; AYERS, J. V. Taste acuity in the elderly: the impact of threshold, age, gender, medication, health and dental problems **Journal of Sensory Studies**, v. 17, p. 89-104, 2002.

SANDI, D., CHAVES, J. B. P.; PARREIRAS, J. F.; SILVA, M. T. C. Avaliação da qualidade sensorial de suco de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) submetido à pasteurização e armazenamento. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 21, n.1, p.141-158, 2003.

SARAVANAN, S., PARIMELAZHAGAN, T. In vitro antioxidant, antimicrobial and anti-diabetic properties of polyphenols of *Passiflora ligularis* Juss. fruit pulp. **Food Science and Human Wellness** v. 3, n. 2, p. 56-64, 2014.

SARON, E. S., DANTAS, S. T., MENEZES, H. C., SOARES, B. M. C., NUNES, M. F. Estabilidade sensorial de suco de maracujá pronto para beber acondicionado em latas de aço. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.4, p.772-778, 2007.

SEIBERLING, K. A.; CORLEY, D. B.; Aging and olfactory and taste function. **Otolaryngologic Clinics of North America** v. 37, p. 1209-1228, 2004.

SENTHIL, A., BHAT, K. K., Best estimated taste detection threshold for cardamom (*Blettaria Bardamomum Baton*) aroma in different media. **Journal of Sensory Studies**, v. 26, n. 1, p. 48-53, 2011.

SHIP, J. A., Diabetes and oral health: an overview. **Journal of the American Dental Association**, v. 134, p. 4S-10S, 2003.

SHIP, J. A.; CHÁVEZ, E. M. Special Senses: Disorders of taste and Smell, cap 27; in SILVERMAN, S. EVERSOLE, L. R.; TRUELOVE, E. L., *Essentials of oral medicine*, London, 2001. Disponível em http://web.squ.edu.om/med-Lib/MED_CD/E_CDs/Essential%20of%20Oral%20Medicine/docs/ch27.pdf, Acesso em 16 de outubro de 2011.

SIDDIQUI, F. J., AVAN, B. I.; MAHMUD, S.; NANAN, D. J.; JABBAR, A.; ASSAM, P. N. Uncontrolled diabetes mellitus: Prevalence and risk factors among people with type 2 diabetes mellitus in an Urban District of Karachi, Pakistan. **Diabetes Research and Clinical Practice**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2014.09.025>, 2014.

SIGAL, R. J.; KENNY, G. P.; WASSERNAN, D. H.; CASTANEDA-SCEPPA, C. WHITE, R. D. Physical Activity/Exercise and Type 2 Diabetes A consensus statement from the American Diabetes Association. **Diabetes Care**, v. 29, n. 6, p. 1433-1438, 2006.

SMITH, D. V.; MARGOLSKEE, R. F. Making sense of taste. *Scientific American* Marc, 2006. Disponível em www.sciam.com. Acessado em 19 de agosto de 2014.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES (SBD) **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2014-2015**, 374p.

STOLBOVÁ, K.; HAHN, A.; BENES, B.; ANDEL, M., TRESLOVÁ, L. Gustometry of Diabetes Mellitus Patients and Obese Patients. **International Tinnitus Journal**, v. 5, n. 2, p.135-140, 1999.

STONE, H., OLIVER, S.M. Measurement of the relative sweetness of selected sweeteners and sweetener mixtures. **Journal of Food Science**, v. 34, n. 2, p. 215–222, 1969.

TEPPER, B. J.; HARTFIEL, L. M. SCHNEIDER, S. H., Sweet taste and diet in type II diabetes. **Physiology & Behavior**, v. 60, n. 1, p. 13-18, 1996.

TOKUYAMA, E., SHIBASAKI, T., KAWABE, H., MUKAI, J., OKADA, SACHIE, UCHIDA, T. Bitterness suppression of BCAA solutions by L-ornithine. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**. v. 54, n. 9, p. 1288-1292, 2006.

TREVISAM MORAES, P. C. B.; BOLINI, H. M. A. Different sweeteners in beverages prepared with instant and roasted ground coffee: ideal and equivalent sweetness. **Journal of Sensory Studies**, v. 25, p. 215-225, 2010.

UMBELINO, D. C. Caracterização por Análise Descritiva Quantitativa e Análise Tempo Intensidade de Suco e de Polpa de Manga (*Mangifera indica* L.) Adoçados com Diferentes 136 Edulcorantes. 2005. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005, 190p.

UMPIERREZ G. E., LATIF, K. A., MURPHY, M. B., LAMBERT, H. C., STENTZ, F., BUSH, A. Thyroid dysfunction in patients with type 1 diabetes. **Diabetes Care** v. 26, p.1181-1185, 2003.

VOORPOSTEL, C. R.; DUTRA, M. B. L.; BOLINI, H. M. A. Sensory profile and drivers of liking for grape nectar among smoker and nonsmoker consumers. **Food Science and Technology (Campinas)** v.34, n.1, p.164-173, 2014.

YOSHIDA, R. Hormones and bioactive substances that affect peripheral taste sensitivity. **Journal of Oral Biosciences** v. 54, p. 67–72, 2012.

WELGE-LÜSSEN, A.; DÖRIG, P.; WOLFENBERGER, M.; KRONE, F.; HUMMEL, T. A study about the frequency of taste disorders **Journal of Neurology**, v. 258, p. 386-392, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Global status report on alcohol**. Genebra: WHO, 2004

WROBEL, B. B., LEOPOLD, D. A. Smell and taste disorders. **Facial Plastic Surgery Clinics of North America** v. 12, p. 459-468, 2004.

Anexo

Artigo 1: Different sweeteners in passion fruit juice: Ideal and equivalent sweetness

Artigo publicado na LWT-Food Science and Technology



LWT - Food Science and Technology

Volume 62, Issue 1, Part 2, June 2015, Pages 861–867

Healthy Snacks: Recent Trends and Innovative Developments to Meet Current Needs



Different sweeteners in passion fruit juice: Ideal and equivalent sweetness

Izabela Furtado de Oliveira Rocha  , Helena Maria André Bolini 



Thank you for your email.

Please note that as one of the authors of this article, you retain the right to include the journal article, in full or in part, in a thesis or dissertation. You do not require permission to do so.

For full details of your rights as a Journal Author, please visit:

<http://www.elsevier.com/locate/authorrights>

Your retained rights allow you to submit your article in electronic format and to post this Elsevier article online if it is embedded within your thesis. You are also permitted to post your Author Accepted Manuscript online; however posting of the final published article is prohibited.

Please refer to Elsevier's Posting Policy for further information: <http://www.elsevier.com/locate/authorrights>

Feel free to contact me if you have any queries.

Regards

Lakshmi Priya

Global Rights Department

Elsevier

(A division of Reed Elsevier India Pvt. Ltd.)

Artigo 2: Passion fruit juice with different sweeteners: sensory profile by
descriptive analysis and acceptance

Artigo publicado na Food Science & Nutrition

Food Science & Nutrition

Open Access

ORIGINAL RESEARCH

Passion fruit juice with different sweeteners: sensory profile by descriptive analysis and acceptance

Izabela Furtado de Oliveira Rocha* & Helena Maria André Bolini

Faculty of Food Engineering, Food and Nutrition Department, University of Campinas, R. Monteiro Lobato 80, 6121 Campinas, Brazil

Dear Prof. Rocha,

Thanks for checking.

Please be informed that since you have obtained a CC-BY type of copyright, you already have a permission to reuse, distribution and reproduction of your article in any medium, provided that the contribution is properly cited (see screenshot below for your reference):

Use of the article in whole or part in any medium requires attribution suitable in form and content as follows: [Title of Article/Author/Journal Title and Volume/Issue. Copyright (c) [year] [copyright owner as specified in the Journal]. Links to the final article on Wiley's website are encouraged where applicable.

Please note that for any reuse or distribution of the article, you must include the copyright notice and make clear to others that the article is made available under Creative Commons Attribution License, linking to the relevant Creative Commons web page.