



# Avaliação da estabilidade da capacidade antioxidante e de parâmetros físico-químicos de néctares de frutas caseiros

## Assessment of the antioxidant capacity and of the physical-chemicals parameters stability in homemade fruit nectars

RIALA6/1705

Bárbara Pereira da SILVA<sup>1\*</sup>, Karla Pereira BALBINO<sup>1</sup>, Leandro de Moraes CARDOSO<sup>2</sup>, Priscila Peixoto AQUINO<sup>1</sup>, Helena Maria PINHEIRO-SANT'ANA<sup>1</sup>, Sônia Machado Rocha RIBEIRO<sup>1</sup>

\*Endereço para correspondência: <sup>1</sup>Laboratório de Análise de Vitaminas, Departamento de Nutrição e Saúde, CCB II, Universidade Federal de Viçosa, Avenida Ph Rolfes, s/n, Viçosa, MG, Brasil, CEP: 36571-000. Tel: 31 3899 1684. E mail: barbarapereira2805@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Juiz de Fora, Governador Valadares, MG, Brasil

Recebido: 05.07.2016 - Aceito para publicação: 05.09.2016

### RESUMO

Este estudo avaliou a capacidade antioxidante e os indicadores físico-químicos de néctares caseiros de laranja, manga e maracujá, mantidos sob refrigeração ( $5 \pm 2$  °C) por 24 horas. Os néctares foram preparados em laboratório e mantidos sob refrigeração, simulando as condições domésticas. As análises foram realizadas após o preparo (T0) e durante o acondicionamento sob refrigeração (1 h, 4 h e 24 h). Os sólidos solúveis, pH e cor foram determinados respectivamente por refratometria, potenciometria e colorimetria. Carotenoides e ácido ascórbico foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência; a concentração de compostos fenólicos foi determinada utilizando-se o reagente de Folin Ciocalteu e a atividade antioxidante pelo teste do DPPH. Ácido ascórbico,  $\beta$ -caroteno e compostos fenólicos foram identificados em todos os néctares. Foram encontrados  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -criptoxantina no néctar de laranja e licopeno no néctar de manga. Durante 24 horas de refrigeração, os compostos analisados e a atividade antioxidante mantiveram-se estáveis. De forma geral, os parâmetros físico-químicos também se mantiveram estáveis durante o período avaliado. Em conclusão, sob as condições utilizadas no presente estudo, os néctares não apresentaram alteração da capacidade antioxidante, podendo ser considerados fontes de carotenoides e vitamina C, mesmo se consumidos após 24 horas de preparo.

**Palavras-chaves.** laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck), manga (*Mangifera indica* L.), maracujá (*Passiflora edulis*), compostos fenólicos, ácido ascórbico, carotenoides.

### ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate the antioxidant capacity and the physical-chemical indicators of homemade nectars of orange, mango and passion fruit, kept under refrigeration ( $5 \pm 2$  °C) for 24 hours. The nectars were prepared in laboratory and kept under refrigeration simulating the domestic conditions. The samples analyses were performed after their preparations (T0) and during the refrigerated storage (1 h, 4 h and 24 h). Soluble solids, pH and color were determined by refractometry, colorimetry and potentiometry, respectively. Carotenoids and ascorbic acid were analyzed by high performance liquid chromatography, the concentration of phenolic compounds were determined by using Folin Ciocalteu reagent, and the antioxidant activity by the DPPH test. Ascorbic acid,  $\beta$ -carotene and phenolic compounds were identified in all of the analyzed nectars samples. The  $\alpha$ -carotene and  $\beta$ -cryptoxanthin were found in orange nectar and the lycopene in mango nectar samples. During the refrigeration for 24 hours, the analyzed compounds and the antioxidant activity remained stable. In general, the physical-chemicals parameters also remained stable during the storage for 24 hours. In conclusion, under the conditions used in this study, the nectars might be considered as antioxidant sources, even if consumed after being prepared 24 hours before.

**Keywords.** orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck), mango (*Mangifera indica* L.), passion fruit (*Passiflora edulis*), phenolic compounds, ascorbic acid, carotenoids.

## INTRODUÇÃO

As frutas, na forma integral ou de suco, são nutricionalmente importantes para a alimentação humana, uma vez que são fontes de vitaminas, minerais e fibras alimentares. Estudos experimentais e epidemiológicos demonstraram que a ingestão de frutas está associada à menor incidência de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), tais como obesidade, câncer, síndrome metabólica, diabetes *mellitus* e doenças cardiovasculares<sup>1-4</sup>. Estes efeitos estão relacionados à presença de compostos antioxidantes, dentre os quais se destacam os compostos fenólicos,  $\beta$ -caroteno, vitamina C e E<sup>2,4-6</sup>.

O Brasil é um dos principais produtores de frutas tropicais, tais como laranja, manga e maracujá. Do total de frutas produzidas pelo país, 47 % são consumidas no seu estado natural e 53 % são transformados em produtos, especialmente suco<sup>7</sup>. No Brasil, os consumidores têm preferência por néctares caseiros, preparados na hora, sendo muitos consumidores avessos ao consumo de néctares industrializados<sup>8</sup>. Por razões práticas, estes néctares permanecem armazenados na geladeira algumas horas após a preparação.

Uma das grandes preocupações da população em geral refere-se à possibilidade de perda do valor nutricional e compostos bioativos dos néctares caseiros durante o armazenamento em geladeira. Sabe-se que os compostos antioxidantes presentes em néctares industrializados, armazenados por longo período de tempo, podem ser afetados por calor, luz e oxigênio<sup>9,10</sup>. No entanto, são desconhecidas as alterações na capacidade antioxidante de néctares caseiros durante refrigeração.

A fim de contribuir para o conhecimento das propriedades funcionais de néctares de frutas tropicais, o presente estudo investigou a estabilidade da capacidade antioxidante e dos parâmetros físico-químicos de néctares caseiros de laranja, manga e maracujá armazenados sob refrigeração por 24 horas, por meio da concentração de carotenoides, ácido ascórbico, compostos fenólicos e atividade antioxidante.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Matéria-Prima

Laranja “pêra” (*Citrus sinensis* L. Osbeck), maracujá “amarelo” (*Passiflora edulis*) e manga “Tommy Atkins” (*Mangifera indica* L.) foram adquiridas, em três repetições, no comércio local abastecido pelo CEASA-Minas Gerais. As repetições foram constituídas por 15 unidades de cada fruta, adquiridas em semanas distintas e consecutivas.

Os frutos foram adquiridos parcialmente maduros, com as seguintes características: laranja “pêra”: casca amarela-alaranjada; manga “Tommy Atkins”: frutos macios quando levemente pressionados com os dedos, casca amarelo- avermelhado e polpa amarelo escuro; maracujá “amarelo”: frutos com casca lisa e de coloração predominantemente amarelada. No laboratório, os frutos íntegros foram lavados em água corrente e secos em temperatura ambiente para posterior preparo.

### Preparo dos néctares caseiros

Néctares de laranja, manga e maracujá (com e sem semente) foram preparados considerando as características de cada fruta e os hábitos da população brasileira. O de laranja foi extraído em espremedor elétrico (Walita, Brasil) e preparado na proporção laranja: água filtrada de 2:1 (m/v); o de manga foi preparado homogeneizando-se a polpa de manga com água filtrada 4:6 (m/v) em liquidificador (Walita, Brasil), seguido de filtração em peneira. O néctar de maracujá com semente foi preparado homogeneizando-se a polpa de maracujá com água filtrada 2:8 (m/v) em liquidificador (Walita, Brasil), seguido de filtração em peneira. O néctar de maracujá sem semente foi preparado conforme descrito para o com semente, utilizando-se polpa previamente separada da semente.

### Armazenamento e análises de indicadores físico-químicos dos néctares caseiros

Os néctares foram acondicionados em jarras de vidro e mantidos sob refrigeração ( $4 \pm 2$  °C), por 24 horas, simulando condições domésticas de acondicionamento. Para análise, alíquotas

dos néctares foram coletadas imediatamente após o preparo (T0) e em três tempos durante o armazenamento sob refrigeração: 1, 4 e 24 horas. Devido ao grande volume de análises, as alíquotas foram acondicionadas em embalagens de polipropileno e armazenadas na ausência de luz, sob congelamento ( $-18 \pm 2$  °C) por, no máximo, 2 dias.

Os néctares foram caracterizados após o preparo (T0) e durante o armazenamento (1, 4 e 24 horas após o preparo) quanto à concentração de sólidos solúveis, utilizando-se um refratômetro digital (28 A, 65 °Brix, modelo 105-de) e o pH (modelo PH-2800) foi avaliado por meio de potenciometria direta<sup>11</sup>.

As determinações das coordenadas de cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) foram medidas quantitativamente usando um colorímetro (HunterLab, Miniscan XE, Reston). O valor de  $L^*$  indica luminosidade do branco ao preto,  $a^*$  indica luminosidade do vermelho ao verde e  $b^*$  indica luminosidade do amarelo ao azul.

### Estimativa de fenólicos totais e avaliação da atividade antioxidante

#### Preparo dos extratos

Um grama de amostra previamente homogeneizada foi acrescentada a 10 mL de solução de extração, composta de metanol: água 60:40 (v/v) e submetida à agitação (80 g), em temperatura ambiente por 15 minutos. Após esse procedimento, a amostra foi centrifugada a 3.500 rpm (1.000 g), por 5 minutos. As frações do sobrenadante foram diluídas para obter extratos na concentração de 0,066 g de polpa/mL. Alíquotas dos extratos foram utilizadas nos testes antioxidantes e para a estimativa de fenólicos totais<sup>12</sup>.

As amostras ficaram protegidas da luz (solar e artificial) e do oxigênio através da utilização de cortinas do tipo *blackout*, vidrarias âmbar, papel alumínio, vidrarias com tampas e ambiente com gás nitrogênio.

#### Concentração de compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos foram determinados utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu<sup>13</sup>.

Alíquotas de 0,5 mL de extrato foram adicionadas a 0,5 mL de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, Alemanha) (diluído 5 vezes em água), e após homogeneização foi acrescentado 0,5 mL de carbonato de sódio (7,5 %). A mistura de reação foi homogeneizada em vórtex (3.000 rpm, 10 segundos) e incubada à temperatura ambiente (30 minutos). Em seguida, a absorvância foi lida em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-VIS 1601), a 765 nm, contra o branco, constituído por todos os reagentes exceto o extrato.

A quantificação foi realizada por meio de curva analítica, obtida a partir da leitura da absorvância de soluções de ácido gálico (Sigma-Aldrich, Alemanha) com concentrações entre 0,005 e 0,08 g/L. O total de fenólicos foi expresso em miligrama de equivalentes de ácido gálico por mL de néctar (mg EAG/mL) e considerado como a soma do conteúdo de fenólicos dos extratos aquoso e aquoso-metanólico.

#### Avaliação da atividade antioxidante (2,2-diphenil-2-picril-hidrazil)

A atividade antioxidante foi avaliada por meio do teste de retirada do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazila<sup>12</sup>. Para o preparo dos extratos os néctares foram descongelados, homogeneizados em vórtex (80 g, 10 segundos) e centrifugados (1000 g, 10 minutos). Em seguida, 100 µL do sobrenadante foi adicionado a 1,5 mL de solução metanólica de DPPH (Sigma-Aldrich, Alemanha) 0,1 mM. A mistura de reação foi homogeneizada (80 g, 10 segundos) e mantida em repouso por 30 minutos. A absorvância do extrato foi lida em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-VIS 1601) a 517 nm. A capacidade para eliminar o radical DPPH• foi calculada utilizando a seguinte equação:

$$\text{Atividade de retirada de radical (\%)} = 100 \% - \left\{ \left( \text{Abs}_{\text{amostra}} - \text{Abs}_{\text{branco da amostra}} / \text{Abs}_{\text{controle}} \right) \times 100 \right\}$$

Em que:

$\text{Abs}_{\text{controle}}$  é a absorvância do controle (solução de DPPH• sem a amostra);  $\text{Abs}_{\text{amostra}}$  é a absorvância da amostra-teste (solução de DPPH• mais a amostra-teste);  $\text{Abs}_{\text{branco}}$  é a absorvância da solução de extração apenas, sem amostra ou solução de DPPH•.

Padrões comerciais de antioxidantes (hidroxianisol butilado – BHA - Sigma-Aldrich, Alemanha) na concentração de 100 ppm e ácido gálico na concentração de 0,005 g/mL foram utilizados como controles positivos.

### Determinação de carotenoides

Os carotenoides ( $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno, licopeno e  $\beta$ -criptoxantina) dos néctares foram extraídos<sup>14</sup>. Aproximadamente 5 gramas de amostra foram homogeneizadas em 20 mL de acetona resfriada, com o auxílio de um microtritador, por 2 minutos. A suspensão obtida foi filtrada à vácuo em funil de Büchner com papel de filtro, mantendo-se o resíduo no tubo de extração. Em seguida, o procedimento de extração foi repetido adicionando-se 20 mL de acetona resfriada ao resíduo, com posterior homogeneização e filtração à vácuo.

Posteriormente, foi realizada a partição dos carotenoides da acetona para o éter de petróleo. O filtrado foi transferido, em três frações, para um funil de separação contendo 50 mL de éter de petróleo resfriado. Após a transferência de cada fração, foi adicionado 100 mL de água destilada para a separação de fases (carotenoides-éter de petróleo e acetona-água), sendo a fase inferior (acetona-água) descartada. Foi acrescentado sulfato de sódio anidro ao extrato etéreo para remover o resíduo de água. Em seguida, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo a  $35 \pm 2$  °C (2 minutos), transferido para balão volumétrico e redissolvido para 25 mL com éter de petróleo. Para a análise, alíquotas de 2,0 mL do extrato foram evaporadas sob fluxo de gás nitrogênio e o resíduo seco foi retomado em 2,0 mL de acetona grau HPLC. Em seguida o extrato foi filtrado (0,45  $\mu$ m, Millipore, Brasil) e injetado (40  $\mu$ L)<sup>15</sup>.

As análises de carotenoides foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência, com detecção por arranjo de diodos (CLAE-DAD) e detecção a 450 nm; coluna cromatográfica Phenomenex Gemini (250 x 4 mm i.d., 5  $\mu$ m) munida de coluna de guarda Phenomenex ODS (C18), (4mm x 3mm); fase móvel composta por metanol: acetato de etila: acetonitrila (80:10:10); eluição isocrática; fluxo da fase móvel

de 2,0 mL/min, tempo de corrida de 12 min.

A identificação dos carotenoides foi realizada pela comparação dos tempos de retenção de padrões autênticos e amostras em relação aos espectros de absorção dos padrões e picos de interesse nas amostras, analisados sob as mesmas condições. A quantificação foi realizada por padronização externa, utilizando curvas analíticas construídas a partir da injeção, em duplicata, de seis diferentes concentrações de soluções padrão.

O valor da vitamina A foi calculado, sendo que 1 Equivalente de Atividade de Retinol (RAE) correspondeu a 1  $\mu$ g de retinol, 12  $\mu$ g de  $\beta$ -caroteno e 24  $\mu$ g de outros carotenoides pró-vitâmicos<sup>16</sup>.

### Determinação de ácido ascórbico

Aproximadamente 5 gramas de amostra e 15 mL da solução extratora (ácido metafosfórico 3 %, ácido acético 8 %, ácido sulfúrico 0,3 N e EDTA 1 mM) foram homogeneizados (microtritador) por 5 minutos, centrifugadas a 1789 g (30 minutos), sendo o sobrenadante transferido para um balão volumétrico e o volume completado para 25 mL com água ultrapura<sup>17</sup>.

Para análise do AA as condições cromatográficas utilizadas foram: coluna cromatográfica RP-18 Lichrospher 100, 250 x 4 mm, 5  $\mu$ m, sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O fluxo da fase móvel (1 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 mM EDTA, pH 3,00) foi de 1,0 mL/min e o tempo de corrida de 7 min. A eluição foi detectada utilizando detector de arranjo de diodos (Shimadzu SOD-M10 AVP), com comprimento de onda ajustado para 245 nm. A identificação do AA foi feita comparando-se os tempos de retenção obtidos para o padrão e para as amostras, analisados sob as mesmas condições. Além disso, foram comparados os espectros de absorção do padrão e dos picos de interesse nas amostras.

### Delineamento experimental e análise estatística dos dados

Para avaliar a estabilidade dos componentes analisados ao longo do armazenamento foi empregado o delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (0; 1; 4 e



24 horas após o preparo), em três repetições.

A normalidade dos dados foi avaliada utilizando o teste de *Shapiro-Wilk*. Para comparar as características dos néctares no tempo 0, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Duncan. A diferença entre as médias dos parâmetros nos tempos 0 e 24 horas foi avaliada utilizando o teste *t pareado*. A dispersão dos dados durante o armazenamento foi avaliada por análise de regressão. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa *SigmaPLOT* 11.0, adotando-se um nível de significância ( $\alpha$ ) de 5 %.

## RESULTADOS

Os resultados do presente estudo são de grande importância uma vez que demonstram informações sobre a estabilidade de néctares caseiros de laranja, maracujá e manga, relativas à de antioxidantes e compostos bioativos, durante o armazenamento por até 24 horas, em temperatura

de refrigeração. Esse tempo foi utilizado a fim de imitar as reais condições de armazenamento pela população, que muitas vezes, devido à praticidade do dia a dia, não possuem disponibilidade para preparar os néctares de frutas próximo ao horário de ingestão.

As características físico-químicas e a ocorrência e concentração de carotenoides, vitaminas, compostos fenólicos e da capacidade antioxidante dos néctares de laranja, maracujá e manga diferiam entre si. No entanto, os néctares de maracujá com ou sem sementes apresentam características semelhantes ( $p > 0,05$ ) em relação à concentração de carotenoides, vitamina C e compostos fenólicos totais (**Tabela**).

Os néctares apresentaram luminosidade intermediária (44,82 a 51,72), com prevalência do amarelo ( $b^+$ : 21,95 a 32,36) em detrimento ao vermelho ( $a^+$ : 1,63 a 7,06), e sólidos solúveis variando entre 0,5 e 6,7 °Brix. Após o preparo, os néctares caseiros de frutas apresentaram pH muito ácido (inferior a 4) ou ácido (entre 4 e 4,5) (**Tabela**).

**Tabela.** Características físico-químicas, ocorrência, concentração de antioxidantes e capacidade antioxidante dos néctares caseiros de frutas imediatamente após o preparo

|  | Laranja                       | Manga                       | Maracujá sem semente        | Maracujá com semente        |
|--|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| <b>Parâmetros Físico-Químicos</b>          |                               |                             |                             |                             |
| Sólidos solúveis (°Brix)                   | 6,97 <sup>a</sup> ± 0,15      | 2,10 <sup>b</sup> ± 0,26    | 0,90 <sup>c</sup> ± 0,17    | 0,50 <sup>d</sup> ± 0,10    |
| pH   | 3,45 <sup>b</sup> ± 0,05      | 4,53 <sup>a</sup> ± 0,25    | 2,8 <sup>c</sup> ± 0,12     | 2,77 <sup>c</sup> ± 0,12    |
| <b>Colorimetria</b>                        |                               |                             |                             |                             |
| L*   | 44,82 <sup>b</sup> ± 0,54     | 44,97 <sup>b</sup> ± 0,88   | 51,47 <sup>a</sup> ± 2,0    | 51,72 <sup>a</sup> ± 4,06   |
| a*   | 1,63 <sup>d</sup> ± 0,30      | 2,94 <sup>c</sup> ± 0,47    | 7,06 <sup>a</sup> ± 2,68    | 4,31 <sup>b</sup> ± 1,27    |
| b*   | 21,95 <sup>b</sup> ± 1,25     | 24,01 <sup>b</sup> ± 1,20   | 31,80 <sup>a</sup> ± 2,80   | 32,36 <sup>a</sup> ± 2,31   |
| <b>Compostos antioxidantes (em 100 mL)</b> |                               |                             |                             |                             |
| Vitamina C (mg)                            | 42,90 <sup>a</sup> ± 7,60     | 2,41 <sup>b</sup> ± 0,08    | 1,54 <sup>c</sup> ± 0,12    | 1,54 <sup>c</sup> ± 0,29    |
| β-caroteno (μg)                            | 10,21 <sup>c</sup> ± 0,63     | 144,77 <sup>a</sup> ± 57,08 | 76,06 <sup>b</sup> ± 2,48   | 68,79 <sup>b</sup> ± 2,52   |
| α-caroteno (μg)                            | 310,05 ± 166,9                | nd                          | nd                          | nd                          |
| β-criptoxantina (μg)                       | 2787,05 ± 607,05              | nd                          | nd                          | nd                          |
| Licopeno (μg)                              | nd                            | 6,40 ± 4,20                 | nd                          | nd                          |
| Carotenoides totais (μg)                   | 3107,31 <sup>a</sup> ± 789,76 | 151,17 <sup>b</sup> ± 54,87 | 186,68 <sup>b</sup> ± 19,45 | 187,10 <sup>b</sup> ± 13,88 |
| Valor de Vitamina A (EAR)                  | 129,89 <sup>a</sup> ± 8,40    | 12,06 <sup>b</sup> ± 3,89   | 6,34 <sup>c</sup> ± 1,57    | 5,23 <sup>c</sup> ± 1,89    |
| Fenólicos totais (mg EAG)                  | 1,29 <sup>a</sup> ± 0,09      | 0,84 <sup>c</sup> ± 0,03    | 1,08 <sup>b</sup> ± 0,07    | 1,04 <sup>b</sup> ± 0,09    |
| <b>Capacidade Antioxidante</b>             |                               |                             |                             |                             |
| Atividade antirradical (%)                 | 89,95 <sup>a</sup> ± 0,18     | 26,74 <sup>b</sup> ± 0,46   | 15,59 <sup>c</sup> ± 0,79   | 12,21 <sup>d</sup> ± 0,56   |

Médias seguidas por uma mesma letra minúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade, EAR: equivalente de atividade de retinol; EAG: equivalente de ácido gálico; nd: não detectado.

Com uma ampla variação na concentração, o ácido ascórbico (1,54 a 42,90 mg/100 mL) e o  $\beta$ -caroteno (10,21 a 144,77  $\mu$ g/100g) foram identificados em todos os néctares. Por outro lado,  $\alpha$ -caroteno (310,05  $\mu$ g) e a  $\beta$ -criptoxantina (2787,05  $\mu$ g) foram encontrados somente nos néctares de laranja e o licopeno, apenas no néctar de manga (**Tabela**).

A concentração de compostos fenólicos variou de 0,84 a 1,29 mg EAG/100 mL (**Tabela**). Os néctares de maracujá com e sem semente não diferiram quanto ao conteúdo de compostos fenólicos ( $p > 0,05$ ). A atividade antirradical dos néctares variou entre 12,21 e 89,95 % e não correlacionou com nenhum dos compostos analisados ( $p > 0,05$ ) (**Tabela**). Em relação à concentração de vitamina A e C nos néctares, o de laranja foi o que apresentou maior conteúdo e o de maracujá menor.

De forma geral, as características físico-químicas e o perfil antioxidante dos néctares caseiros não sofreram alterações deletérias durante 24 horas de refrigeração. Pelo fato de que, para a maioria das alterações verificadas não foi possível ajustar modelos de regressão linear ou quadrática significativos, os resultados foram apresentados em percentual de variação em relação ao tempo 0 (**Figuras 1 e 2**).

Entre as características físico-químicas, apenas o pH dos néctares manteve-se estável ao longo das 24 horas de armazenamento sob refrigeração ( $p < 0,05$ ) (**Figura 1A**). Os sólidos solúveis aumentaram significativamente em todos os néctares (**Figura 1B**). A coordenada de cor  $L^*$  aumentou no néctar de laranja e reduziu nos néctares de maracujá (com e sem semente),  $a^*$  aumentou em ambos os néctares de maracujá e  $b^*$  reduziu no de maracujá sem semente (**Figuras 1C, 1D e 1E**, respectivamente).

Os compostos antioxidantes dos néctares apresentaram excelente estabilidade, sendo observada a manutenção ou aumento significativo da maioria dos parâmetros. A concentração de ácido ascórbico não alterou durante o armazenamento dos néctares de maracujá ( $p > 0,05$ ) e aumentou no néctar de manga ( $\Delta T0$ -24h: +2 %) ( $p < 0,05$ ). Apenas o néctar de laranja apresentou

alteração indesejável no conteúdo de vitamina C, com aumento na primeira hora (+2 %), seguida de redução de 4 % após 24 horas de armazenamento ( $p < 0,05$ ) (**Figura 2A**).

O néctar de maracujá sem semente não apresentou alteração significativa na concentração de  $\beta$ -caroteno. Para os demais néctares, este carotenoide aumentou entre 6 e 10 % após 24 horas de armazenamento ( $p < 0,05$ ) (**Figura 2B**). A concentração de  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -criptoxantina no néctar de laranja e licopeno no de manga aumentaram em até 5 % durante o armazenamento ( $p < 0,05$ ) (gráficos não apresentados). Após 24 horas de armazenamento, os néctares apresentaram concentração de carotenoides totais e vitamina superior ao tempo inicial (pós preparo) (**Figuras 2C e 2D**, respectivamente).

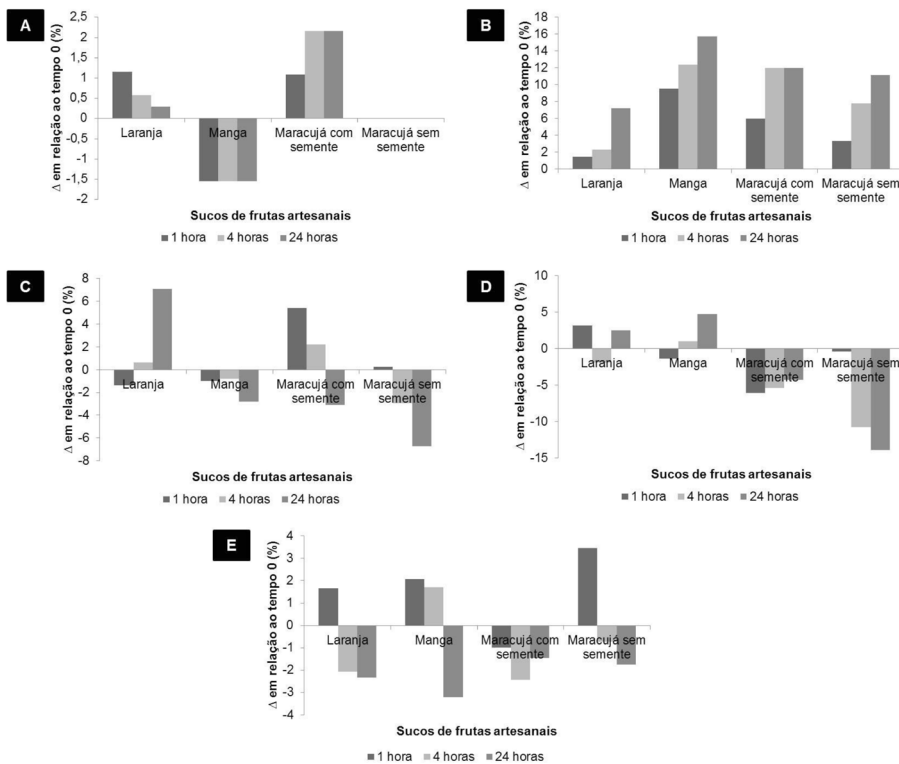
A concentração de compostos fenólicos totais não alterou durante o armazenamento (**Figura 2E**). Em consequência à excelente estabilidade dos compostos bioativos, a atividade antioxidante dos néctares manteve-se constante ( $p > 0,05$ ) (**Figura 2F**).

## DISCUSSÃO

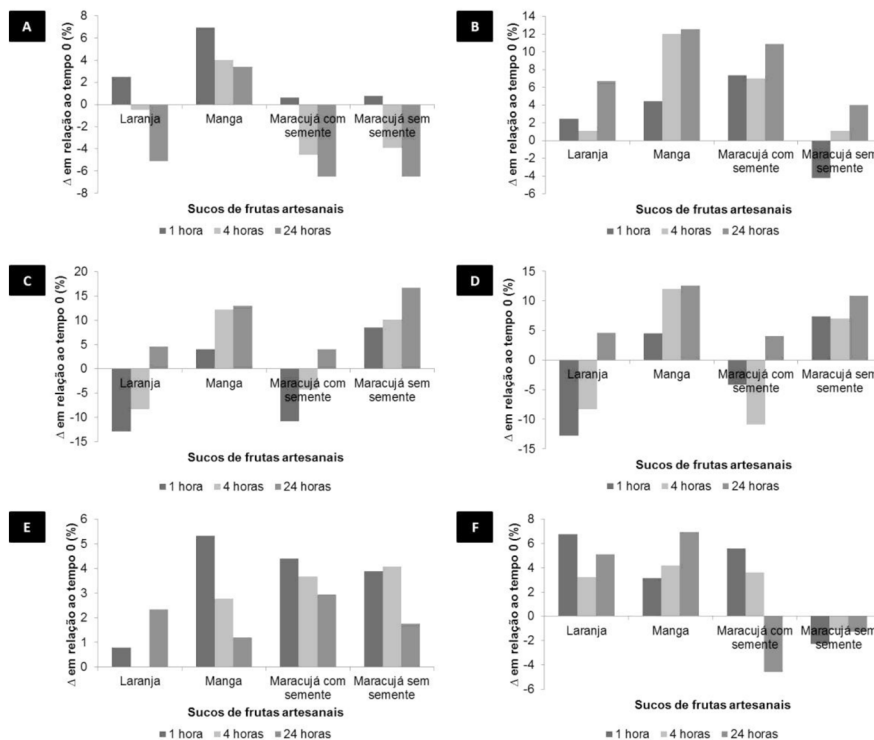
O pH inferior a 4, observado nos néctares de frutas caseiros, constitui um importante fator para o controle microbiológico, uma vez que esses não são submetidos à pasteurização. Isso contribui para a redução do crescimento de bactérias, fungos e leveduras e, conseqüentemente, para a manutenção da qualidade microbiológica da preparação<sup>18</sup>.

O perfil de antioxidantes de néctares de frutas caseiros ainda é pouco conhecido e amplamente influenciado pela variedade da fruta. Estudos sobre a estabilidade do perfil antioxidante de néctares caseiros são escassos na literatura. Diante deste contexto, a comparação dos resultados obtidos no presente estudo com os disponíveis da literatura, incluído para néctares industrializados, não é pertinente.

A presença de ácido ascórbico,  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -criptoxantina em néctares de manga, laranja e maracujá é corroborada por outros estudos<sup>19-22</sup>.



**Figura 1.** Alterações no pH (a), sólidos solúveis (b), valor de L\* (c), valor de a\* (d) e valor de b\* (e) de néctares caseiros de frutas armazenados sob refrigeração ( $5 \pm 2$  °C), por 24 horas



**Figura 2.** Alterações no conteúdo de vitamina C (a), β-caroteno (b), carotenoides totais (c), valor de vitamina A (d), compostos fenólicos totais (e) e atividade antioxidante (f) de néctares caseiros de frutas armazenados sob refrigeração ( $5 \pm 2$  °C), por 24 horas

Embora as sementes, em geral, sejam ricas em compostos fenólicos<sup>23</sup>, o néctar de maracujá com semente não apresentou maior concentração de fenólicos em relação ao sem semente. A ausência de diferença na concentração de fenólicos entre ambos os néctares de maracujá sugere que as condições de preparo dos néctares, tais como pH e o meio aquoso, não sejam ideais para a extração dos compostos fenólicos das sementes do maracujá.

Apesar do conteúdo de compostos fenólicos das amostras não ter sido elevado, a contribuição destes para a capacidade antioxidante total de néctares não pode ser desconsiderada, uma vez que se define como um antioxidante biológico “aquela substância que, quando presente em baixas concentrações em relação à concentração de oxidantes, reduz significativamente ou impede a oxidação do substrato oxidável”<sup>24</sup>.

A atividade antirradical dos néctares não correlacionou com os compostos antioxidantes analisados, sugerindo que esses contêm vários outros constituintes que podem agir sinergicamente e aumentar o potencial antioxidante<sup>25</sup>.

Considerando os critérios propostos por Philippi<sup>26</sup>, os néctares podem ser classificados como fontes das vitaminas A e C se suprem de 5 a 10 % da *Recommended Dietary Allowance* (RDA) destes nutrientes, como boas fontes se suprem de 10 a 20 % da RDA e como excelentes fontes se suprem mais de 20 % da RDA<sup>26</sup>. Dessa forma, uma porção de néctar de laranja (200 mL) foi considerada excelente fonte de vitamina C para crianças (4 e 8 anos) e adultos (19 e 30 anos)<sup>16</sup>.

Os demais néctares foram categorizados como boa fonte de vitamina C para crianças. Além disso, o néctar de laranja foi considerado excelente fonte de vitamina A para crianças (4 e 8 anos) e adultos (19 e 30 anos) e os néctares de manga e maracujá com semente foram classificados como fonte desta vitamina.

O ácido ascórbico é um importante indicador de qualidade para definir a meia vida de néctares de frutas<sup>27</sup>. Apesar da elevada susceptibilidade à degradação, a estabilidade do ácido ascórbico aumenta com a diminuição da temperatura<sup>28</sup>. Dessa forma, o controle da

temperatura mostrou-se eficaz para estender o tempo de armazenamento e manter a qualidade nutricional de néctares caseiros.

As alterações no conteúdo dos isômeros de carotenoides contribuíram para que os néctares apresentassem maior concentração de carotenoides totais e vitamina A, após 24 horas de armazenamento. Informações sobre as alterações no conteúdo de carotenoides em néctares mantidos sob refrigeração por um curto período (24 horas), bem como os mecanismos responsáveis por estas alterações são escassos na literatura.

Os resultados sugerem que, na condição de armazenamento utilizada no presente estudo, existe uma fase de balanço neutro/positivo, onde a taxa de conversão de carotenoides não analisados (ex: luteína, zeaxantina, formas *cis*-carotenoides, entre outros) aos *trans* carotenoides analisados (*all-trans*- $\alpha$ -caroteno, *all-trans*- $\beta$ -caroteno, *all-trans*- $\beta$ -licopeno e *all-trans*- $\beta$ -criptoxantina) foi similar e/ou maior que as reações de degradação (oxidação e formação de compostos voláteis de baixo peso molecular)<sup>29,30</sup>.

Resultados semelhantes ao do presente estudo foram verificados em polpas de frutas mantidas sob refrigeração (4 °C, por 30 dias)<sup>31</sup>, onde os autores observaram estabilidade de compostos fenólicos de néctares caseiros.

## CONCLUSÃO

Os néctares caseiros de laranja, manga e maracujá apresentaram ácido ascórbico,  $\beta$ -caroteno e compostos fenólicos. Além disso, outros carotenoides foram encontrados em néctares de laranja ( $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -criptoxantina) e de manga (licopeno).

Sob as condições de preparo e armazenamento sob refrigeração por 24 horas, nota-se estabilidade da capacidade antioxidante dos néctares de frutas tropicais. Portanto, estes néctares podem ser considerados fonte de antioxidantes. Assim, o consumo de néctares caseiros deve ser incentivado sem a necessidade de se recomendar a ingestão imediatamente após o preparo, o que poderia constituir um



obstáculo para o consumidor por alterar a dinâmica da vida moderna.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG pelo apoio financeiro e bolsa de iniciação científica e ao CNPq pelas Bolsas de Iniciação Científica.

## REFERÊNCIAS

1. Dauchet L, Amouyel P, Dallongeville J. Fruits, vegetables and coronary heart disease. *Nat Rev Cardiol*. 2009;6(9):599-608. [DOI: <https://dx.doi.org/10.1038/nrcardio.2009.131>].
2. Stowe CB. The effects of pomegranate juice consumption on blood pressure and cardiovascular health. *Complement Ther Clin Pract*. 2011;17(2):113-5. [DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.ctcp.2010.09.004>].
3. Mattei J, Malik V, Hu FB, Campos H. Substituting homemade fruit juice for sugar-sweetened beverages is associated with lower odds of metabolic syndrome among hispanic adults. *J Nutr*. 2012;142(6):1081-7. [DOI: <https://dx.doi.org/10.3945/jn.111.149344>].
4. Coelho RCLA, Hermsdorff HHM, Bressan J. Anti-inflammatory properties of orange juice: possible favorable molecular and metabolic effects. *Plant Foods Hum Nutr*. 2013;68(1):1-10. [DOI: <https://dx.doi.org/10.1007/s11130-013-0343-3>].
5. Zibadi S, Farid R, Moriguchi S, Lu Y, Foo LY, Tehrani PM, et al. Oral administration of purple passion fruit peel extract attenuates blood pressure in female spontaneously hypertensive rats and humans. *Nutr Res*. 2007;27(7):408-16. [DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2007.05.004>].
6. Joshipura KJ, Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Rimm EB, Speizer FE, et al. The effect of fruit and vegetable intake on risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med*. 2001;134(12):1106-14.
7. Poll H, Kist BB, Santos CE, Reetz ER, Carvalho C, Silveira DN. *Anuário Brasileiro da Fruticultura*. Santa Cruz do Sul (RS): Editora Gazeta; 2013.
8. Rosa SES, Cosenza JP, de Souza Leão LT. Panorama do setor de bebidas no Brasil. *BNDES Setorial*. 2006;23:101-50.
9. Verbeyst L, Hendrickx M, Loey A. Characterisation and screening of the process stability of bioactive compounds in red fruit paste and red fruit juice. *Eur Food Res Technol*. 2012;234(4):593-605. [DOI: <https://dx.doi.org/10.1007/s00217-012-1667-1>].
10. Igual M, García-Martínez E, Camacho MM, Martínez-Navarrete N. Effect of thermal treatment and storage on the stability of organic acids and the functional value of grapefruit juice. *Food Chem*. 2010;118(2):291-9. [DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.118>].
11. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo - Brasil). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. 4ª ed. São Paulo (SP): Instituto Adolfo Lutz; 2005.
12. Bloor SJ. Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. In: Lester P, editor. *Methods in Enzymology (Volume 335)*. Cambridge: Academic Press; 2001. p. 3-14.
13. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In: Lester P, editor. *Methods in Enzymology (Volume 299)*. Cambridge: Academic Press; 1999. p. 152-78.
14. Rodriguez-Amaya DB, Raymundo LC, Lee T-C, Simpson KL, Chichester CO. Carotenoid changes in ripening *Momordica charantia*. *Annals of Botany*. 1976;40:615-24.
15. Pinheiro-Sant'Ana HM, Stringheta PC, Brandão SCC, Azeredo RMC. Carotenoid retention and vitamin A value in carrot (*Daucus carota* L.) prepared by food service. *Food Chem*. 1998;61(1-2):145-51. [DOI: [https://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00084-8](https://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00084-8)].
16. Institute of Medicine (Washington, DC - United States). *Dietary Reference Intakes (DRIs): vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc*. Washington, DC: National Academy Press; 2001. [DOI: [10.17226/10026](https://doi.org/10.17226/10026)].

17. Campos FM, Ribeiro SMR, Della Lucia CM, Pinheiro-Sant'Ana HM, Stringheta PC. Optimization of methodology to analyze ascorbic and dehydroascorbic acid in vegetables. *Quím Nova*. 2009;32(1):87-91. [DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000100017>].
18. Ramos AM, Benevides SD, Perez R. Manual de boas práticas de fabricação (BPF) para indústrias processadoras de polpa de frutas. Visconde do Rio Branco (MG): Suprema Gráfica e Editora; 2010.
19. Devi Ramaiya S, Bujang JS, Zakaria MH, King WS, Shaffiq Sahrir MA. Sugars, ascorbic acid, total phenolic content and total antioxidant activity in passion fruit (*Passiflora*) cultivars. *J Sci Food Agric*. 2013;93(5):1198-205. [DOI: <https://dx.doi.org/10.1002/jsfa.5876>].
20. Velázquez-Estrada RM, Hernández-Herrero MM, Rüfer CE, Guamis-López B, Roig-Sagués AX. Influence of ultra high pressure homogenization processing on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice. *IFSET*. 2013;18:89-94. [DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2013.02.005>].
21. Sogi DS, Siddiq M, Roidoung S, Dolan KD. Total phenolics, carotenoids, ascorbic acid, and antioxidant properties of fresh-cut mango (*Mangifera indica* L., cv. Tommy Atkin) as affected by infrared heat treatment. *J Food Sci*. 2012;77(11):C1197-202. [DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02933.x>].
22. Rodriguez-Amaya DB, Kimura M, Amaya-Farfan J. Tabela Brasileira de Composição de Carotenóides em Alimentos. Brasília (DF): Ministério do Meio Ambiente; 2008.
23. Soong Y-Y, Barlow PJ. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chem*. 2004;88(3):411-7. [DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.003>].
24. Halliwell B, Gutteridge JM, Guohua C, Cutler R. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med*. 1995;18(1):125-6.
25. Wang S, Meckling KA, Marcone ME, Kakuda Y, Tsao R. Synergistic, additive, and antagonistic effects of food mixtures on total antioxidant capacities. *J Agric Food Chem*. 2011;59(3):960-8. [DOI: <https://dx.doi.org/10.1021/jf1040977>].
26. Philippi ST. Pirâmide dos alimentos: fundamentos básicos da nutrição. Barueri (SP): Editora Manole; 2008.
27. Zanoni B, Pagliarini E, Galli A, Laureati M. Shelf-life prediction of fresh blood orange juice. *J Food Eng*. 2005;70(4):512-7. [DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.10.019>].
28. Martí N, Mena P, Cánovas JA, Micol V, Saura D. Vitamin C and the role of citrus juices as functional food. *Nat Prod Commun*. 2009;4(5):677-700.
29. Zepka LQ, Borsarelli CD, da Silva MAAP, Mercadante AZ. Thermal degradation kinetics of carotenoids in a cashew apple juice model and its impact on the system color. *J Agric Food Chem*. 2009;57(17):7841-5. [DOI: <https://dx.doi.org/10.1021/jf900558a>].
30. Pénicaud C, Achir N, Dhuique-Mayer C, Dornier M, Bohuon P. Degradation of  $\beta$ -carotene during fruit and vegetable processing or storage: reaction mechanisms and kinetic aspects: a review. *Fruits*. 2011;66(6):417-40. [DOI: <https://dx.doi.org/10.1051/fruits/2011058>].
31. Piljac-Žegarac J, Šamec D. Antioxidant stability of small fruits in postharvest storage at room and refrigerator temperatures. *Food Res Int*. 2011;44(1):345-50. [DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.039>].