

CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS SUCOS DE GOIABA SERRANA (*Acca Sellowiana*) DURANTE O ARMAZENAMENTO

RESUMO

A goiaba serrana, uma fruta nativa da região Sul do Brasil, tem um excelente potencial para ser processada em suco. No entanto, o efeito das condições de processamento e armazenamento na composição do suco de goiaba serrana não é conhecido. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antioxidante de três sucos de goiaba serrana: *in natura*, pasteurizado, e o microfiltrado e pasteurizado. Além disso, os sucos foram avaliados por 90 dias de estocagem. A capacidade antioxidante foi medida contra os radicais peroxil ($\bullet\text{ROO}^-$) e $\text{ABTS}^{\bullet+}$. O suco pasteurizado, e o suco microfiltrado e pasteurizado tiveram uma quantidade significativamente maior de compostos fenólicos totais (21.061,30 e 22.198,71 $\mu\text{g}\cdot 100\text{ mL}^{-1}$, respectivamente) do que o suco fresco (1591,18 $\mu\text{g}\cdot 100\text{ mL}^{-1}$). Durante o armazenamento, a capacidade antioxidante do suco pasteurizado manteve-se constante. Para a capacidade antioxidante medida com radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$, não houve diferença significativa entre os três tratamentos. Em contraste, para o método ORAC, o suco fresco teve uma maior capacidade antioxidante. Os sucos de goiaba serrana possuem excelente capacidade antioxidante e foram estáveis durante o armazenamento.

INTRODUÇÃO

A goiaba serrana (*Acca sellowiana*), espécie pertencente à família Myrtaceae, é uma fruta nativa da região Sul do Brasil. A fruta possui casca tom verde independente do seu grau de maturação, o mesocarpo branco, com polpa suculenta em torno das sementes e pouco arenosa perto da casca. A polpa é doce, ácida e aromática. No entanto, a fruta apresenta a casca amarga, e por isto, esta não é geralmente consumida com a polpa. Tem sido relatado que a goiaba serrana possui várias atividades biológicas, como antimicrobiana e antioxidante. A atividade antioxidante da polpa da goiaba serrana, se deve principalmente aos polifenóis, que habitualmente conferem um gosto adstringente e, por vezes amargo (HAMINIUK *et al.*, 2011; WESTON, 2010).

Além do consumo *in natura*, a goiaba serrana pode ser processada e utilizada na produção de alimentos e bebidas. A fruta é usada para fazer muffin, pão, chocolate, doces, sorvete, iogurte, geléia, smoothie, vinho e suco. O suco da goiaba serrana, mostrou-se ser uma boa fonte de vitamina C e de compostos bioativos, principalmente compostos fenólicos (SCHMIDT *et al.*, 2022).

OBJETIVO

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar a capacidade antioxidante do suco da goiaba serrana. Os objetivos específicos foram: avaliar a capacidade antioxidante dos três sucos e as diferenças entre eles; avaliar a estabilidade do suco em armazenamento por 90 dias; avaliar a diferença dos dois métodos de capacidade antioxidante.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Produção dos sucos

Para o suco controle, que foi o suco fresco (F), após a higienização dos frutos, eles foram despulpados e homogeneizados em máquina de despulpamento vertical (DES-20, Braesi, Caxias do Sul, RS, Brasil). Em seguida, o suco foi filtrado em tecido de organza e transferido para garrafas de vidro de 100 mL, armazenadas sob atmosfera de nitrogênio e posteriormente fechadas com tampa de rosca.

Para o suco tratado com enzima e pasteurizado (P), os frutos foram branqueados em banho-maria (Dubnoff NT 232 – Novatecnica[®]) a 80°C por 2,5 minutos e resfriados a 10°C. Em seguida, foi aplicada a enzima Pectinex Ultra Clear[®] (Novozymes, Espanha) (10 U.mL⁻¹), a 50 °C por 40 min, sob agitação e resfriada a 20 °C. Os frutos foram despulpados e homogeneizados em máquina de despulpamento vertical. Em seguida, adicionou-se novamente a enzima Pectinex Ultra Clear (5 U.mL⁻¹), a 50°C por 40 min, sob agitação, seguido de resfriamento a 20°C. Na primeira adição enzimática, antes do despulpamento, o objetivo foi aumentar o rendimento de extração do caldo. Na segunda adição, após o despulpamento, o objetivo principal foi clarificar o suco. Sucessivamente, o suco foi filtrado em tecido de organza, engarrafado (garrafas de vidro de 100 mL), pasteurizado (1 min a 90°C), seguido de resfriamento a 20°C. Os sucos foram armazenados sob atmosfera de nitrogênio e depois fechados.

Para o suco tratado com enzimas, microfiltrado e pasteurizado (MP), foi realizado o mesmo procedimento do item anterior, porém, com a adição do processo de microfiltração. A clarificação enzimática foi utilizada como pré-tratamento para remoção dos sólidos em suspensão. Após a etapa de filtração em tecido de organza, o suco passou por microfiltração. Para a microfiltração foi utilizada uma membrana de poliamida (PAM Selective Membranes, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) com diâmetro de poro de 0,4 µm e área de filtração de 0,7 m². Condições fixas de 20 ± 2 °C e 300 kPa foram aplicadas durante o experimento. Após a MF, o suco foi pasteurizado (1 min a 90°C) e todas as etapas após a pasteurização foram realizadas da mesma forma descrita anteriormente para o SP.

Para o suco in natura (F), as garrafas foram armazenadas sob refrigeração a 4 °C por um dia e analisadas em triplicata. Os sucos SP e SM foram armazenados a 20 °C por 90 dias. Todas as amostras foram armazenadas em uma câmara de demanda bioquímica de oxigênio (DBO) sob fotoperíodo de 12 horas (ciclo claro/escuro), para mimetizar o tipo de armazenamento utilizado em o mercado local. A umidade relativa e a temperatura da câmara foram monitoradas (50,7 ± 3,5% e 4,7 ± 0,5°C, respectivamente) para o suco fresco (65,3 ± 4,6% e 20,7 ± 0,3°C, respectivamente) e para o suco pasteurizado e microfiltrado e pasteurizado. Estes dois tratamentos foram analisados em triplicata aos 1, 7, 14, 21, 30, 60 e 90 dias de armazenamento. Uma alíquota de todos os tratamentos foi coletada para análise físico-química. O suco restante foi armazenado em tubos Falcon de 15 e 50 mL e congelado (-18 °C), e para a realização das análises, as amostras foram descongeladas antes do uso a 4 °C durante uma noite.

O suco fresco foi tomado como amostra de referência para estudar o efeito dos diferentes tratamentos sobre os parâmetros analisados.

2.2 Capacidade antioxidante

A determinação da capacidade antioxidante total dos sucos foi realizada pela atividade sequestrante de radicais ABTS^{•+} de acordo com a metodologia proposta por RUFINO *et al.*, (2007). O suco (1,5 mL) foi extraído com 20 mL de metanol a 50% e homogeneizado em Ultra-Turrax e a amostra foi deixada em repouso por 60 min no escuro. O extrato foi

centrifugado por 15 min, a 25.400 g e o sobrenadante foi transferido para um balão volumétrico âmbar de 50 mL. Este procedimento foi repetido com acetona 70% em vez de metanol. Tubos de ensaio com três diferentes diluições foram preparados em triplicata a partir do extrato obtido. Os tubos foram homogeneizados e após 6 minutos de mistura foi realizada a leitura em 734 nm em espectrofotômetro.

A atividade antioxidante dos extratos também foi determinada pelo método ORAC (HUANG; BOXIN; PRIOR, 2005). A concentração ótima foi determinada em 800 mg.L⁻¹. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas no vórtex por 1 minuto, seguido de Ultrassom por 3 minutos. Uma alíquota de 25 µL dos extratos ou Trolox previamente diluído em tampão fosfato de potássio (75 mM) foi combinado com 150 µL da solução de trabalho de fluoresceína (81 nM) em cada poço de uma microplaca. Após incubação a 37 °C por 7 min, com os últimos 3 min sob agitação constante, foram adicionados 25 µL da solução de AAPH (152 mM). Um leitor de fluorescência foi usado para monitorar o decaimento de fluorescência a 37 °C por 80 min. Foram utilizados comprimentos de onda de excitação e emissão de 485 e 528 nm, respectivamente. Os valores ORAC foram calculados por uma equação de regressão entre as soluções Trolox (0–96 µM) e a área sob a curva (AUC) do decaimento da fluoresceína. Trolox foi usado como controle positivo (8 µM) e esta análise foi realizada em triplicata. A AUC foi calculada pela Eq. (5):

$$AUC = 1 + f^1/f_0 + f^2/f_0 + f^3/f_0 + \dots + f^n/f_0 \quad (5)$$

Onde: f_n = fluorescência em um ciclo de leitura (1 min) e f_0 = fluorescência em tempo zero.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Os sucos foram avaliados quanto à capacidade antioxidante pelos ensaios ABTS e ORAC e os resultados podem ser vistos na Tabela 1. O ensaio ABTS avalia a eliminação de radicais por antioxidantes que envolvem transferência de elétrons, seguida da doação de prótons. Para a capacidade antioxidante medida com radical ABTS^{•+}, não houve diferença significativa entre os três tratamentos (dia 1). Esses resultados sugerem que os processos, térmico, enzimático e microfiltração, aos quais os sucos foram submetidos, não diminuíram a capacidade antioxidante avaliada pelo ensaio radical ABTS^{•+}. No tratamento com P, a capacidade antioxidante medida pelo ABTS permaneceu constante durante 60 dias de armazenamento. Observa-se que no 60º dia, houve um aumento que persistiu até o 90º dia. No tratamento MP, a capacidade antioxidante permaneceu constante durante todo o período avaliado, sem diferença significativa. A atividade sequestradora de radicais ABTS^{•+} dos sucos de P e MP variou de 1.852,62 a 2.931,68 e 1.921,06 a 2.196,24 µMol TE.100mL⁻¹, respectivamente, valores superiores aos do suco de açaí (*Euterpe oleracea*) (1843 µMol TE.100mL⁻¹) (OLIVEIRA. *et al.*, 2018).

O método ORAC mede a capacidade de um antioxidante para proteger a fluoresceína dissódica da oxidação catalisada por radicais $\bullet\text{ROO}^-$, produzidos pela adição do iniciador radical α,α' -azodiisobutiramidina dicloridrato (AAPH). A capacidade antioxidante dos sucos de goiaba serrana foi sempre superior ao Trolox, um homólogo sintético da vitamina E, que é um antioxidante biológico com alta capacidade de captura de EROs (Figura 1). Para este ensaio, houve diferença significativa entre o suco fresco e os sucos tratados, o suco fresco apresentou maior capacidade antioxidante que os tratamentos P e

MP. Apesar dessa perda, sabe-se que o tratamento é necessário e está associado à disponibilidade de um produto seguro para consumo.

Tabela 1. Capacidade antioxidante pelos métodos ABTS e ORAC nos três sucos de goiaba serrana: suco fresco (F), suco clarificado por tratamento enzimático e pasteurizado (P), e, suco clarificado por tratamento enzimático, microfiltração e pasteurizado (MP) durante 90 dias de armazenamento

Ensaio	Sucos	Tempo de armazenamento (dias)						
		D1	D7	D14	D21	D30	D60	D90
ABTS	F	2111.95 ± 15.40 ^A	-	-	-	-	-	-
	P	1852.62 ± 185.11 ^{ba}	1865.35 ± 16.55 ^{ba}	2150.49 ± 225.47 ^{ba}	1820.75 ± 185.97 ^{bb}	1998.34 ± 150.94 ^{ba}	2813.76 ± 84.14 ^{aa}	2931.68 ± 133.01 ^{aa}
	MP	2091.98 ± 76.29 ^{abA}	1921.06 ± 101.22 ^{ba}	2039.70 ± 133.47 ^{abA}	2135.34 ± 60.67 ^{abA}	2196.24 ± 103.15 ^{aA}	2032.92 ± 44.94 ^{abB}	2102.43 ± 102.63 ^{abB}
ORAC	F	5302.45 ± 282.12 ^A	-	-	-	-	-	-
	P	3448.68 ± 572.90 ^{ab}	2679.67 ± 225.85 ^{aa}	2841.23 ± 265.50 ^{aa}	2714.12 ± 173.33 ^{aa}	3454.94 ± 377.88 ^{aa}	2916.76 ± 306.10 ^{aa}	2767.41 ± 15.92 ^{aa}
	MP	3088.07 ± 398.17 ^{ab}	2094.98 ± 200.87 ^{bb}	2159.52 ± 12.51 ^{bb}	1456.86 ± 222.62 ^{cb}	1674.19 ± 261.69 ^{bcB}	1375.56 ± 46.40 ^{cdB}	830.15 ± 40.85 ^{dB}

Assim como para o ensaio do radical ABTS^{•+}, no ensaio ORAC, os sucos tratados (P e MP) não apresentaram diferenças significativas entre si no dia 1. Ao longo dos 90 dias, a capacidade antioxidante do suco P permaneceu constante. Por outro lado, para o tratamento MP houve redução da capacidade antioxidante neste período de armazenamento, no entanto, as maiores reduções ocorreram no 21^o (1456 $\mu\text{Mol TE.100mL}^{-1}$) e 90^o (830 $\mu\text{Mol TE.100mL}^{-1}$) dias, com reduções de aproximadamente 50 e 75%, respectivamente, em relação ao primeiro dia (3088 $\mu\text{Mol TE.100mL}^{-1}$). Os valores de ORAC do suco in natura e dos sucos tratados no dia 1 foram superiores aos do suco de maçã (2800 $\mu\text{Mol TE.100mL}^{-1}$), suco tropical (1300 $\mu\text{Mol TE.100mL}^{-1}$), suco de cranberry (1600 $\mu\text{Mol TE.100mL}^{-1}$), suco de abacaxi (760 $\mu\text{Mol TE.100mL}^{-1}$) e semelhante ao suco de toranja (3400 $\mu\text{Mol TE.100mL}^{-1}$) (STOCKHAM *et al.*, 2011).

O ensaio ORAC é um dos métodos mais utilizados para estimar a capacidade antioxidante de alimentos, devido a sua relevância biológica para efeito antioxidante in vivo, uma vez que utiliza uma fonte de radical biologicamente relevante (HUANG; BOXIN; PRIOR, 2005; PRIOR *et al.*, 2003). Embora a atividade de eliminação de radicais ABTS^{•+} também tenha sido amplamente aplicada para avaliar a capacidade antioxidante de extratos de alimentos, o ensaio ABTS^{•+} é mais confiável quando usado para comparar alterações no mesmo antioxidante durante o processamento ou armazenamento. Em tais aplicações, as limitações do teste permanecem, mas os componentes antioxidantes são constantes (SCHAICH; TIAN; XIE, 2015). Uma vez que foram observadas semelhanças na resposta nos ensaios ORAC e ABTS^{•+} para os sucos de goiaba serrana, parece que tanto elétrons quanto prótons foram transferidos nesses dois ensaios, e os sucos são promissores na capacidade antioxidante.

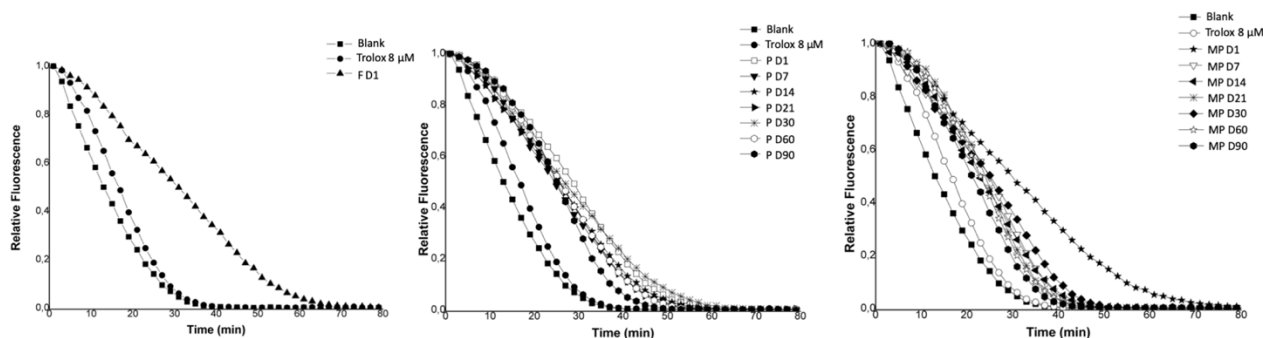


Figura 1. Capacidade antioxidante, pelo ensaio ORAC, do suco fresco (F), clarificado por tratamento enzimático e pasteurizado (P) e clarificado por tratamento enzimático, microfiltração e pasteurizado (MP), durante 90 dias de armazenamento em comparação com Trolox.

CONCLUSÃO

Os resultados sugerem que os processos térmicos, enzimáticos e de microfiltração aos quais os sucos foram submetidos não diminuiram a capacidade antioxidante avaliada pelo ensaio radical ABTS•⁺. Por outro lado, para o ensaio ORAC, o suco fresco apresentou maior capacidade antioxidante do que os sucos tratados e ao longo de 90 dias, o tratamento microfiltrado e pasteurizado apresentou uma redução de aproximadamente 50-75%.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- HAMINIUK, Charles Windson Isidoro *et al.* Chemical, antioxidant and antibacterial study of Brazilian fruits. **International Journal of Food Science and Technology**, [S. l.], v. 46, n. 7, p. 1529–1537, 2011.
- HUANG, Dejian; BOXIN, O. U.; PRIOR, Ronald L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 2005.
- OLIVEIRA. *et al.* Non-thermal combined treatments in the processing of açai (*Euterpe oleracea*) juice. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 265, n. April, p. 57–63, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.081>
- PRIOR, Ronald L. *et al.* Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 51, n. 11, p. 3273–3279, 2003.
- RUFINO, Maria do Socorro Moura *et al.* Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, [S. l.], v. 23, n. 2, p. 1–4, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.02.006%5Cnhttp://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643895800085%5Cn>
- SCHAICH, K. M.; TIAN, X.; XIE, J. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 14, p. 111–125, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.043>
- SCHMIDT, Helena *et al.* Influence of processing conditions on the composition of feijoa (*Acca sellowiana*) juices during storage. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.114, n.July,p.104769,2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104769>
- STOCKHAM, Katherine *et al.* Modes of handling Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) data and reporting values in product labelling. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S. l.], v. 24, n. 4–5, p. 686–691, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2010.11.007>
- WESTON, Roderick J. Bioactive products from fruit of the feijoa (*Feijoa sellowiana*, Myrtaceae): A review. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 121, n. 4, p. 923–926, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.047>