

**Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Departamento de Alimentos e Nutrição**

**EFEITO DA ESTOCAGEM DA GOIABADA A DIFERENTES
TEMPERATURAS SOBRE OS TEORES DE
CAROTENÓIDES E DE ÁCIDO ASCÓRBICO**

Jamilla Teixeira Pinto

Araraquara – 2006

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Departamento de Alimentos e Nutrição

**EFEITO DA ESTOCAGEM DA GOIABADA A DIFERENTES
TEMPERATURAS SOBRE OS TEORES DE
CAROTENÓIDES E DE ÁCIDO ASCÓRBICO**

Jamilla Teixeira Pinto

Farmacêutica

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade
de Ciências Farmacêuticas de Araraquara,
UNESP, para obtenção do título de Mestre em
Ciência dos Alimentos

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Célia Maria de Sylos

Araraquara – 2006

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Célia Maria de Sylos

Prof^a. Dr^a. Neura Bragagnolo

Prof. Dr. João Bosco Faria

Prof^a. Dr^a. Eliane Maria Ravassi Simionato

Prof . Dr . Elizeu Antônio Rossi

DEDICO

Aos meus pais, Marli e Geraldo, meus exemplos de tudo nesta vida
Ao meu querido marido, César, por me incentivar a continuar estudando
Aos meus irmãos, Mirella e Rodrigo, pela união e alegria nas minhas conquistas

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que me incentivaram e que de alguma forma possibilitaram a realização deste trabalho.

Aos meus pais, Geraldo e Marli, a quem não tenho palavras para expressar meus agradecimentos. Obrigada pelo apoio, carinho, amor e dedicação.

Ao meu marido César, companheiro incansável, pelo incentivo, pela tolerância, dedicação, pelas alegrias e pelo amor.

A minha irmã Mirella, amiga e companheira inseparável de todos os momentos, por todo apoio, carinho e amizade.

Ao meu irmão Rodrigo, pela amizade e carinho, em todos os momentos.

Aos meus cunhados Rose e Fernando, pela amizade.

À prof.^a Célia Maria de Sylos, minha orientadora, pela oportunidade, orientação, compreensão, e amizade.

Aos membros da Banca Examinadora, professores, João Bosco, Neura Bragagnolo, Elizeu Rossi, Eliane Simionato pelas sugestões apresentadas neste trabalho.

A todos os funcionários, alunos de graduação e pós-graduação, do Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP, pelo apoio durante a realização deste trabalho.

Aos funcionários da biblioteca, da seção de apoio e da secretaria de pós-graduação.

À Capes pela bolsa concedida.

A indústria Predilecta Alimentos LTDA, pelas amostras de goiabada, cedidas para a realização deste trabalho.

Aos meus amigos Tati, Giselle e Márcio, que mesmo estando distantes fisicamente, sempre me apoiaram.

A todos os meus amigos do Departamento de Alimentos e Nutrição, em especial ao Mateus, Deise, Gabriela, Juliana Félix, Juliana Gama, e Ana Pierina, pela amizade, carinho, apoio e pela agradável convivência durante a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Lista de Figuras.....	v
Lista de Tabelas.....	vii
Resumo.....	viii
Abstract.....	ix
1. Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica.....	3
2.1. Goiaba.....	3
2.2. Carotenóides.....	5
2.2.1. Licopeno.....	7
2.2.2. Beta-caroteno.....	9
2.2.3. Carotenóides em alimentos.....	11
2.2.4. Degradação de carotenóides em alimentos.....	12
2.2.5. Efeito do processamento e estocagem sobre os teores de licopeno e β -caroteno	14
2.2.6. Análise dos carotenóides.....	20
2.3. Vitamina C.....	21
2.3.1. Vitamina C em alimentos.....	23
2.3.2. Degradação do ácido ascórbico.....	24

2.3.4. Efeito do processamento e da estocagem sobre o teor de ácido ascórbico.....	25
3. Objetivos.....	29
4. Material e Métodos.....	30
4.1. Material.....	30
4.2. Métodos.....	30
4.2.1. Extração de carotenóides em goiabada.....	31
4.2.2. Separação de carotenóides por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	31
4.2.3. Identificação dos carotenóides.....	32
4.2.4. Isomerização <i>trans-cis</i> catalisada por iodo.....	32
4.2.5. Grau de estrutura fina (%III/II).....	32
4.2.6. Intensidade do pico <i>cis</i> (%A _v /A _{II}).....	33
4.2.7. Quantificação dos carotenóides por curvas de calibração.....	33
4.2.8. Preparação dos padrões de carotenóides.....	33
4.2.9. Determinação dos sólidos solúveis totais.....	34
4.2.10. Determinação da acidez total titulável.....	35
4.2.11. Determinação do ácido ascórbico.....	35
4.2.12. Análise estatística.....	35
5. Resultados e Discussão.....	36
5.1. Teores médios de acidez total titulável e de sólidos solúveis totais, na goiabada estocada em diferentes condições.....	37

5.2. Perfil dos carotenóides principais da goiabada obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	39
5.3. Efeito da estocagem por 270 dias sobre a concentração do ácido ascórbico presente na goiabada.....	42
5.4. Efeito da estocagem por 270 dias sobre o teor de licopeno da goiabada.....	47
5.5. Efeito da estocagem por 270 dias sobre o teor de α -caroteno da goiabada.....	52
5.6. Efeito da estocagem por 270 dias sobre o teor de <i>cis</i> - α -caroteno da goiabada.....	57
6. Conclusões.....	61
7. Referências Bibliográficas.....	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Fluxograma básico do processo de obtenção da goiabada.....	5
Figura 2.	Estrutura química do licopeno e de seus isômeros.....	7
Figura 3.	Estrutura química do α -caroteno e de seus isômeros.....	10
Figura 4.	Estrutura química do ácido ascórbico e do dehidroascórbico...	22
Figura 5.	Espectros de absorção do licopeno e do <i>cis</i> -licopeno identificados na goiabada, por CLAE, fornecidos pelo detector por fotodiodos.....	40
Figura 6.	Espectros de absorção do β -caroteno e do <i>cis</i> - β -caroteno identificados na goiabada, por CLAE, fornecidos pelo detector por fotodiodos.....	41
Figura 7.	Cromatograma característico da separação dos carotenóides em amostras de goiabada.....	42
Figura 8.	Teores médios de ácido ascórbico, em goiabada, submetida a diferentes condições de armazenamento (5°C, 30°C com e sem exposição à luz) por 270 dias.....	44
Figura 9.	Porcentagem de retenção de ácido ascórbico da goiabada, submetida a diferentes condições de armazenamento (5°C, 30°C com e sem exposição à luz) por 270 dias.....	45
Figura 10.	Porcentagem de retenção de licopeno da goiabada, submetida a diferentes condições de armazenamento (5°C, 30°C com e sem exposição à luz), por 270 dias.....	49
Figura 11.	Avaliação do comportamento do licopeno, durante 270 dias, em goiabada submetida a diferentes condições de estocagem.....	50
Figura 12.	Avaliação do comportamento do α -caroteno, durante 270 dias, em goiabada submetida a diferentes condições de estocagem.....	54

Figura 13.	Porcentagem de retenção de β -caroteno da goiabada, submetida a diferentes condições de armazenamento (5°C, 30°C com e sem exposição à luz), por 270 dias.....	55
Figura 14.	Avaliação do comportamento do <i>cis</i> - \hat{O} -caroteno, durante 270 dias, em goiabada submetida a diferentes condições de estocagem.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Características dos padrões de carotenóides utilizados na quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	34
Tabela 2.	Teores médios de acidez total titulável (ATT), no tempo 0 (zero) e após 270 dias de estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.....	37
Tabela 3	Teores médios de sólidos solúveis totais (SST), no tempo 0 (zero) e após 270 dias de estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.....	38
Tabela 4.	Características dos principais carotenóides isolados na goiabada.....	39
Tabela 5.	Teores médios ácido ascórbico ¹ , no tempo 0 (zero) e após 270 dias de estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.....	43
Tabela 6.	Teores médios de ácido ascórbico, durante o armazenamento, em temperaturas de 5°C e 30°C (com e sem exposição à luz)....	43
Tabela 7.	Teores médios de licopeno da goiabada, no tempo 0 (zero) e após 270 dias de estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.....	48
Tabela 8.	Teores médios de licopeno da goiabada, durante a estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.....	49
Tabela 9.	Teores médios de $\hat{\alpha}$ -caroteno da goiabada, no tempo 0 (zero) e após 270 dias de estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.....	53
Tabela 10.	Teores médios de $\hat{\alpha}$ -caroteno da goiabada, durante a estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.....	54
Tabela 11.	Teores médios de <i>cis</i> - $\hat{\alpha}$ -caroteno da goiabada, no tempo 0 (zero) e após 270 dias de estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.....	58
Tabela 12.	Teores médios de <i>cis</i> - $\hat{\alpha}$ -caroteno da goiabada, durante a estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.....	59

RESUMO

A goiaba é uma importante fonte de carotenóides e apresenta alto teor de ácido ascórbico sendo de três a seis vezes maior que a laranja. O consumo da goiaba *in natura* é considerado pequeno no Brasil (300g/*per capita*/ano); entretanto, o fruto constitui-se em matéria prima para doces e sucos, como a goiabada, com larga aceitação no mercado interno. Os carotenóides, pigmentos naturais com diversas funções biológicas, além de serem responsáveis pela coloração de frutas, vegetais, raízes, flores, peixes e pássaros; também são usados pelas indústrias alimentícias como corantes. A degradação dos carotenóides pode ocorrer durante a estocagem acarretando perda de cor e atividade biológica. O ácido ascórbico, conhecido por seus benefícios à saúde humana, é encontrado, principalmente, em frutas e produtos de frutas. A temperatura é um dos principais fatores que podem levar à diminuição no teor de ácido ascórbico, que devido a sua susceptibilidade, pode ser utilizado como parâmetro de avaliação das condições de estocagem de alimentos. O objetivo deste trabalho foi acompanhar, durante 270 dias, o comportamento dos principais carotenóides (licopeno e β -caroteno) e o teor de ácido ascórbico em goiabada submetida à estocagem, nas temperaturas de 30°C (na presença e ausência de luz), e de 5°C, acondicionada em embalagem de filme de polipropileno biorientado. Os carotenóides foram extraídos da goiabada com metanol e éter etílico, e a quantificação realizada por cromatografia líquida de alta eficiência. O ácido ascórbico foi determinado pelo método oficial da A.O.A.C (1990), modificado por Benassi (1990). O tempo de estocagem influenciou significativamente na degradação do teor de licopeno, porém, não exerceu grande influência sobre os teores de β -caroteno e do *cis*- β -caroteno, apresentando diferenças significativas ($p < 0,05$), após o 4º dia, e mantendo-se praticamente estável após esse período. Analisando-se as diferentes condições de armazenamento das goiabadas (5°C, 30°C na presença e ausência de luz), foram observadas diferenças significativas dos teores de licopeno e de *cis*- β -caroteno. Entretanto, no caso dos teores de β -caroteno não observou-se diferença significativa entre as diferentes condições de armazenamento. Os teores de acidez total titulável e sólidos totais solúveis também não apresentaram diferenças significativas quanto às condições de estocagem durante os 270 dias, e não influenciaram a degradação do teor de ácido ascórbico. O teor de ácido ascórbico, na goiabada, apresentou um decréscimo em função do tempo (cinética de degradação de 1ª ordem), independente da condição de estocagem. Foi observada, também, diferença significativa entre os teores de ácido ascórbico, nas três condições de armazenamento, sendo que no caso da temperatura de 5°C o teor revelou-se, significativamente, maior que nas demais condições, seguida da goiabada armazenada a 30°C, na ausência de luz e a 30°C, na presença de luz.

ABSTRACT

Guava is an important carotenoids source, presenting high content of ascorbic acid (three to five times more than the orange). The consumption of the guava *in nature* is considered small in Brazil (300g/*per capita*/year). However, the fruit is raw material for candies and juices, as the jam, with wide acceptance in the internal market. The carotenoids are natural pigments with several biological functions. They are responsible for the coloration of fruits, vegetables, roots, flowers, fishes and birds, being also used as colouring in the industries of food. The loss of colour and of biological activity can happen due the degradation of the carotenoids during the storage. The ascorbic acid, known by your benefits to the human health, it is found, mainly, in fruits and products of fruits. The temperature is ones of principal factors that reduce the amount of ascorbic acid. The ascorbic acid can be used as parameter of evaluation of the conditions of storage of food due to your susceptibility. The objective of this work was to accompany, for 270 days, the behaviour of the principal carotenoids (lycopene and β -carotene) and the content of ascorbic acid of the jam submitted to the storage, in the temperature of 30°C (in the presence and light absence), and of 5°C, conditioned in packing film of polypropylene bioriented. The carotenoids were extracted of the jam with methanol and ethyl ether, and quantified by high performance liquid chromatography. The ascorbic acid was certain through official method of A.O.A.C (1990), modified by Benassi (1990). The time of storage influenced significantly in the degradation of the lycopene content, however, it did not exercise great influence on the contents of β -carotene and of the *cis*- β -carotene, presenting significant differences ($p < 0,05$), only after the 4 days of storage, and maintained practice stable after this period. Analysing the different conditions of storage of the jams (5°C, 30°C in the presence and light absence) during the time of storage, the lycopene and *cis*- β -carotene contents did present significant differences. However, for the β -carotene contents there was not significant difference among the different conditions of storage. The contents of total acidity titrable and total solids soluble did not present significant differences during the 270 days for conditions of storage, and these parameters did not influence in the degradation of the amount of ascorbic acid. The content of ascorbic acid, in the jam, presented a reduction in function of the time (kinetics of degradation of first order), independent of the storage condition. Among the contents of ascorbic acid in the three storage conditions was observed difference significant, being that in the temperature of 5°C the amount was, significantly, larger than in the other conditions, followed by the jam stored to 30°C in the light absence and to 30°C, in the light presence.

1. INTRODUÇÃO

A cor dos alimentos é considerada um dos mais importantes atributos de qualidade. É um fator de aceitação para o consumo, antes mesmo do *flavor* e textura. Muitos protocolos de controle de qualidade usam a cor, como parâmetro, para medir o grau de qualidade em frutas e alimentos em geral (MÍNGUEZ-MOSQUERA et al., 2002). Além disso, o valor nutricional das frutas é um dos fatores que determinam o crescimento no consumo de frutas e produtos à base de frutas, já que os consumidores estão exigindo a conservação dos nutrientes juntamente com a qualidade dos alimentos (AGOSTINI-COSTA et al., 2003).

Os carotenóides são pigmentos naturais lipofílicos de grande interesse em pesquisas das áreas de química, bioquímica, biologia, ciência e tecnologia dos alimentos, medicina, farmácia e nutrição. São encontrados em frutas, vegetais, flores, peixes, invertebrados e pássaros (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997).

Pigmentos naturais, tais como o β -caroteno e o licopeno, constituem uma classe de fitoquímicos muito importante, pois o β -caroteno desempenha papel de pró-vitamina A, evitando doenças como a xeroftalmia, enquanto que o licopeno ajuda na prevenção de alguns tipos de câncer (AGOSTINI-COSTA et al., 2003). Apresentam, também, funções importantes na prevenção de doenças cardiovasculares e degeneração macular (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999; KIMURA, 2002). Fatores como luz, pH, umidade relativa, oxigênio e sistema enzimático, estão geralmente envolvidos na deterioração de pigmentos em frutas e alimentos processados (BRITTON et al., 1995; MÍNGUEZ-MOSQUERA et al., 2002).

A vitamina C é o ácido ascórbico na sua forma reduzida e o ácido dehidroascórbico na forma oxidada. Ambos têm atividade antioxidante, sendo

facilmente degradados pelo calor. O ácido ascórbico pode sofrer alterações devido a diversos fatores como a presença de oxigênio, de íons metálicos como cobre e ferro, o pH, e a temperatura, que pode causar considerável perda do teor inicial de ácido ascórbico na fruta (DE MARTIN et al., 1975; NAGY et al., 1980).

A goiaba é uma importante fonte de carotenóides e apresenta alto teor de ácido ascórbico, sendo esse teor, de três a seis vezes maior que na laranja. O consumo da goiaba *in natura* é estimado em 300g/ per capita/ ano no Brasil, e embora seja pequeno o seu consumo, o fruto representa importante matéria-prima para doces e sucos, com larga aceitação no mercado interno (CEASA, 2004). A goiabada, doce bastante consumido no país, é um produto obtido a partir da goiaba, com adição de açúcar, pectina e ácido cítrico, podendo sofrer perdas de seus constituintes devido aos processos de inativação enzimática, pasteurização e concentração. Após atingir a consistência desejada, a goiabada é embalada e armazenada por vários meses.

Tais tratamentos podem levar à degradação dos carotenóides e do ácido ascórbico, que pode ainda continuar durante a estocagem do produto. Desta forma, o estudo do efeito da estocagem da goiabada nos teores de carotenóides e de ácido ascórbico, permitirá avaliar se ocorre diminuição do seu valor nutricional.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Goiaba

O Brasil é o terceiro produtor mundial de frutas, com 38 milhões de toneladas, atrás apenas da China e da Índia. As exportações brasileiras de frutas frescas movimentaram cerca de US\$ 370 milhões em 2004, com aumento de 10% em relação ao ano anterior. Os principais destinos do produto brasileiro são os países europeus, as Américas do Norte e do Sul e o Oriente Médio (IEA, 2005).

Dentre as frutas tropicais brasileiras, a goiaba ocupa lugar de destaque, não só pelo seu aroma e sabor, como também pelo seu valor nutricional, o que coloca o Brasil na posição de maior produtor de goiabas vermelhas e a Índia em primeiro lugar na produção de goiabas brancas. Quanto à exportação brasileira, a goiaba ocupou, em 2004, o 26º lugar no *ranking* em volume comercializado, atingindo o patamar de US\$ 117 mil (IEA, 2005).

No Brasil, considerado o segundo produtor mundial, estima-se uma produção anual de 230 a 300 mil toneladas de goiaba, sendo que 65% concentra-se no Estado de São Paulo; a produção ocorre, principalmente, na região de Taquaritinga, sobretudo para o processamento industrial (variedade Paluma), e na região de Valinhos, para a comercialização *in natura* (variedades Kungai, Pedro Sato, Sassaoka e Ogawa) (AGRIANUAL, 2006; TODA FRUTA, 2004).

A goiabeira é uma planta da família Myrtaceae e do gênero *Psidium*, que apresenta mais de 70 gêneros e 2800 espécies e é cultivada

principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do globo. (CRFG, 2004; TODA FRUTA, 2004).

A goiaba apresenta um valor nutricional de grande interesse, pois é rica em fibras, vitaminas, principalmente vitamina C, e minerais (AGRAWAL et al., 2002; TODA FRUTA, 2004). A composição média por 100g de polpa é constituída de proteína (1g), cálcio (15 mg), ferro (1mg), vitamina A (0,06 mg), tiamina (0,05 mg), vitamina C (200-300 mg) e fósforo (26 mg), podendo variar de acordo com o cultivar, localização geográfica e condições de cultivo (SEAGRI, 2004). Além disso, é uma importante fonte de carotenóides, sendo os principais o licopeno (majoritário) e o β -caroteno (PADULA e RODRIGUEZ-AMAYA, 1986).

A espécie *Psidium guajava* L. é a mais cultivada no país (AGRIANUAL, 2006; TODA FRUTA, 2004), e é mais consumida, na forma de produtos industrializados, como por exemplo, goiabadas, geléias, pastas, frutas em calda, purês, alimentos para crianças, base para bebidas, refrescos, sucos e xaropes (IEA, 2005). O consumo brasileiro da fruta *in natura* é considerado baixo, estimado em 300g/ per capita/ ano, embora a goiabada seja um doce bastante consumido no país (CEASA, 2004).

A goiabada ou doce de goiaba é um produto resultante do processo de concentração da polpa de goiaba com açúcares e outros ingredientes, aditivos permitidos, até a consistência apropriada, sendo pasteurizada e acondicionada de modo assegurar a sua conservação (Figura1).

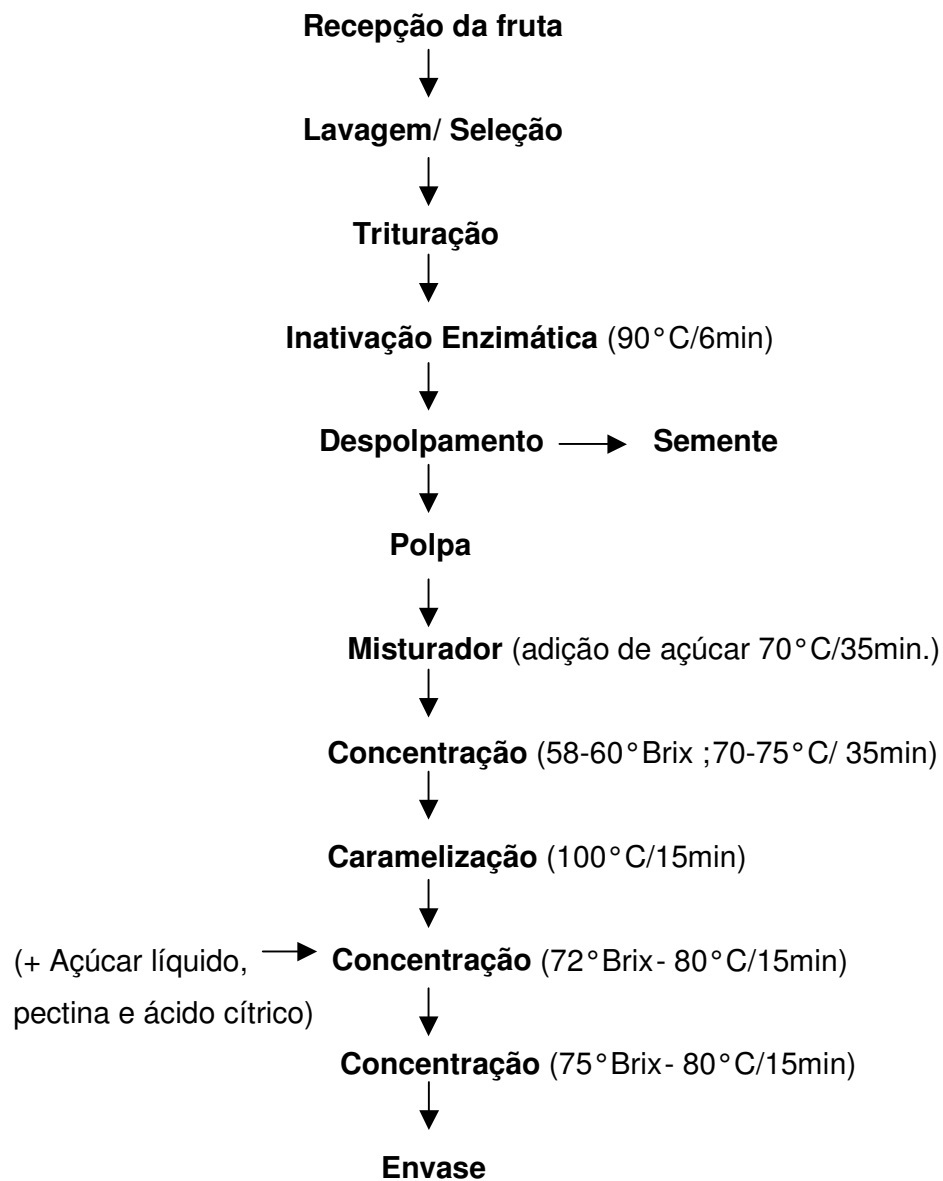


FIGURA 1. Fluxograma básico do processo de obtenção da goiabada.

2.2. Carotenóides

Os carotenóides são pigmentos naturais lipofílicos amplamente distribuídos na natureza, que apresentam diversas funções biológicas e benefícios à saúde. São responsáveis pela coloração vermelha, amarela e alaranjada de frutas,

vegetais, raízes, flores, peixes invertebrados e pássaros (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997; MINGUÉZ-MOSQUERA et al., 2002).

Já foram identificados mais de 600 carotenóides e isso se deve às diferentes modificações da sua estrutura básica através de hidrogenação, desidrogenação, ciclização, migração de ligação dupla, encurtamento ou extensão da cadeia, rearranjo, isomerização, introdução de substituintes ou combinações destes processos (ZECHMEISTER, 1944; RODRIGUEZ-AMAYA, 1999; MELLO, 2002).

A estrutura química dos carotenóides é formada por um tetraterpeno linear de 40 átomos de carbono, constituídos de oito unidades isoprênicas unidas através de ligações cabeça e cauda, exceto no centro da molécula onde a ligação é cauda-cauda. O plano de simetria da molécula é reverso no centro e os dois grupos metílicos centrais encontram-se separados por seis átomos de carbono e os demais por cinco. Podem ser acíclicos, mono ou bicíclicos.

Os carotenóides são divididos em dois grupos, os carotenos constituídos apenas por carbono e hidrogênio e as xantofilas que possuem, também, oxigênio na forma de diferentes grupos como os epóxidos (5,6 ou 5,8-epóxidos), hidroxílicos (OH), metoxílicos (OMe), carbometoxílicos (CO₂Me), aldeídicos (CHO), cetônicos (C=O) e carboxílicos (CO₂H) (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997 e 1999; SHI e LE MAGUER, 2000; MELLO, 2002).

O consumo de uma dieta rica em carotenóides tem sido relacionado com a diminuição de diversas doenças. As funções fisiológicas dos carotenóides estão diretamente relacionadas às suas estruturas. Além de possuírem atividade pró-vitáminica A, apresentam outras funções como, ação potencial contra certos tipos de câncer, redução do risco de doenças cardíacas, proteção contra degenerações

oculares como catarata, atividade antiúlcera gástrica, atuação como antioxidantes e fortalecimento do sistema imunológico. Também são usados pelas indústrias alimentícias como corantes (BRITTON et al., 1995; RODRIGUEZ-AMAYA, 1997; YUONG e LOWE, 2001; WARZYNIAK, 2002; STAHL e SIES, 2005).

2.2.1. Licopeno

O licopeno é um pigmento vermelho que apresenta estrutura de hidrocarboneto com onze ligações duplas conjugadas (SHI e LE MAGUER, 2000; BURRI, 2002; LIN e CHEN, 2003) (Figura2).

O licopeno é encontrado em várias frutas e vegetais, principalmente em tomate, goiaba, mamão, melancia e pitanga (SHI e LE MAGUER, 2000; BURRI, 2002; LIN e CHEN, 2003; SHAMI e MOREIRA, 2004).

O licopeno é o carotenóide predominante no plasma e nos tecidos humanos, sendo o fígado o órgão que mais o acumula (SHAMI e MOREIRA, 2004).

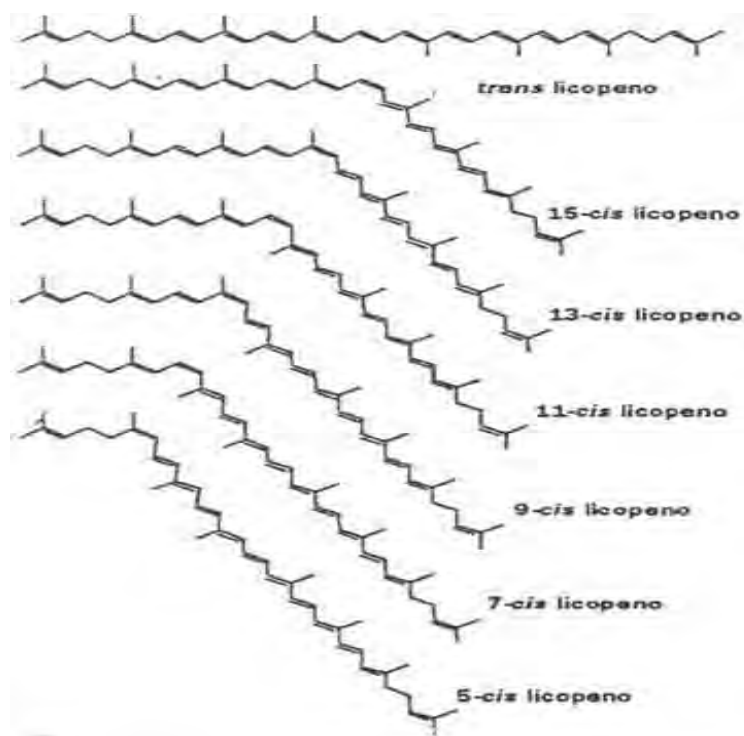


Figura 2. Estrutura química do licopeno e de seus isômeros (MEDEIROS, 2003).

Estudos têm sugerido que o licopeno pode atuar como antioxidante seqüestrando os radicais livres e, prevenindo algumas formas de câncer como de mama, pulmão, endométrio, e principalmente o de próstata, devido à proteção que exerce em moléculas como lipídeos, lipoproteínas de baixa densidade (LDL), proteínas e DNA. Além disso, atua no metabolismo do colesterol, contra degeneração macular relacionada à idade, cataratas e doenças do coração (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997 e 1999; OLIVER e PALOU, 2000; SHI e LE MAGUER, 2000; LEE e CHEN, 2001; BURRI, 2002; WAWRZYNIAK, 2002; SHAMI e MOREIRA, 2004).

O sistema de defesa antioxidante é formado por compostos enzimáticos e não-enzimáticos, estando presentes tanto no organismo (células e circulação sangüínea), como nos alimentos. No sistema enzimático temos as enzimas superóxido-dismutase, glutadiona-peroxidase e catalases. Dos componentes não-enzimáticos da defesa antioxidante destacam-se alguns minerais, bioflavonóides, taninos e os carotenóides. Estudos mostraram a relação entre o aumento no consumo de alimentos ricos em carotenóides e a diminuição no risco de várias doenças. Eles seqüestram o oxigênio singlete, removem os radicais peróxidos, modulam o metabolismo carcinogênico, inibem a proliferação celular, estimulam a comunicação entre células (junções *gap*), e elevam a resposta imune. A ação seqüestrante de radicais é proporcional ao número de duplas ligações conjugadas, presentes nas moléculas dos carotenóides (SHAMI e MOREIRA, 2004).

Tomates e derivados aparecem como as maiores fontes de licopeno. O licopeno ingerido na sua forma natural (*trans*-licopeno) é pouco absorvido, mas estudos demonstraram que o processamento térmico dos tomates e seus

produtos melhoram a sua biodisponibilidade. O tomate cru apresenta, em média, 30 mg de licopeno/Kg do fruto, o suco de tomate cerca de 150 mg de licopeno/litro, e o catchup em média, 100 mg/Kg (STAHL e SIES 1999, citados por, SHAMI e MOREIRA, 2004). O licopeno presente nos tomates varia conforme o tipo e o grau de amadurecimento dos mesmos. Em relação a biodisponibilidade, o consumo de molho de tomate aumenta as concentrações séricas de licopeno em taxas maiores do que o consumo de tomates crus ou suco de tomate fresco (SHAMI e MOREIRA, 2004). Essa diferença de biodisponibilidade está relacionada com as formas isoméricas apresentadas pelo licopeno. Os nutrientes presentes no tomate (lipídios, proteínas e fibras) podem contribuir para a estabilidade dos *trans*-isômeros de licopeno na fruta. Durante a digestão e absorção, o licopeno é separado dos demais nutrientes e incorporado a micelas. É possível que ocorra a isomerização do licopeno de *trans* para *cis* isômeros. Dados sugerem que os *cis*-isômeros de licopeno são melhor absorvidos, pela sua grande solubilidade em micelas e por não se agregarem (SHAMI e MOREIRA, 2004).

Alguns tipos de fibras, encontradas nos alimentos, como a pectina, podem reduzir a biodisponibilidade do licopeno, diminuindo a sua absorção devido ao aumento da viscosidade (SHAMI e MOREIRA, 2004).

2.2.2. Beta-caroteno

○ β -caroteno é um carotenóide constituído por uma cadeia de 11 ligações duplas conjugadas; pode ocorrer na forma *trans* e em diferentes formas de isômeros (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999) (Figura 3).

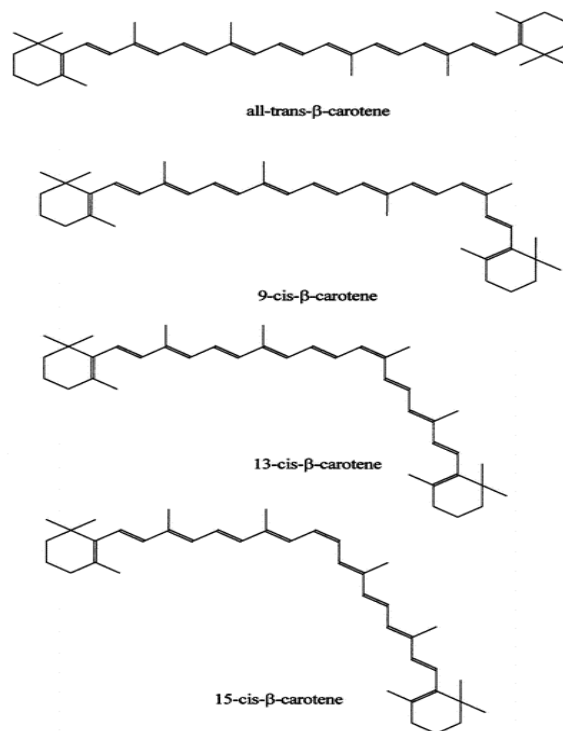


Figura 3. Estrutura química do β -caroteno e de seus isômeros (BONONI et al. 2002).

A função pró-vitâmica dos carotenóides desempenha um importante papel na prevenção da síndrome da deficiência da vitamina A, que causa xeroftalmia bem como distúrbios de crescimento na primeira infância. O *all-trans* β -caroteno é o que apresenta a maior biopotência (100% atividade pró-vitâmica A); está amplamente distribuído na natureza e é responsável pela pigmentação amarela de muitos frutos (LESSIN et al., 1997).

O β -caroteno é convertido em vitamina A (retinol) e ácido retinóico no corpo humano. A maior parte desta conversão processa-se nos intestinos e no fígado. Outros carotenóides também fazem essa conversão mas dão origem a uma única molécula de vitamina, sendo que o β -caroteno, dá origem a duas moléculas de

retinol. Por esta razão, o α -caroteno, muitas vezes, é denominado como provitamina A, funcionando como um reservatório vitamínico (MEDEIROS, 2003).

A biodisponibilidade e o metabolismo são afetados por vários fatores incluindo propriedades da matriz, preparação do alimento, digestão de gorduras e fibras, doenças do trato gastrointestinal e desnutrição (STAHL et al., 2005).

O β -caroteno, também, pode atuar também como antioxidante, bloqueando os radicais livres mediante reação e transporte de oxigênio e na prevenção de certos tipos de câncer e arteriosclerose (BRITTON et al., 1995; RODRIGUEZ-AMAYA, 1997; OLIVER e PALOU, 2000; LEE e CHEN, 2001; YOUNG e LOWE, 2001; BURRI, 2002;).

2.2.3. Carotenóides em alimentos

Existem vários fatores dos quais depende o conteúdo de carotenóides em um alimento como, variedade, condições de cultivo, localização geográfica, e porção analisada (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

PADULA e RODRIGUEZ-AMAYA (1986) estudaram o teor de carotenóides em goiabas variedade IAC-4 e goiabas do estado do Ceará e Pernambuco. O licopeno foi o principal pigmento encontrado, correspondendo a 86% na goiaba IAC-4 e 76% nas goiabas do Ceará e Pernambuco, em relação aos carotenóides totais. Já em relação ao β -caroteno, a goiaba cultivada no estado de São Paulo apresentou teores menores (3,7 μ g/g) em relação àquelas cultivadas no Ceará (6,6 μ g/g) e Pernambuco (11,9 μ g/g). Outros carotenóides encontrados foram o ζ -caroteno, γ -caroteno, zeinoxantina e diepóxidos do β -caroteno. O teor total médio encontrado foi de 62,1 e de 64,2 μ g/g na fruta inteira e na fruta descascada, respectivamente. Nas goiabas dos estados de Pernambuco e Ceará

ainda foram encontrados outros dois carotenóides, *cis*- γ -caroteno e 5,8 epóxi-zenoxantina.

MERCADANTE et al. (1999) identificaram 16 carotenóides na goiaba vermelha (variedade IAC-4) entre eles o fitoflueno, *all-trans*- β -caroteno, 9, 13 e 15 *cis*- β -caroteno, *all-trans*- γ -caroteno, *all-trans*-licopeno, 9, 13, 15-*cis* licopeno, *all-trans*- β - caroteno.

Em outro estudo, foram analisados os teores dos principais carotenóides em goiaba, manga e mamão e seus produtos. Na goiaba e seus produtos, os principais pigmentos encontrados foram o licopeno e β -caroteno. Concentrações de 44,8 a 60,6 $\mu\text{g/g}$ de licopeno e de 3,0 a 5,8 $\mu\text{g/g}$ de β -caroteno foram encontradas na goiaba "*in natura*". Nos produtos processados de goiaba, doce em calda, doce em pasta, geléia e suco, as quantidades médias encontradas foram menores; teor de licopeno de 27,8-29,9; 26,4-27,4; 11,5-23,2 e 11,1-40,6 $\mu\text{g/g}$ e de β -caroteno de 1,17-1,92; 2,95-4,51; 0,44-1,75 e 1,74-4,96 $\mu\text{g/g}$, respectivamente. No mamão foi encontrado um teor de licopeno, de 17,7-28,6 $\mu\text{g/g}$; para fruta cristalizada 78,4-80,5, e para polpa um teor de 0,2-13,2 $\mu\text{g/g}$. Para β - caroteno, os teores foram de 0,8-1,76; 6,76-8,0; e 0,29-1,48 $\mu\text{g/g}$ para a fruta, fruta cristalizada e para polpa respectivamente. Já para a manga, o principal pigmento encontrado foi o β -caroteno nas seguintes concentrações, fruta 8,2 - 28,7 $\mu\text{g/g}$, doce em pasta 17,8 $\mu\text{g/g}$, e suco 5,2-5,4 $\mu\text{g/g}$ (WILBERG e RODRIGUEZ-AMAYA, 1995).

2.2.4. Degradação de carotenóides em alimentos

A degradação dos carotenóides pode ocorrer por vários fatores como a presença de oxigênio, enzimas, e metais, e exposição à luz, ao aquecimento, e a

ácidos. Os carotenóides são susceptíveis à isomerização e a oxidação durante o processamento e estocagem e tem como conseqüência a perda da cor, perda da atividade biológica e a formação de compostos voláteis que conferem sabor desejável ou indesejável nos alimentos. Essa susceptibilidade deve-se ao fato dos carotenóides serem altamente insaturados (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999; SHI e LE MAGUER, 2000).

A principal causa de perda dos carotenóides é a degradação oxidativa (BRITTON et al., 1995; RODRIGUEZ-AMAYA, 1999). A degradação oxidativa inicia-se com a isomerização (carotenóides passam da forma *trans* para a forma *cis*), seguida da oxidação, que leva à formação de epóxidos e apocarotenóides, e finalmente à formação de compostos de baixo peso molecular similares àqueles produzidos na oxidação de ácidos graxos. A oxidação pode ocorrer de forma direta, sem que ocorra a isomerização, resultando também na formação dos compostos de baixo peso molecular (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

A oxidação depende da presença de oxigênio, metais, enzimas, lipídios insaturados, prooxidantes, ou antioxidantes; exposição à luz; tipo e estado físico dos carotenóides presentes; além disso depende também das condições do processamento (tempo e temperatura do tratamento térmico); material de embalagem e condições de estocagem (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

O emprego de tratamento térmico muito drástico poderá levar a perdas dos carotenóides. Um processamento que utiliza altas temperaturas, durante pouco tempo, pode ser benéfico, pois pode reduzir inicialmente o teor de carotenóides, mas previne perdas durante o processamento (principalmente em processos demorados) e estocagem (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997 e 1999).

Em condições de aquecimento e pH baixo ocorre a isomerização do carotenóide *trans* em uma ou mais duplas ligações, freqüentemente na posição 9 ou 15, obtendo-se uma mistura de isômeros. A formação das estruturas *cis* é considerada uma etapa degradativa promovida pelo aquecimento (OLIVER e PALOU, 2000).

Os carotenóides estão sujeitos também a oxidação e isomerização durante as análises, e medidas preventivas devem ser adotadas para garantir resultados analíticos confiáveis (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

2.2.5. Efeito do processamento e da estocagem sobre os teores de licopeno e α -caroteno

Estudo realizado por TAVARES e RODRIGUES-AMAYA (1994) determinou a concentração de carotenóides em tomates frescos e em duas marcas de produtos de tomates brasileiros. Foram encontrados teores médios de *trans*-licopeno de 31,1 \pm g/g, 61,6 \pm g/g; 133,5 \pm g/g; 182,7 \pm g/g e 102,9 \pm g/g em tomate fresco, suco de tomate, purê de tomate, extrato concentrado e catchup, respectivamente. Para *cis*-licopeno, os teores encontrados foram de 3,0 \pm g/g, 7,1 \pm g/g, 18,0 \pm g/g, 31,1 \pm g/g e 10,0 \pm g/g para os mesmos produtos. Neste trabalho, também, foram quantificados os teores de β -caroteno. As concentrações encontradas para o *trans*- α -caroteno foram de 5,1 \pm g/g, 2,0 \pm g/g, 6,2 \pm g/g; 8,7 \pm g/g; 3,5 \pm g/g, em tomate fresco, suco de tomate, purê, extrato de tomate concentrado e catchup, respectivamente. Os isômeros do β -caroteno não foram detectados nos tomates frescos, apareceram apenas nos produtos processados. O suco que recebeu tratamento mais brando de aquecimento apresentou somente 0,01 a 0,02 \pm g/g 13-*cis*- β -caroteno. O purê e o extrato concentrado

apresentaram de 3,9 a 0,1 de 13-*cis*-beta-caroteno; o 9-*cis*- β -caroteno variou 1,0 à g/g a não detectado. No catchup, a taxa foi de 0,2 a 0,6 à g/g de 13-*cis*- β -caroteno e 0,4 a 0,8 à g/g do *cis*-9- β -caroteno. TAVARES e RODRIGUEZ-AMAYA (1994) observaram ainda que houve variações nos teores dependendo da marca e da embalagem; algumas apresentaram teores duas vezes maiores e outras não, para as concentrações dos carotenóides, embora o purê de tomate apresentasse um teor de sólidos solúveis duas vezes maior que o suco. Os referidos autores esperavam encontrar, no extrato de tomate concentrado, um teor de carotenóides proporcionalmente mais alto que o purê, no entanto, não aconteceu. O teor de *trans*-licopeno foi quase o mesmo que no purê. Os autores acreditam que a perda de carotenóides ocorreu durante o processamento, sendo que a maior perda ocorreu naquele processamento considerado mais drástico, que foi o caso do extrato de tomate concentrado.

NGUYEN et al. (2001) estudaram os teores de licopeno em tomate fresco e produtos de tomate armazenados por 18 meses. Os valores iniciais encontrados de licopeno, em mg/100g, para tomate fresco, suco de tomate, extrato de tomate, molho e sopa foram de 5,09, 2,34, 9,93, 10,22, 10,72, respectivamente. Após 18 meses de estocagem, os teores foram de 2,26 em suco de tomate, 9,74 para extrato, 10,29 para molho e 10,50 para sopa.

A estabilidade de uma solução de padrão de licopeno durante iluminação (20W) a 25° C ou aquecimento a 50, 100, e 150° C, por vários períodos de tempo foi verificada por LEE e CHEN (2002). Durante a iluminação ocorreu isomerização e degradação, simultaneamente, para o licopeno e seus isômeros. A 50° C a isomerização predominou nas primeiras 9 horas, mas a degradação foi favorecida em seguida. Um resultado similar foi observado a 100° C para as concentrações

de *all-trans* licopeno e *cis* isômeros e, a 150°C, a degradação ocorreu mais rapidamente que a isomerização. O estudo revela que tanto a isomerização como a degradação pode ocorrer simultaneamente e, a reação dominante pode depender da temperatura de aquecimento, da intensidade de iluminação e, do tempo de exposição a esses fatores. Por comparação dos resultados apresentados, a maior taxa de degradação ocorreu a 150°C seguida da temperatura de 100 e 50°C. Aparentemente a alta temperatura acelera a degradação (LEE e CHEN, 2002).

CHEN et al. (1994) estudaram soluções padrão de carotenos aquecidas a 150°C por 10, 20 e 30 minutos ou expostas à iluminação de 20 W por 5, 10, 15 e 20 minutos. As perdas de β -caroteno com o aquecimento foram de 0,80, 0,95 e 1,20 $\mu\text{g}/100\mu\text{l}$ para 10, 20 e 30 minutos, respectivamente. Com a exposição à luz as perdas foram de 0,21 $\mu\text{g}/100\mu\text{l}$ em 5 minutos, 0,44 $\mu\text{g}/100\mu\text{l}$ em 10 minutos, 0,82 $\mu\text{g}/100\mu\text{l}$ em 15 e 1,10 $\mu\text{g}/100\mu\text{l}$ após 20 minutos. Esses autores observaram que quanto maior o tempo de exposição à luz ou ao aquecimento, maiores são as perdas de *all-trans*- β -caroteno.

Em um estudo realizado por CALLIGARIS et al. (2002) foi verificada a mudança de cor em purês de tomate que passaram por branqueamento a 100°C por 20 minutos, em comparação a purês que não sofreram tratamento, durante a estocagem a -7 e -18°C por 180 dias. A mudança de cor no purê não branqueado foi estatisticamente mais alta que naquele purê que sofreu tratamento. A perda de cor foi atribuída à atividade enzimática e/ou reações de oxidação. O efeito da temperatura de estocagem na mudança de cor foi significativo no caso do purê de tomate não branqueado. Na temperatura de -7°C, a perda de cor foi bem maior do que a -18°C, mas o que se constatou foi a perda de carotenóides em baixas

temperaturas tanto em tomates não branqueados, como em tomates branqueados, embora nesse último caso em menor extensão.

A degradação e a isomerização do licopeno foram estudadas em amostras de tomate em diferentes métodos de concentração; concentradas a vácuo (55° C por 4 a 8 horas), por secagem convencional (95° C por 6 a 10 horas) e por processo osmótico (25° C por 4 horas em solução de sacarose a 65° Brix). No tomate fresco havia 75,5 µg/100g de licopeno e a maioria estava na forma *all-trans*. O aumento de *cis*-isômeros com a conseqüente diminuição de *trans*-isômeros foi observada em todas as condições. Na concentração osmótica predominou a isomerização, ocorrendo um aumento significativo de isômeros *cis*, apesar do teor de licopeno total ter se mantido estável. Já por secagem convencional, foram verificadas perdas de 3,9% do teor inicial de licopeno, sendo que 84,4% correspondiam aos isômeros *trans* e 16,6% aos isômeros *cis*, indicando a ocorrência de isomerização e de oxidação simultaneamente. A secagem a vácuo proporcionou isomerização e oxidação do licopeno, porém em menor proporção que a secagem convencional. A perda foi de 3,2%, e 89,9% desse total correspondia aos isômeros *trans* e 10,1% aos isômeros *cis* (SHI et al., 1999).

A degradação da polpa de tomate submetida à liofilização e à secagem, em forno convencional, foi estudada por SHARMA e LE MAGUER (1996). Na fração rica em fibras, liofilizada ou concentrada em forno convencional a 25, 50 e 75° C, não houve diferença significativa após o processamento. Somente após 4 meses de estocagem é que apareceram as diferenças. A perda de licopeno nas amostras liofilizadas foi maior (97%) que nas amostras concentradas de forma convencional (73,3-78,9%) (SHARMA e LE MAGUER, 1996).

Um estudo realizado por MIKI e AKATSU (1970) citados por, SHI e LE MAGUER (2000), mostrou que a exposição de tomates a altas temperaturas, causava perdas de licopeno. O tomate aquecido a 90°C por 7 minutos, apresentou perdas de 1,1% de licopeno, enquanto que o aquecido a 130°C por 7 minutos, perdas de 17,1%.

PADULA et al. (1983) compararam o teor de carotenóides do suco de goiaba da variedade IAC-4 (processado no laboratório) com dois outros sucos comerciais (A e B), estocados por 10 meses à temperatura de 37°C. Os autores relataram que o teor de carotenóides totais (entre eles o β -caroteno e o licopeno) foi maior no suco da variedade IAC-4 do que nas marcas comerciais, apesar do suco IAC ter sido pasteurizado por 30 minutos em água em ebulição. Após 10 meses de estocagem, o teor de carotenóides totais do suco IAC-4 que era de 31,0 $\mu\text{g/g}$ passou para 27,7 $\mu\text{g/g}$, sendo 20,2 $\mu\text{g/g}$ de licopeno e 2,5 $\mu\text{g/g}$ ao β -caroteno. Para o suco da marca A, o teor após 10 meses foi de 16,3 $\mu\text{g/g}$ sendo 9,3 e 2,5 $\mu\text{g/g}$ de licopeno e β -caroteno, respectivamente, e para o suco B, 6,8 $\mu\text{g/g}$ de carotenóides totais dos quais 2,5 $\mu\text{g/g}$ de licopeno e 0,4 $\mu\text{g/g}$ β -caroteno.

A estabilidade dos carotenóides no suco de tomate, aquecido a 121°C por 40 segundos e estocado na ausência e na presença de luz (10 W), a 4, 25 e 35°C, por 12 semanas, foi estudada por LIN e CHEN (2005). O teor inicial de β -caroteno foi de 6 $\mu\text{g/g}$, para as três temperaturas. Na estocagem na ausência de luz, depois do armazenamento de 12 semanas a 4, 25 e 35°C, os níveis de β -caroteno diminuíram 4,69 $\mu\text{g/g}$ (78,2%), 4,87 $\mu\text{g/g}$ (81,2%) e 5,71 $\mu\text{g/g}$ (95,2%), respectivamente, resultando em um teor final de 1,31, 1,13, e 0,30 $\mu\text{g/g}$, para as condições citadas. A 4°C o 9-*cis* e o 13-*cis*- β -caroteno aumentaram e o 15-*cis* e o di-*cis*- β -caroteno diminuíram. A 25°C, não foi detectado o 13-*cis*- β -caroteno e a

35°C ocorreu completa degradação do 15-*cis* e do 13-*cis*-β-caroteno. Os resultados mostraram que a isomerização e a degradação podem ocorrer simultaneamente. Sob luz os all-*trans* β-caroteno foram degradados, completamente, a 35°C; e 94,7 e 91,7% foram as perdas a 4 e 25°C, respectivamente, mostrando que nesse caso a degradação ocorreu mais rápido que a isomerização. A formação do di-*cis*, 9-*cis* e 13-*cis*-β-caroteno foi promovida na exposição à luz nas primeiras semanas, ocorrendo completa degradação após 12 semanas de estocagem. Para o licopeno, o 15-*cis*-licopeno foi o maior isômero formado durante a estocagem no escuro a 4°C, enquanto 9-*cis* e 13-*cis*-licopeno foram favorecidos a 25°C; e o 5-*cis* bem como o 13-*cis* dominaram a 35°C. Após 12 semanas o conteúdo de all-*trans*-licopeno, que inicialmente foi de 82,02 µg/g, apresentou uma redução de 80,1% (68,1µg/g), 83,5% (71,0 µg/g), e 92,1% (78,3 µg/g), para as temperaturas de 4, 25, e 35°C, respectivamente. Sob luz, o 9-*cis* e o di-*cis*-licopeno, foram os principais isômeros gerados a 35°C, enquanto o 13-*cis* e 15-*cis*-licopeno foram os mais abundantes a 4 e 25°C. As formas all-*trans*-licopeno diminuíram a 4, 25 e 35°C em 87,4% (74,3µg/g), 84,9%(72,2µg/g), e 88,3%(75,1µg/g) após 12 semanas de estocagem (LIN e CHEN, 2005).

Foi realizado um estudo sobre a retenção de β-caroteno em goiaba liofilizada, armazenada em vidro âmbar, hermeticamente fechado, por um período de 18 meses a 35°C. No material *in natura* foi encontrado um teor de 0,30 mg/100g e no material pós-liofilizado de 3,14 mg/100g. No 1° terço do período (do 1° ao 6° mês) a redução foi de 1,240 mg/100g, do 7° ao 12° mês (2° período) a redução foi de 0,265 mg/100g e no período do 13° ao 18° mês foi de 0,135 mg/100g. Isto indica, portanto, que as maiores perdas ocorreram nos 6 primeiros

meses, e depois se mantêm praticamente constantes, quase nulas, até o final do período de estocagem (NOGUEIRA et al., 1978).

2.2.6. Análise dos carotenóides

A análise dos carotenóides compreende várias etapas que são, a amostragem, o preparo da amostra, a extração, a separação dos pigmentos, e a análise qualitativa e quantitativa (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999; OLIVER e PALOU, 2000).

Os carotenóides são altamente reativos e muito instáveis; devido ao sistema de duplas ligações conjugadas que existem em suas estruturas, podendo ocorrer a oxidação e a isomerização geométrica. Calor, luz e ácidos promovem a isomerização dos *trans*-carotenóides, forma mais comum encontrada na natureza, para a configuração *cis*, o que pode causar diminuição de cor e de atividade pró-vitamínica e/ou biológica (LESSIN et al., 1997; RODRIGUEZ-AMAYA, 1997; SHI e LE MAGUER, 2000).

Dessa forma são necessários alguns cuidados, durante as análises, como proteção contra a luz, uso de baixa temperatura, uso de antioxidantes, e condução da análise em menor tempo possível (MERCADANTE, 1999).

Para a identificação dos carotenóides utilizam-se alguns parâmetros como afinidade de adsorção na coluna (ordem de eluição), espectros de absorção na região do visível, reações químicas específicas, cálculo do grau de estrutura fina (%III/ II) (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999; KIMURA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2002).

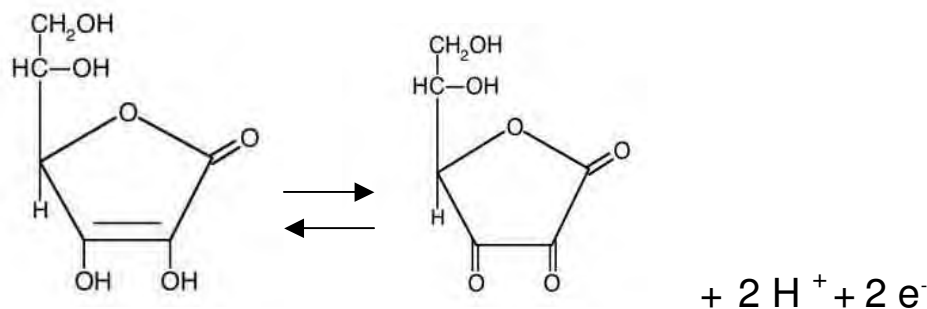
A cromatografia líquida de alta eficiência tem sido um dos métodos mais utilizados na análise dos carotenóides devido à eficiência, rapidez e seu uso, relativamente simples. Além disso, os carotenóides são termicamente instáveis e,

o uso de cromatografia líquida de alta eficiência preserva as características desses compostos.

Entre as colunas utilizadas para análise dos carotenóides está a C₁₈ que apresenta fraca interação com os analitos, compatibilidade com a maioria dos solventes, e larga faixa de polaridade, o que proporciona um bom resultado para análise dos carotenóides (OLIVER e PALOU, 2000; MERCADANTE e RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). A coluna C₃₀ também tem sido utilizada, mais recentemente, para análise de carotenóides, e geralmente, é aplicada para a separação de isômeros (LEE e CHEN 2001). Para extração dos carotenóides nos alimentos, pode-se utilizar o metanol, ou mistura de metanol e outros solventes apolares como metanol e éter etílico, metanol e clorofórmio, metanol e hexano, metanol, acetona e hexano (OLIVER e PALOU, 2000)

2.3. Vitamina C

A vitamina C compreende o ácido ascórbico na sua forma reduzida e o ácido dehidroascórbico na forma oxidada (Figura 4). O ácido ascórbico é instável, facilmente oxidado (reversivelmente) a ácido dehidroascórbico, que possui de 60 a 100% da atividade biológica do ácido L-ascórbico. As reações de oxidação podem continuar e o ácido L-dehidroascórbico é transformado em ácido 2,3-dicetogulônico, sem atividade biológica (ROJAS e GERSCHENSON, 1997; UDDIN et al., 2002; GIANNAKOUROU e TAOUKIS, 2003).



Ácido ascórbico (forma reduzida) Ácido dehidroascórbico (forma oxidada)

Figura 4. Estrutura química do ácido ascórbico e do dehidroascórbico (NAGY, 1980).

O ácido ascórbico é conhecido por prevenir ou curar o escorbuto, cujos principais sintomas são o sangramento das gengivas, a perda dos dentes, os distúrbios neurológicos, a anemia ferropriva, a dificuldade da cicatrização dos tecidos e, em casos extremos, a morte (MOSER e BENDICH, 1991; MILANESIO et al., 1997; GARDNER et al., 2000).

É essencial na produção e manutenção do colágeno (HALLIWELL, 2001), na formação de aminas aromáticas, tais como a dopamina e a serotonina, que atuam como neuro-transmissores; nos processos de regeneração dos tecidos; na redução do ferro férrico a ferroso. É um poderoso antioxidante, protege as células e tecidos contra os mecanismos de ataque dos patógenos, e facilita a absorção de minerais (ferro, zinco e cobre) como também a excreção deles (chumbo, mercúrio, vanádio, cádmio e níquel) (MOSER e BENDICH, 1991; MILANESIO et al., 1997).

No homem, o ácido ascórbico não é sintetizado devido à falta da enzima gulactona oxidase, que participa da biossíntese da vitamina C ou do ascorbato, sendo necessária a ingestão através da dieta alimentar (HALLIWEL, 2001).

As principais fontes de ácido ascórbico são frutas como acerola, cupuaçu, goiaba, frutas cítricas, abacaxi, tomate, maçã, banana, melão, cereja e morango. Os vegetais também são fontes dessa vitamina (batata, repolho, cebola, cenoura, pimenta, brócoli, couve-flor, folhas verdes, etc.). Em pequenas quantidades, esta vitamina pode ser encontrada em fígado e rins, em carnes bovinas, suínas e de peixes, e no leite de vaca (MOSER e BENDICH, 1991).

Devido a sua extrema sensibilidade, o ácido ascórbico pode ser utilizado como parâmetro de avaliação das condições de manuseio, estocagem e processamento de alimentos. As perdas relacionadas à oxidação do ácido ascórbico, principalmente durante a estocagem, formam diversas substâncias como o dióxido de carbono e o furfural que além de diminuir ou eliminarem a atividade do ácido ascórbico (ROJAS e GERSCHENSON, 1997), alteram, também, as características sensoriais, provocando cor e sabor indesejáveis, diminuindo a aceitação dos alimentos e levando, eventualmente, a perdas econômicas consideráveis (UDDIN et al., 2002).

2.3.1. Vitamina C em alimentos

A goiaba é uma fruta rica em ácido ascórbico, contendo de 3 a 6 vezes mais ácido ascórbico que a laranja, e é considerada por alguns pesquisadores como a segunda fruta com maior teor de ácido ascórbico, ficando atrás, apenas, da acerola (UDDIN et al., 2002; AGOSTINI-COSTA et al., 2003).

NOGUEIRA et al. (1978) verificaram concentrações de ácido ascórbico de 80,5 e de 778,5 mg/100g em goiaba (cultivar IAC-4) e em goiaba liofilizada, respectivamente.

PADULA e RODRIGUEZ-AMAYA (1986) encontraram na cultivar IAC-4,

cultivada em São Paulo, 97,7 mg/100g de ácido ascórbico, valor bem superior ao encontrado em amostras de goiaba procedentes da região nordeste do país, entre 9,2 e 52,2 mg/100g.

A goiaba variedade “Paluma” apresentou teor de ácido ascórbico (37,11 mg/100g) maior do que o encontrado na variedade “Pedro Sato” (15,32 mg/100g), segundo MATITIUZ et al. (2003).

As variações encontradas nos teores de ácido ascórbico se devem principalmente a amostragem, pois a fruta pode ser analisada inteira, com ou sem casca, com ou sem semente.

2.3.2. Degradação do ácido ascórbico

A degradação da vitamina C possui um mecanismo específico e depende de vários fatores como pH, ácidos, íons metálicos, teor de umidade, atividade da água, aminoácidos, carboidratos, lipídios, enzimas e, principalmente, calor (ROJAS e GERSCHENSON, 1997). Pode seguir uma rota aeróbica ou anaeróbica, consecutivamente ou paralelamente, embora alguns autores relatem que os mecanismos envolvidos na degradação desta vitamina ainda não estejam totalmente esclarecidos (NAGY, 1980; VIEIRA et al., 2000; MANSO et al., 2001).

Na oxidação aeróbica, o ácido ascórbico é transformado em ácido dehidroascórbico que passa a ácido 2,3-dicetogulônico produzindo, finalmente, hidroxifurfural (NAGY, 1980; SHAW et al., 1993; TANNENBAUM, 1976, citado por, VIEIRA et al., 2000).

Em condições anaeróbicas o ácido ascórbico se decompõe em ácido 2,5-dihidro-2-furanóico, dióxido de carbono e furfural (NAGY, 1980; SHAW et al. 1993).

2.3.4. Efeito do processamento e da estocagem sobre o teor de ácido ascórbico

Estudos sobre o efeito de processamento e estocagem sobre a composição da goiaba são escassos. Em goiaba liofilizada, conservada a 35°C, em frasco âmbar por 18 meses, foi verificado o teor de ácido ascórbico. No primeiro terço do período a redução foi de 22 mg/100g. No segundo terço (7° ao 12° mês) foi de 4 mg/100g e no último período (até o 18° mês) a redução foi de 1,5 mg/100g, mostrando que os teores de ácido ascórbico diminuíram nos 6 primeiros meses, e depois se mantiveram praticamente constantes até o final do período de estocagem (NOGUEIRA et al., 1978).

Foi estudado por YAMASHITA e BENASSI (2000) o efeito da embalagem e do tratamento com cálcio, sobre a cinética de degradação de ácido ascórbico, em goiabas armazenadas, sob atmosfera modificada, em temperatura de refrigeração. Goiabas de mesa (var. Pedro Sato) no estágio verde maduro foram armazenadas a 8°C (85-95% UR) por 49 dias. Uma parte das amostras foi tratada com solução de cloreto de cálcio 2% (p/v) e o restante permaneceu sem tratamento. Posteriormente, as amostras foram embaladas individualmente em dois tipos de embalagem de atmosfera modificada (Cryovac PD-900 e Cryovac PD-961). Goiabas sem embalagem e não tratadas com cálcio, mantidas à mesma temperatura de 8°C serviram como controle. Os frutos tratados com cálcio não apresentaram diferença na taxa de degradação de ácido ascórbico em relação aos não tratados. Os frutos embalados com PD-900, menos permeável ao O₂, apresentaram retenção de ácido ascórbico maior. Após 4 semanas, as goiabas sem embalagem apresentaram-se impróprias para consumo, devido ao murchamento e ataque de fungos, enquanto que as embaladas estavam em bom

estado. Após a sexta semana, apenas os frutos embalados com PD-900 sem tratamento com cálcio, estavam próprios para consumo. A embalagem de atmosfera modificada reduziu a perda de ácido ascórbico e prolongou a vida-de-prateleira do produto. O emprego de cálcio não afetou as características analisadas.

O teor de ácido ascórbico encontrado nas variedades de goiaba “Labourdonnais White” e “Hawaiian” foram de 201,1 mg/100g e 95,5 mg/100g, respectivamente. Após seis dias de estocagem, o teor de ácido ascórbico foi de 144,9 e 71,6 mg/100g, para as mesmas variedades. O processamento das goiabas resultou em retenção de 37,5% de ácido ascórbico na geléia, contra 79,6% no suco, provavelmente porque a fabricação da geléia envolveu um tratamento térmico mais severo do que o processamento de suco. A temperatura e o tempo de processamento elevam a taxa de perda de ácido ascórbico. Enquanto o suco permaneceu a 88°C, por 10 minutos, a geléia foi processada por 35 minutos à mesma temperatura. A quantidade de água usada para aquecimento das frutas durante a preparação da geléia foi de 1 litro, sendo que 600 mL foram descartados; com isso, 31,4% de ácido ascórbico foram perdidos. Uma perda de 70,2% do ácido ascórbico, na geléia, foi notada, durante um período de estocagem de 3 meses. O decréscimo no teor de ácido ascórbico pode ser devido a vários fatores que afetam a sua estabilidade. Esses fatores incluem temperatura, presença de oxigênio no espaço vazio do recipiente e exposição à luz (JAWAHEER et al., 2003).

DE MARTIN et al. (1975) compararam o teor de ácido ascórbico em polpa de goiaba congelada e em polpas pasteurizadas, armazenadas em temperatura ambiente, por 180 dias. Na polpa congelada, a redução do teor de ácido

ascórbico foi de cerca de 12%, enquanto que nos tratamentos de pasteurização, ocorreram perdas de 70-75% de ácido ascórbico, no mesmo período de estocagem. As condições de estocagem, temperatura e presença de oxigênio, nas polpas pasteurizadas, também, influenciaram na perda do ácido ascórbico.

YUSOF e CHIONG (1997) avaliaram o teor de ácido ascórbico, após o processamento, por dois métodos, em uma bebida à base de carambola. No método em que se utilizou a pasteurização ocorreram perdas de 75-86% de ácido ascórbico, enquanto que no método que não utilizou pasteurização, apenas um branqueamento por 4 minutos, essa redução foi de 18-26%, na bebida estocada à temperatura de 25°C. Na estocagem a 5°C, ocorreram perdas menores no teor de ácido ascórbico. Os autores observaram ainda, que na bebida com teor maior de sólidos solúveis totais, a perda de vitamina C foi maior, tanto para a estocagem a 25°C como a 5°C.

Goiabas (cultivar 'Paluma') foram submetidas a diferentes processos de conservação antes do armazenamento a -20°C. No primeiro processo a polpa dura foi triturada, e no segundo processo, a polpa foi cortada ao meio, branqueada em água quente a 98°C por quatro minutos e seca. As duas polpas foram acondicionadas, em sacos de polietileno, congeladas e armazenadas a -20°C. As duas formas de conservação mostraram-se adequadas para preservação da polpa, com boa aparência, até 18 semanas. Houve redução no conteúdo de ácido ascórbico, principalmente na polpa triturada, que apresentou uma diminuição de 67,86 para 10,07 mg de ácido ascórbico por 100 g de polpa, em 18 semanas. Os teores de vitamina C, nas polpas íntegras, diminuíram de 67,86 mg para 17,44 mg de ácido ascórbico, por 100g de polpa, após o mesmo período de estocagem. Pode-se observar que o teor de vitamina C, tanto da polpa

congelada na forma triturada como da polpa não triturada, foi afetado pelo tipo de preparo e, também, pelo tempo de armazenamento (BRUNINI et al., 2003).

UDDIN et al. (2002) investigaram a retenção de ácido ascórbico da goiaba seca durante a estocagem a diferentes temperaturas (30,40 e 50 °C) e diferentes valores de atividade de água (0,43, 0,75, 0,84 e 0,97) por até 24 dias. Constataram que o aumento desses parâmetros (temperatura e atividade de água) gerava um aumento na degradação do teor de ácido ascórbico.

MATITIUZ et al. (2003) observaram diminuição, no teor de ácido ascórbico, em pedaços de goiaba minimamente processados, estocados a 3 °C, por 10 dias.

3. OBJETIVOS

- Identificar os carotenóides principais presentes na goiabada;
- Verificar o efeito da estocagem de 270 dias, sobre os teores de carotenóides e de ácido ascórbico da goiabada, acondicionada em embalagem filme de polipropileno biorientado (BOPP), armazenada na temperatura de 30°C (temperatura ambiente) e de 5°C (temperatura de refrigeração);
- Verificar o efeito da presença da luz, sobre os teores de carotenóides e de ácido ascórbico da goiabada, acondicionada em embalagem filme de polipropileno biorientado (BOPP), armazenada a 30°C.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

Amostras de goiabada produzidas a partir de goiabas da variedade “Paluma”, foram coletadas em uma indústria processadora de frutas da região de Araraquara/SP, e foram acondicionadas em embalagem de filme de polipropileno biorientado (BOPP).

As goiabadas foram estocadas nas temperaturas de 5 e 30° C por 9 meses. Nos primeiros 21 dias, as análises ocorreram de 3 em 3 dias; depois foi realizada uma análise no 30º dia; nos dois meses seguintes, as análises foram realizadas de 15 em 15 dias e nos meses seguintes, mensalmente. Os parâmetros analisados, nos períodos, foram: a composição dos carotenóides, o teor de ácido ascórbico, o teor de acidez total titulável e de sólidos solúveis totais. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

4.2. Métodos

Durante as análises dos carotenóides, a vidraria foi sempre envolta em papel alumínio, para evitar o contato com a luz, a iluminação do laboratório apagada, e o ambiente foi climatizado, pois como se sabe, os carotenóides são muito instáveis à luz e a altas temperaturas. Foi adicionado aos extratos das amostras e dos padrões (item 4.2.1), o antioxidante butil hidroxitolueno (BHT), para evitar oxidações. Os extratos foram secos sob fluxo de nitrogênio (N₂) e congelados à temperatura de -18°C.

4.2.1. Extração de carotenóides em goiabada

Os carotenóides foram extraídos das amostras de goiabada (5 g) com metanol e com a mistura metanol-éter etílico (1:1) e a fase líquida recolhida. Este processo foi repetido várias vezes, até o resíduo tornar-se incolor. A fase líquida contendo os carotenóides foi transferida para um funil de separação, para a remoção do metanol, através de lavagens sucessivas com água destilada. Em seguida, a fase etérea, contendo os pigmentos, foi concentrada em rotaevaporador, à uma temperatura máxima de 35° C, sendo secos com nitrogênio e posteriormente congelados a -18° C (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999; KIMURA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2002).

4.2.2. Separação dos carotenóides por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Para a análise dos carotenóides, utilizou-se um cromatógrafo líquido (Shimadzu) com sistema quaternário de bombeamento de solvente, modelo LC-10AT VP, válvula injetora com alça de amostra de 20 µL de capacidade, detector por arranjo de fotodiodos (DAD) SPD-M 10A VP, forno com controle de temperatura CTO-10AS VP, degaseificador DGU-14A e controlador SCL-10A VP.

Os solventes utilizados foram de grau cromatográfico (Mallinckrodt e Baker), e todos foram previamente filtrados em sistema Millipore de filtração a vácuo, com membrana filtrante Nylon 66, para solvente orgânico de 0,45 µm.

As amostras e as soluções-padrão foram diluídas em 2 mL da mistura hexano-acetato de etila (2:8 v/v), e, posteriormente, filtradas em membrana FH (Millipore) de 0,5 μm , antes da injeção no cromatógrafo líquido.

A separação dos carotenóides foi realizada em uma coluna de fase reversa (C_{18}) Waters RP-HPLC (4,6 x 150mm; 3,5 μm), utilizando-se como fase móvel acetonitrila/ metanol/ acetato de etila, com adição de 0,05% de trietilamina (TEA) em cada solvente, e gradiente de 88:8:4 para 48:26:26 em 30 minutos. O tempo de re-equilíbrio foi de 15 minutos e vazão de 0,8 mL/minuto. O processamento dos dados foi realizado a 450 e 470 nm.

4.2.3. Identificação dos carotenóides

A confirmação da identidade dos carotenóides isolados foi realizada, através da análise dos seguintes parâmetros: afinidade de adsorção na coluna de C_{18} (ordem de eluição), espectro de absorção obtido entre 300 e 550 nm, reações químicas específicas, grau de estrutura fina (%III/II), e intensidade do pico *cis* ($\%A_b/A_{II}$).

4.2.4. Isomerização *trans-cis* catalisada por iodo

Para verificar a configuração isomérica (geométrica) dos carotenóides, algumas gotas de solução etérea de iodo foram adicionadas ao pigmento dissolvido em éter de petróleo, seguido de exposição à luz por 5 minutos. O espectro UV/Visível foi registrado antes e após a reação. O carotenóide *trans* acusava um deslocamento hipsocrômico do $\lambda_{\text{máx}}$ de 3-5 nm e o isômero *cis*, um deslocamento batocrômico nesta mesma faixa de valor.

4.2.5. Grau de estrutura fina (%III/II)

Outro parâmetro para identificação dos carotenóides isolados foi o cálculo da %III/II (razão entre a altura do pico de maior comprimento de onda, designado III, e a altura do pico de absorção intermediária, designado II, tendo o mínimo entre os dois picos uma linha base, multiplicado por 100). Os valores obtidos foram comparados com os valores tabelados por RODRIGUEZ-AMAYA (1999).

4.2.6. Intensidade do pico *cis* (% A_b/A_{II})

A partir da linha de base, foi medida a altura do pico *cis* (A_b), banda característica localizada cerca de 142 nm abaixo do pico do $\lambda_{m\acute{a}x}$, e a altura do pico com maior absorbância. O cálculo foi feito de maneira semelhante ao de %III/II (BRITTON, 1995).

4.2.7. Quantificação dos carotenóides por curvas de calibração

A quantificação dos pigmentos foi realizada através de curvas de calibração externa.

A concentração de cada padrão de carotenóide foi obtida a partir da absorbância máxima, aplicando-se a Lei de Beer e utilizando-se os coeficientes de absorvidade ($A^{1\%}_{1cm}$). As curvas de calibração foram construídas utilizando-se seis concentrações diferentes, em duplicata, para o β -caroteno e licopeno. As faixas de concentração utilizadas foram de 4,8-48,2 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ para β -caroteno e 38,9-583,7 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ para licopeno. O *cis*-licopeno foi quantificado como licopeno e o *cis*- β -caroteno como β -caroteno.

4.2.8. Preparação dos padrões de carotenóides

O procedimento de isolamento e de purificação dos padrões de carotenóides, utilizados na quantificação por CLAE, foi realizado de acordo com KIMURA e RODRIGUEZ-AMAYA (2002). A separação dos padrões foi realizada em coluna aberta empacotada com MgO/Celite (1:1), ativada a 120°C/2 horas, e as frações foram eluídas da coluna, com concentrações crescentes de éter etílico ou acetona em éter de petróleo.

O carotenóide licopeno foi isolado a partir da goiaba, enquanto que o β -caroteno de cenoura. Estes carotenóides foram acondicionados em frascos âmbar após adição de BHT (butil hidroxitolueno) e estocados a -18°C até o momento de seu uso. Imediatamente antes do uso dos padrões purificados, foram repurificados em coluna aberta de alumina I, coletando-se somente a porção principal de cada banda. A pureza de cada padrão de carotenóide foi verificada pela análise do perfil de seu espectro, na região entre 300 e 550 nm, e pelo cromatograma e espectro obtido por CLAE. As características dos padrões isolados estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Características dos padrões de carotenóides utilizados na quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Carotenóide	Solvente	$A^{1\%}_{1cm}$	% pureza	Equação da curva de calibração	Coefficiente de correlação
Licopeno	Éter de petróleo	3450	99,5	$y = 4E+06x$	0,9956
β -caroteno	Éter de petróleo	2592	99,2	$y = 5E+06x$	0,9215

4.2.9. Determinação de sólidos totais solúveis

A determinação do teor de sólidos solúveis totais (°Brix) das amostras foi realizada segundo o método da A.O.A.C. nº 932.12, utilizando-se um refratômetro de Abbé e a tabela de correção de temperatura para 20°C (1990).

4.2.10. Determinação da acidez total titulável

A determinação da acidez, nas amostras de goiabada, foi realizada segundo método da A.O.A.C. nº 942.15 (1990).

4.2.11. Determinação do ácido ascórbico

Para determinar o teor de ácido ascórbico, utilizou-se o método oficial da A.O.A.C (1990), que se baseia na redução do 2,6-diclorofenol indofenol por uma solução de ácido ascórbico, modificado por BENASSI (1990), com substituição do ácido metafosfórico, por ácido oxálico como solvente.

4.2.12. Análise Estatística

As médias das concentrações de carotenóides, obtidas pela quantificação por leitura da absorbância a 450 e 470 nm por CLAE, as médias do teor de ácido ascórbico, da acidez total titulável, e dos sólidos totais solúveis encontradas nas goiabadas foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, através do programa estatístico BioEstat, versão 4.0 (2005). O programa Microsoft EXCEL[®] (2000) foi utilizado para a elaboração dos gráficos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A goiaba é uma fruta que contém teores expressivos de ácido ascórbico e de carotenóides. A goiabada é um produto resultante do processo de concentração da polpa de goiaba com açúcares, e aditivos permitidos, até a consistência apropriada, sendo pasteurizada e acondicionada de modo assegurar sua conservação. Dependendo do tipo de embalagem, tem uma vida-de-prateleira que pode variar de um ano (polipropileno biorientado - BOPP), até dois anos (folha metálica tradicional – lata), podendo portanto, permanecer um longo período nas prateleiras dos supermercados, ou mesmo nas próprias residências dos consumidores.

Neste sentido, é importante estudar o que acontece com estes compostos durante a estocagem da goiabada.

As amostras de goiabada, acondicionadas em filme de polipropileno biorientado (BOPP), foram armazenadas na temperatura de 30°C, que é a temperatura de estocagem deste produto, e de 5°C, que corresponde à temperatura de refrigeração, por 270 dias. Na temperatura de 30°C também foi estudado o efeito da presença e da ausência de luz, uma vez que este tipo de embalagem permite a passagem de luz, e tanto os carotenóides quanto o ácido ascórbico são sensíveis à luz.

5.1. Teores médios de acidez total titulável e de sólidos solúveis totais, na goiabada estocada em diferentes condições

Os teores de acidez total titulável e de sólidos totais solúveis não apresentaram grandes variações quanto às condições e durante o tempo de estocagem.

Os resultados do teor de acidez total titulável estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Teores médios de acidez total titulável¹ (ATT), em goiabadas, no tempo 0 (zero) e após 270 dias de estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.

Condições de estocagem	Teor inicial (g de ácido cítrico/ 100 g de goiabada) ²	Teor após 270 dias de estocagem (g de ácido cítrico/ 100 g de goiabada) ²
5°C	0,605 ± 0,002 a	0,494 ¹ ± 0,003 a
30°C (exposta à luz)	0,605 ± 0,002 a	0,512 ± 0,004 a
30°C (sem exposição à luz)	0,605 ± 0,002 a	0,508 ± 0,002 a

¹Média e desvio-padrão de três amostras

²Médias de teores de acidez seguidas de letras iguais, na coluna, não diferem entre si, estatisticamente, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

O teor inicial de ATT das amostras foi de 0,605mg de ácido cítrico/ 100g de goiabada. Durante os nove meses que as goiabadas estiveram estocadas, a acidez total titulável apresentou um decréscimo não significativo ($p < 0,05$). Em relação as diferentes condições de estocagem, também não houve diferença significativa entre os teores de acidez (Tabela 2).

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados do teor de sólidos solúveis totais presentes na goiabada, durante os 270 dias de armazenamento. Em relação aos teores de sólidos solúveis totais (SST), também não observou-se diferença significativa entre o teor inicial e o final após o período de armazenamento, assim como entre as três condições de estocagem.

Tabela 3. Teores médios de sólidos solúveis totais¹ (SST), no tempo 0 (zero) e após 270 dias de estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.

Condições de estocagem	Teor inicial (° Brix)²	Teor após 270 dias de estocagem (° Brix)²
5° C	73,91 ± 0,09 a	73,54 ¹ ± 0,46 a
30° C (exposta à luz)	73,91 ± 0,09 a	73,68 ± 0,18 a
30° C (sem exposição à luz)	73,91 ± 0,09 a	73,37 ± 0,09 a

¹Média e desvio-padrão de três amostras

²Médias de teores de sólidos totais solúveis seguidas de letras iguais, na coluna, não diferem entre si, estatisticamente, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

Resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho, também foram relatados por DE MARTIN et al. (1975) para polpas congeladas e pasteurizadas, armazenadas por 180 dias, onde os teores de sólidos totais solúveis e acidez titulável não apresentaram variações significativas, ao longo da estocagem.

5.2. Perfil dos carotenóides principais da goiabada obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A separação dos carotenóides da goiabada, por CLAE, em coluna de fase reversa (C₁₈), mostrou que o licopeno era o principal carotenóide, representando mais de 85% dos carotenóides totais. Já o β-caroteno, o segundo carotenóide majoritário, representou pouco mais de 10% do total. Estes dados estão de acordo com os citados por outros autores, que também citam o licopeno e o β-caroteno como os principais carotenóides da goiaba e seus derivados (WILBERG e RODRIGUEZ-AMAYA, 1985; PADULA e RODRIGUEZ-AMAYA, 1983 e 1986; ESCOBAR, 2006).

Os espectros obtidos pelo detector por arranjo de fotodiodos (DAD) para cada pico separado, encontram-se nas Figuras 5 e 6, e o cromatograma característico da separação dos carotenóides da goiabada, na Figura 7. Os valores de $\lambda_{m\acute{a}x}$ e os tempos de retenção médios obtidos por CLAE, dos carotenóides principais encontrados, na goiabada estão na Tabela 4.

Tabela 4. Características dos principais carotenóides isolados na goiabada.

Pico ^a	Carotenóide	t _R (min)	$\lambda_{m\acute{a}x}$ (nm) ^a	%III/II	%A _b /A _{II}
1	<i>trans</i> -licopeno	14,4 – 15,5	446 472 503	54	0
2	<i>cis</i> -licopeno	16,0 – 16,5	352 445 471 502	49	52
3	β-caroteno	20,7 – 21,2	(430) 452 478	27	0
4	<i>cis</i> -β-caroteno	22,0 – 22,6	338 (423) 446 476	27	45

^a Obtidos pelo detector por arranjo de fotodiodos em gradiente de acetoneitrila/metanol/acetato de etila; parênteses indicam ombro ao invés de pico; t_R = tempo de retenção médio; %III/II = grau de estrutura fina; %A_b/A_{II} = intensidade do pico *cis* (BRITTON et al., 1995).

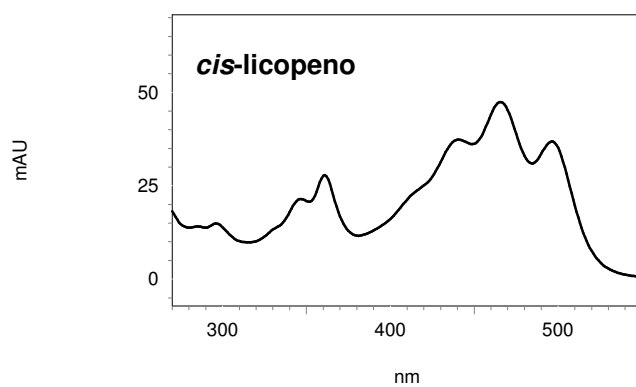
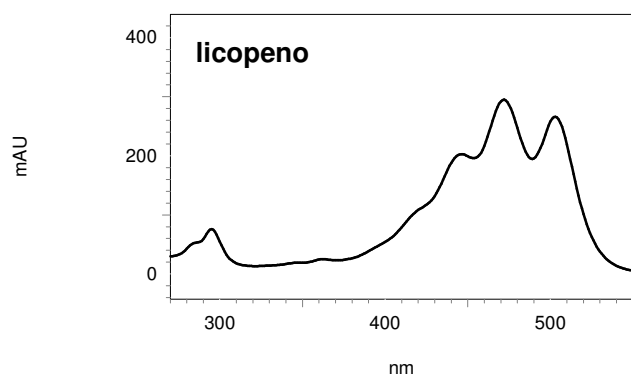


Figura 5. Espectros de absorção do licopeno e do *cis*-licopeno identificados na goiabada, por CLAE, fornecidos pelo detector por arranjo de fotodiodos. Fase móvel: acetonitrila-metanol-acetato de etila (adição de 0,05% de trietilamina em todos os solventes), com gradiente de 88:8:4 para 48:26:26, em 30 minutos.

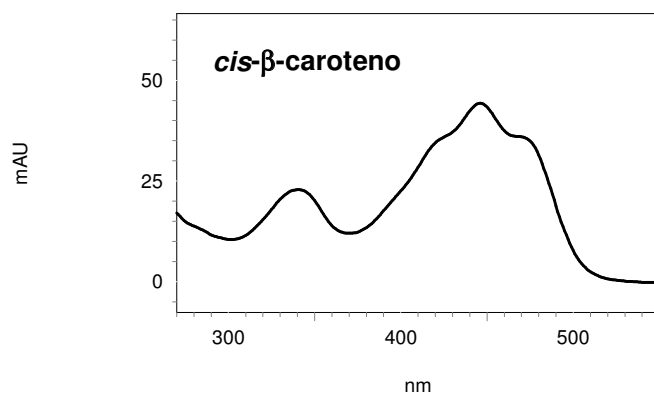
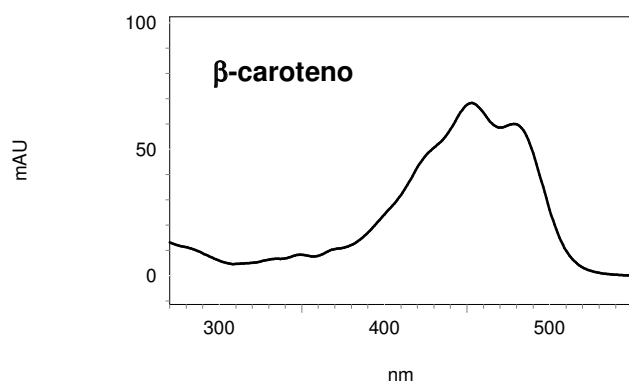


Figura 6. Espectros de absorção do β -caroteno e do *cis*- β -caroteno identificados na goiabada, por CLAE, fornecidos pelo detector por arranjo de fotodiodos. Fase móvel: acetronitrila-metanol-acetato de etila (adição de 0,05% de trietilamina em todos os solventes), com gradiente de 88:8:4 para 48:26:26, em 30 minutos.

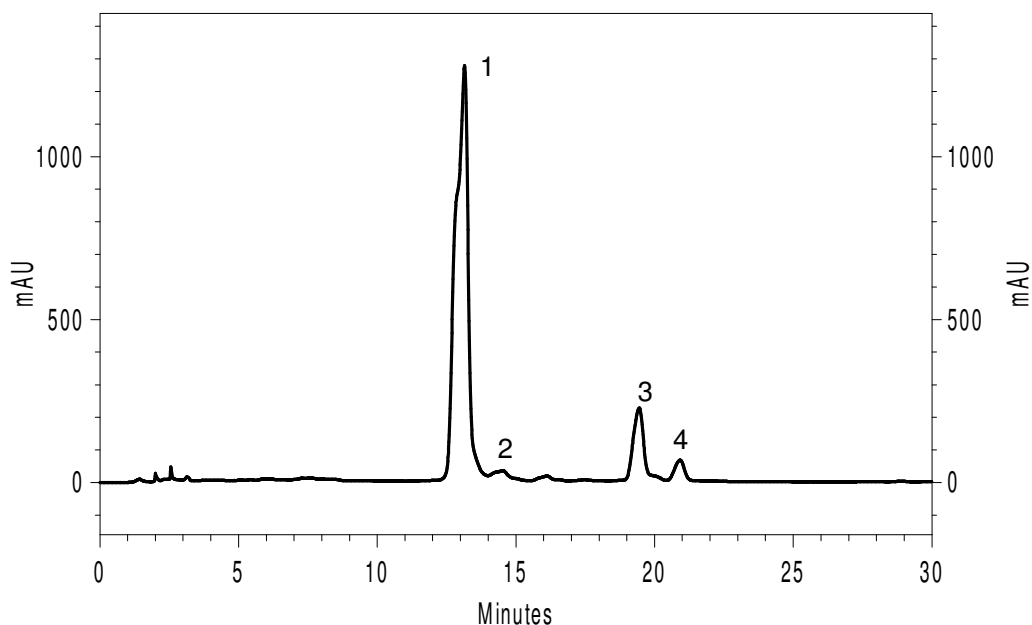


Figura 7. Cromatograma característico da separação dos carotenóides em amostras de goiabada: licopeno (1), *cis*-licopeno (2), β -caroteno (3) e *cis*- β -caroteno (4). Condições cromatográficas estão apresentadas no texto.

5.3. Efeito da estocagem por 270 dias sobre a concentração do ácido ascórbico presente na goiabada

As variações dos teores de ácido ascórbico e das porcentagens de retenção foram observadas, durante os 270 dias de estocagem sob duas temperaturas, 5 e 30°C (com e sem exposição à luz), e os resultados obtidos estão apresentados nas Tabelas 5 e 6, e nas Figuras 8 e 9.

A concentração média inicial de ácido ascórbico na goiabada foi de 41,14 mg de ácido ascórbico/ 100 g (Tabela 5), e após 270 dias, foram reduzidos para 28,2, 23,4 e 18,9 mg/100 g, para as condições de 5°C, 30°C sem luz e 30°C com luz, respectivamente. Na temperatura de 5°C, as perdas de ácido ascórbico foram

menores que na temperatura de 30°C sem luz, que por sua vez foram menores que na de 30°C em presença de luz (Figura 8).

Tabela 5. Teores médios de ácido ascórbico¹, no tempo 0 (zero) e após 270 dias de estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.

Condições de estocagem	Teor inicial (mg/100 g) ²	Teor após 270 dias de estocagem (mg/100 g) ²
5°C	41,14 ± 0,43 a	28,23 ± 0,46 a
30°C (exposta à luz)	41,14 ± 0,43 a	18,93 ± 0,18 b
30°C (sem exposição à luz)	41,14 ± 0,43 a	23,40 ± 0,09 c

¹Média e desvio-padrão de três amostras

²Médias de teores de ácido ascórbico seguidas de letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si, estatisticamente, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

Tabela 6. Teores médios de ácido ascórbico¹, durante o armazenamento, em temperaturas de 5°C e 30°C (com e sem exposição à luz).

Tempo de estocagem (em dias)	Teor (mg/100 g) ²		
	5°C	30°C na presença de luz	30°C na ausência de luz
0	41,14 ± 0,43 a	41,14 ± 0,43 a	41,14 ± 0,43 a
4	35,89 ± 0,07 b	34,27 ± 0,75 b	34,40 ± 0,15 b
14	34,95 ± 1,20 bc	31,54 ± 0,19 bc	33,33 ± 0,30 bc
30	34,25 ± 1,23 bcd	31,30 ± 0,28 bcd	32,90 ± 0,31 bcd
60	32,73 ± 0,36 bcde	26,76 ± 0,46 bcde	30,03 ± 0,06 bcde
90	32,59 ± 0,29 cde	26,50 ± 0,40 cde	30,04 ± 0,44 cde
150	32,35 ± 0,64 cde	26,13 ± 0,58 cde	28,55 ± 0,37 cde
210	30,71 ± 0,54 ef	22,20 ± 0,56 ef	25,89 ± 0,11 ef
270	28,23 ± 0,16 f	18,93 ± 0,15 f	23,40 ± 0,21 f

¹Média e desvio-padrão de três amostras

²Médias de teores de ácido ascórbico seguidas letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si, estatisticamente, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

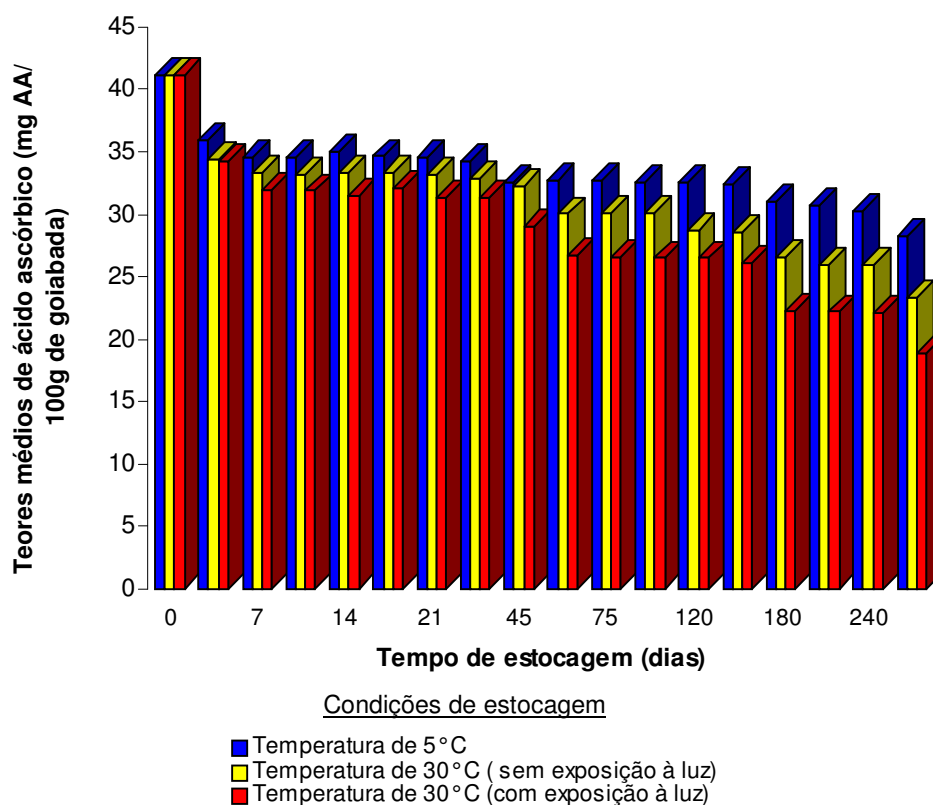


Figura 8. Teores médios de ácido ascórbico, em goiabada, submetida a diferentes condições armazenamento (5°C, 30°C com e sem exposição à luz), por 270 dias.

Na goiabada estocada a 5°C, a retenção média foi de 84% após 7 dias de estocagem, permanecendo nesta faixa até o 30° dia. Após 90 dias a retenção foi de 78,1% do teor inicial e de 75,4% após 180 dias de armazenamento. Após o período de 270 dias, a retenção de ácido ascórbico foi de 68,6% (Figura 9).

Na temperatura de 30°C em ausência de luz, a retenção foi de 83,6% após 7 dias, semelhante a da goiabada estocada a 5°C. Entretanto, as perdas foram ficando maiores a medida que o tempo de armazenamento aumentava. Foram observadas retenções de 80, 73, 64,5, 66,9% para os produtos mantidos nesta condição por 30, 90, 180, 270 dias, respectivamente (Figura 9).

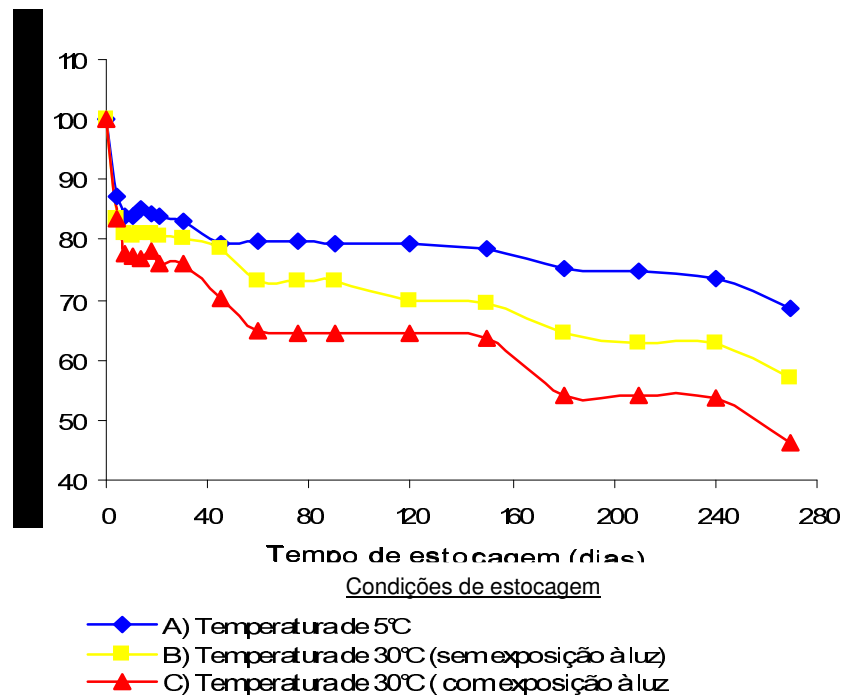


Figura 9. Porcentagem de retenção de ácido ascórbico da goiabada, submetida a diferentes condições de armazenamento (5°C, 30°C com e sem exposição à luz), por 270 dias.

Nas amostras armazenadas a 30°C e em presença de luz, após 7 dias, as retenções de ácido ascórbico foram de 77,7%, menores que as obtidas para aquelas mantidas a 30°C em ausência de luz ou a 5°C. Após 30, 90, 180, 270 dias as retenções observadas foram de 76,1, 64,4, 54,2 e 46% respectivamente (Figura 9).

A retenção de ácido ascórbico foi significativamente maior à temperatura de 5°C do que na demais condições de estocagem (Tabela 6 e Figura 9).

Na temperatura de 30°C e com exposição à luz, a goiabada apresentou maior degradação, do teor de ácido ascórbico (Tabela 6 e Figura 8), confirmando que a presença de luz acelera a degradação do ácido ascórbico. Resultados semelhantes foram também encontrados por UDDIN et al. (2002), em goiaba liofilizada, e por JAWAHEER et al. (2003), em suco e geléia de goiaba, que relataram que as estocagens em altas temperaturas reduzem os teores de ácido ascórbico. Deste ponto de vista, a estocagem da goiabada em temperatura de refrigeração (5°C), manteria melhor a qualidade do produto.

YUSOF e CHIONG (1997), também, constataram perdas maiores de ácido ascórbico em armazenamento a 25°C do que a 5°C, de bebida a base de carambola.

JAWAHEER et al. (2003) observaram ainda, que a exposição à luz contribui para a degradação do ácido ascórbico, em geléia e suco de goiaba, assim como observado no presente trabalho (Tabela 6 e Figura 9).

A goiabada apresentou decréscimo de ácido ascórbico em função do tempo de armazenagem, característico de uma cinética de degradação de primeira ordem. Pode-se observar que a velocidade de degradação foi maior na goiabada estocada a 30°C com exposição à luz, seguida da armazenada a 30°C sem exposição, e finalmente, da goiabada mantida à temperatura de 5°C, em razão das taxas de degradação em dias⁻¹ (*k*) de 0,002, 0,0014 e 0,0008 respectivamente. O tempo de estocagem, associado à temperatura, foi outro fator que influenciou na degradação no teor de ácido ascórbico deste produto. DE MARTIN et al. (1975) observaram em polpa de goiaba congelada por 6 meses, uma redução de ácido ascórbico de 12%, menor que aquelas verificadas em polpas pasteurizadas e armazenadas a temperatura ambiente por 6 meses, 70-75%.

NOGUEIRA et al. (1978), avaliando o conteúdo de ácido ascórbico em goiaba liofilizada, mantida em frasco âmbar, a 35°C por 18 meses, constataram redução significativa do teor inicial nos primeiros seis meses de estocagem, o qual manteve-se praticamente estável nos 12 meses subsequentes. No presente trabalho, também houve redução significativa no teor de ácido ascórbico, nos primeiros 6 meses de análise para todas as condições de armazenamento. Observou-se uma retenção de ácido ascórbico, após 6 meses de armazenamento, de 75%, para a goiabada armazenada a 5°C; 64% para a estocada a 30°C sem exposição à luz, e 54% na goiabada exposta à luz. Após os 270 dias, a retenção foi de 69, 57, e 46% para as mesmas condições citadas (Figura 9).

5.4. Efeito da estocagem por 270 dias sobre o teor de licopeno da goiabada

Amostras de um mesmo lote de goiabadas embaladas em filme de polipropileno biorientado (BOPP), foram estocadas a 5°C e a 30°C (na presença e ausência de luz). Os resultados apresentados a seguir mostram que ocorreu redução das concentrações do licopeno da goiabada.

Para todas as amostras, o teor médio inicial de licopeno foi de 468,18 µg/100 g. Para as goiabadas armazenadas a 5°C, após 270 dias, o teor foi reduzido para 47,65 µg/100 g, o que representou uma retenção de licopeno de 10,2%. Na goiabada estocada a 30°C e ausência de luz, a concentração de licopeno passou para 79,59 µg/100 g no final do período de estocagem, com retenção de 16,9% do teor inicial. Com relação ao efeito da presença de luz, nas goiabadas armazenadas a 30°C, observou-

se que o teor diminuiu para 56,10 µg/100 g após nove meses. A retenção foi de 11,9% (Tabela 7 e Figura 10).

Tabela 7. Teores médios de licopeno¹ da goiabada, no tempo inicial (zero) e após 270 dias de estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.

Condições de estocagem	Teor inicial (µg/100g)²	Teor após 270 dias de estocagem (µg/100g)²
5 °C	468,18 ± 25,83 a	47,65 ± 1,16 a
30 °C (exposta à luz)	468,18 ± 25,83 a	56,10 ± 7,95 ab
30 °C (sem exposição à luz)	468,18 ± 25,83 a	79,49 ± 6,14 b

¹Média e desvio-padrão de três amostras

²Médias de teores de licopeno seguidas de letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si, estatisticamente, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

Observou-se também diferença significativa ($p < 0,05$) entre os teores de licopeno, quando se analisaram as diferentes condições de armazenamento e quando se compararam os tempos de estocagem, demonstrando que a perda licopeno ao longo de 270 dias foi diferente para os tempos de armazenamento (Tabela 8 e Figura 11). A influência do tempo de estocagem pode ser verificada pelas diferenças significativas observadas entre os teores médios iniciais e finais do licopeno.

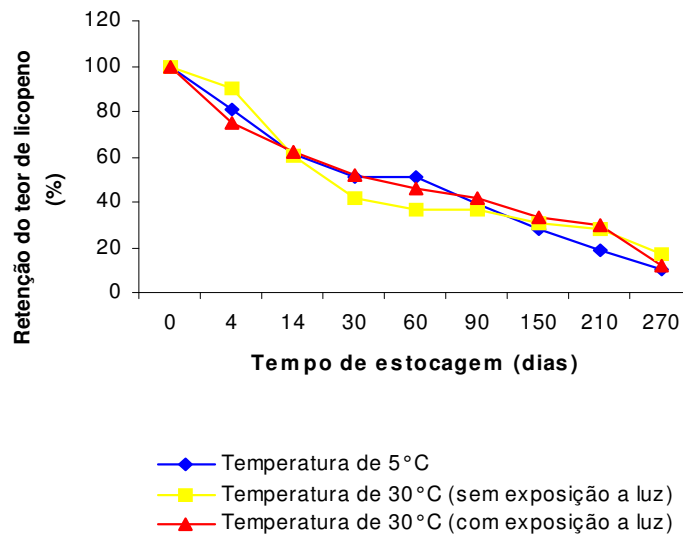


Figura 10. Porcentagem de retenção de licopeno da goiabada, submetida a diferentes condições de armazenamento (5°C, 30°C com e sem exposição à luz), por 270 dias.

Tabela 8. Teores médios de licopeno¹ da goiabada, durante a estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.

Tempo de estocagem (em dias)	Teor ($\mu\text{g}/100\text{g}$) ²		
	5° C	30° C na presença de luz	30° C na ausência de luz
0	468,18 \pm 25,83 a	468,18 \pm 25,83 a	468,18 \pm 25,83 a
4	377,93 \pm 14,13 b	351,31 \pm 9,35 b	424,12 \pm 3,76 b
14	286,77 \pm 8,73 c	292,47 \pm 6,26 c	281,35 \pm 4,80 c
30	238,56 \pm 11,09 cd	241,24 \pm 8,57 cd	195,88 \pm 2,34 cd
60	238,59 \pm 5,34 de	216,05 \pm 7,98 de	172,77 \pm 9,33 de
90	183,87 \pm 5,16 def	194,78 \pm 4,30 def	169,80 \pm 13,83 def
150	130,88 \pm 8,07 ef	155,07 \pm 17,13 ef	145,09 \pm 0,51 ef
210	89,36 \pm 9,60 f	139,16 \pm 6,73 f	132,76 \pm 11,17 f
270	47,65 \pm 1,16 g	56,10 \pm 7,95 g	79,49 \pm 6,14 g

¹Média e desvio-padrão de três amostras

²Médias de teores de licopeno seguidos de letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si, estatisticamente, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

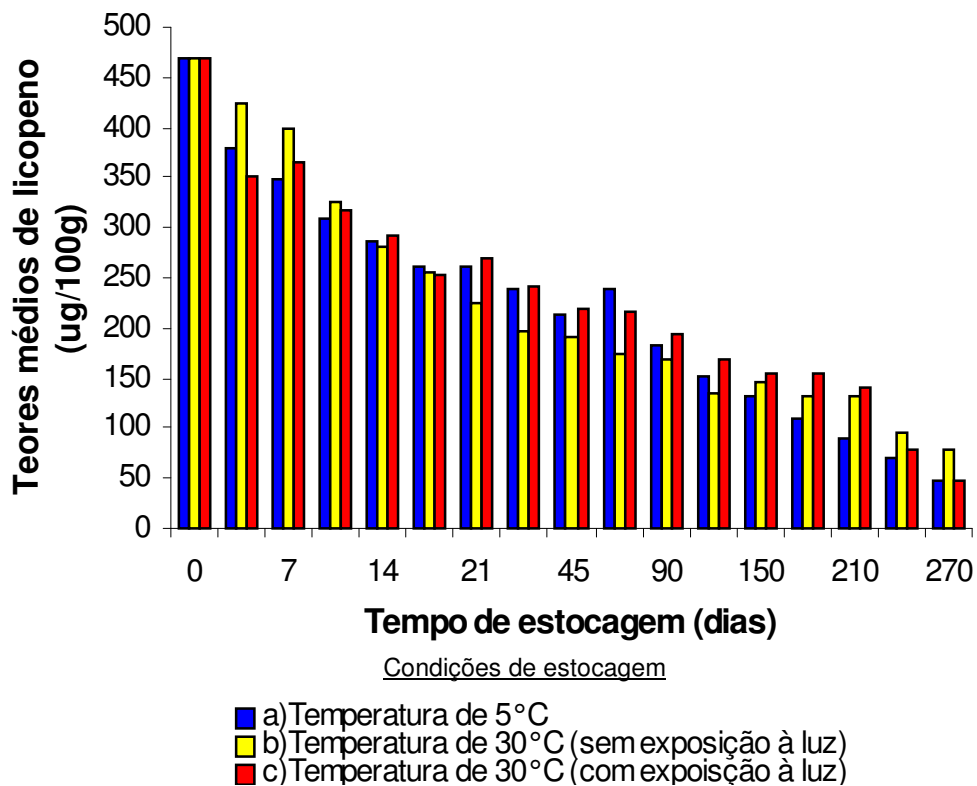


Figura 11 Avaliação do comportamento do licopeno, durante 270 dias, em goiabada submetida a diferentes condições de estocagem.

Com relação às condições de estocagem, foram encontradas diferenças significativas, já que a menor degradação ocorreu à temperatura de 30°C sem exposição à luz, seguida pela estocagem a 30°C com exposição à luz, e a 5°C (Figura11). A goiabada estocada a 5°C apresentou o mesmo teor da goiabada estocada a 30°C em presença de luz, e teor menor ($p < 0,05$) do que o doce estocado na ausência de luz. A goiabada estocada na ausência de luz apresentou

teor semelhante àquela estocada a 30°C em presença de luz (Tabela 7). Resultados semelhantes foram também descritos por LOVRIC et al. (1970), que observaram em tomate em pó seco, armazenado por 385 dias a 20°C, uma retenção de 21,8% do teor inicial de licopeno (108 µg/100g) enquanto a 2°C, a retenção observada foi de apenas 8,2% (8,86 µg /100g).

Em trabalho realizado com polpas de tomate estocadas por 5 meses (GIOVANELLI e PARADÍSO, 2002), foram encontrados resultados semelhantes aos observados neste trabalho envolvendo goiabadas. Os autores verificaram taxas menores de degradação do licopeno, em polpas de tomates estocadas a 20 e 37°C, com relação às polpas estocadas em temperatura de refrigeração (4°C).

Outro trabalho onde a temperatura baixa não preservou os teores de licopeno foi realizado por CALLIGARIS et al. (2002), que verificaram perdas em purês de tomate branqueados e não branqueados, estocados em baixas temperaturas (-7 e -18°C). Na temperatura de -7°C, a perda de cor foi significativamente maior do que a -18°C, porém constatou-se, a perda de carotenóides em baixas temperaturas tanto em tomates não branqueados, como nos tomates branqueados, embora nesse caso em menor extensão.

Em trabalho realizado por LIN e CHEN (2005), foi estudada a estabilidade dos carotenóides em suco de tomate, aquecido a 121°C por 40 segundos e estocados na ausência e na presença de luz (10 W) a 4, 25 e 35°C durante 12 semanas. Embora tenha ocorrido isomerização do licopeno nas duas primeiras semanas, a degradação desse carotenóide foi maior acarretando uma perda quase que completa, independente da temperatura de armazenamento e da presença ou não de luz. O conteúdo inicial de *all-trans*-licopeno (85,02 µg/g) sofreu perdas de 80,1, 83,5 e 92,1%, para as amostras armazenadas em

temperaturas de 4, 25, e 35 °C, respectivamente, e na ausência de luz. Sob efeito da luz, as formas *all-trans*-licopeno tiveram perdas de 87,4, 84,9 e 88,3% a 4, 25 e 35 °C, respectivamente, após 3 meses de estocagem (LIN e CHEN, 2005). Esses dados concordam em parte com os resultados obtidos no trabalho desenvolvido, já que foram encontrados teores de licopeno menores, na estocagem em ausência de luz, do que na presença de luz. Mas as maiores taxas de degradação do licopeno ocorreram em baixa temperatura (5 °C) e não em temperaturas altas (30 °C).

Os resultados do trabalho desenvolvido diferem dos encontrados por LEE e CHEN (2002), onde soluções padrões de licopeno foram expostas a altas temperaturas (50, 100 e 150 °C) e a iluminação de 20W a 25 °C, por vários períodos de tempo, e foi observado que a degradação aumentava quanto maior fosse a temperatura de exposição. Sob iluminação observou-se isomerização e degradação simultaneamente, para o licopeno e seus isômeros (LEE e CHEN, 2002). No presente trabalho, não foi possível quantificar o *cis*-licopeno, em nenhuma das condições de armazenamento; tendo sido encontrados teores muito baixos, e variáveis desse isômero.

5.5. Efeito da estocagem por 270 dias sobre o teor de β -caroteno da goiabada

O teor médio inicial de β -caroteno para todas as amostras foi de 15,12 $\mu\text{g}/100\text{ g}$. Os teores finais encontrados, nas goiabadas armazenadas a 5° C e a 30° C (com e sem exposição à luz), foram, respectivamente, de 5,84; 7,71; 9,26 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (Tabela 9 e Figura 12).

Estes teores não apresentaram diferenças significativas, quando se compararam as diferentes condições de armazenamento. Os teores médios iniciais de β -caroteno diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) dos teores encontrados a partir do 4º dia de avaliação, e depois apresentaram variações no 270º (Tabela 10 e Figura 12). No entanto, do 4º ao 210º dia, os teores encontrados não diferiram estatisticamente entre si, o que demonstra que o tempo de estocagem não exerceu grande influência na degradação desse carotenóide (Tabela 10).

Tabela 9. Teores médios de β -caroteno¹ da goiabada, no tempo 0 (zero) e após 270 dias de estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.

Condições de estocagem	Teor inicial ($\mu\text{g}/100\text{g}$)²	Teor após 270 dias de estocagem ($\mu\text{g}/100\text{g}$)²
5 °C	15,12 \pm 1,22 a	5,84 \pm 0,91 a
30 °C (exposta à luz)	15,12 \pm 1,22 a	7,71 \pm 1,35 a
30 °C (sem exposição à luz)	15,12 \pm 1,22 a	9,16 \pm 0,48 a

¹Média e desvio-padrão de três amostras

²Médias de teores de β -caroteno seguidas de letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si, estatisticamente, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

Tabela 10. Teores médios de β -caroteno¹ da goiabada, durante a estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.

Tempo de estocagem (em dias)	Teor ($\mu\text{g}/100\text{g}$) ²		
	5° C	30° C na presença de luz	30° C na ausência de luz
0	15,12 \pm 1,22 a	15,12 \pm 1,22 a	15,12 \pm 1,22 a
4	10,59 \pm 1,18 b	7,99 \pm 3,46 b	11,49 \pm 2,83 b
14	9,72 \pm 0,94 b	9,48 \pm 2,69 b	9,70 \pm 0,91 b
30	9,99 \pm 0,79 b	8,43 \pm 2,56 b	10,34 \pm 0,95 b
60	7,02 \pm 1,56 b	8,78 \pm a0,7b	9,39 \pm 1,67 b
90	9,46 \pm 0,22 b	8,87 \pm 2,07 b	6,48 \pm 2,53 b
150	7,84 \pm 2,45 b	6,43 \pm 2,70 b	6,79 \pm 1,15 b
210	7,40 \pm 1,36 b	5,56 \pm 1,19 b	8,56 \pm 1,53 b
270	5,84 \pm 0,91 c	7,71 \pm 1,35 c	9,16 \pm 0,48 c

¹Média e desvio-padrão de três amostras

²Médias de teores de β -caroteno seguidas de letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si, estatisticamente, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

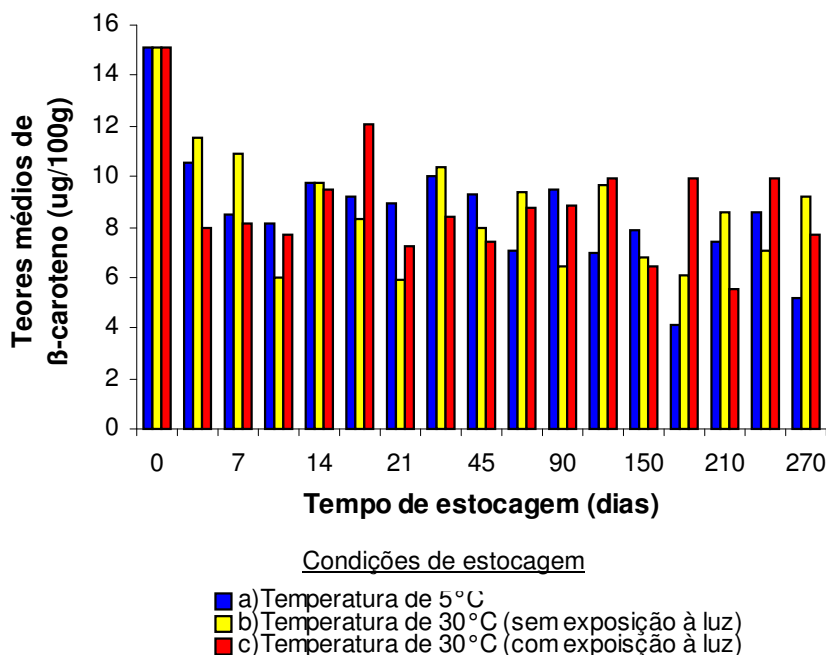


Figura 12 Avaliação do comportamento do β -caroteno, durante 270 dias, em goiabada submetida a diferentes condições de estocagem

Após 270 dias, a condição de estocagem que proporcionou maior degradação de β -caroteno foi a 5°C (61%), seguida de 30°C na presença de luz (49%) e 30°C na ausência de luz (45%) (Figura13). Resultados semelhantes foram encontrados por VALDAN e MUMMERY (1981), citados por Rodriguez-Amaya (1997), em purê de laranja, onde a concentração de β -caroteno apresentou perda maior durante o armazenamento a 10°C (44%), do que na estocagem a 21°C(11%).

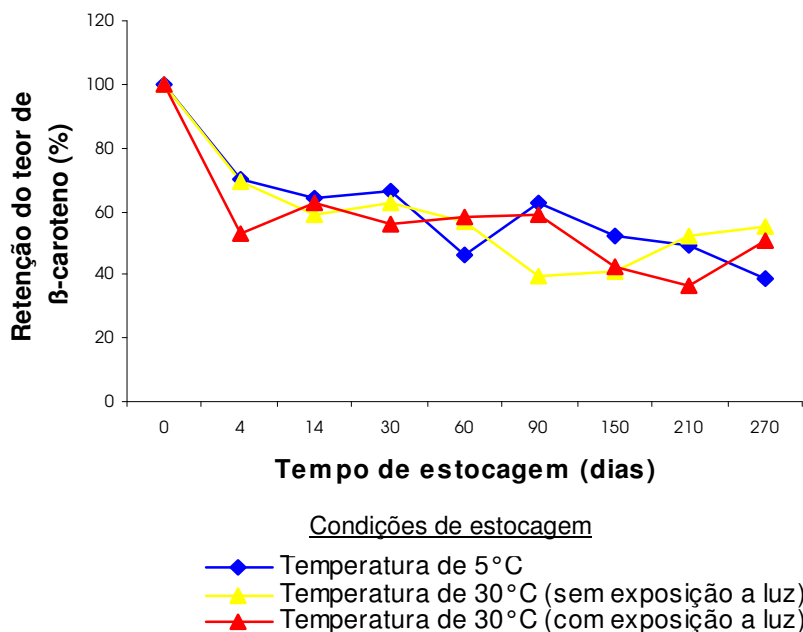


Figura 13. Porcentagem de retenção de β -caroteno da goiabada, submetida a diferentes condições de armazenamento (5°C, 30°C com e sem exposição à luz), por 270 dias.

Entretanto, os resultados diferem um pouco dos encontrados por AGOSTINI-COSTA et al. (2003) para polpas congeladas de acerola em freezer

doméstico, por 11 meses. O teor de beta não apresentou alteração significativa até o terceiro mês de estocagem. A partir do quarto mês a redução foi de 20% (5% de significância - Tukey) e a perda total foi de 26% (AGOSTINI-COSTA et al., 2003).

Por outro lado, LIN e CHEN (2005) estudando a estabilidade dos carotenóides no suco de tomate, aquecido a 121°C por 40 segundos e estocados na ausência e na presença de luz (10 W) a 4, 25 e 35°C, por 12 semanas, verificaram que o teor inicial de β -caroteno foi de 6 $\mu\text{g/g}$, para as três temperaturas. Na estocagem em ausência de luz, depois do armazenamento de 12 semanas a 4, 25 e 35 °C, os níveis de β -caroteno diminuíram para 4,69 $\mu\text{g/g}$ (78,2%), 4,87 $\mu\text{g/g}$ (81,2%) e 5,71 $\mu\text{g/g}$ (95,2%), respectivamente, resultando um teor final de 1,31, 1,13, e 0,30 $\mu\text{g/g}$, nas condições citadas. Sob luz, os *all-trans*- β -caroteno foram totalmente degradados a 35°C; 94,7 e 91,7% foram as perdas a 4 e à 25°C, respectivamente. No presente trabalho os níveis de β -caroteno degradaram significativamente ($p \leq 0,05$) no 4° dia de estocagem, e mesmo as goiabadas mantidas em presença da luz não tiveram o teor desse carotenóide degradado totalmente.

Não foram observadas diferenças significativas dos teores de β -caroteno devido às condições de estocagem, mas observou-se, após os 4 primeiros dias, uma redução de 30, 30 e 47%, para a goiabadas armazenadas a 5°C, 30°C na ausência de luz e 30°C na presença de luz; depois disso as perdas foram praticamente constantes na temperatura de 30°C (45 e 49% para as estocagens em ausência e presença de luz, respectivamente) (Figura13). Resultados semelhantes, para os teores de β -caroteno foram verificados, em goiaba liofilizada, armazenada em vidro

âmbar, por um período de 18 meses a 35°C, onde as maiores perdas ocorreram nos 6 primeiros meses, e depois se mantiveram praticamente constantes, quase nulas, até o final do período de estocagem, totalizando 52% (NOGUEIRA et al., 1978).

5.6. Efeito da estocagem por 270 dias sobre o teor de *cis*- β -caroteno da goiabada

O teor médio inicial de *cis*- β -caroteno encontrado para todas as goiabadas foi 3,93 $\mu\text{g}/100\text{g}$; os teores finais foram, nas goiabadas armazenadas a 5°C e a 30°C (com e sem exposição à luz), respectivamente de 1,95; 1,57; 2,23 $\mu\text{g}/100\text{g}$. Estes teores apresentaram diferenças significativas devido às diferentes condições de armazenamento (Tabela 11 e Figura 14). As goiabadas armazenadas a 5°C e a 30°C sem exposição à luz, apresentaram teores de *cis*- β -caroteno, significativamente, maiores do que a goiabada armazenada a 30°C, com exposição à luz. Os teores de *cis*- β -caroteno da goiabada armazenada a 5°C e a 30°C, sem exposição à luz, também diferiram significativamente entre si, sendo que a 30°C o teor foi maior.

Os teores iniciais de *cis*- β -caroteno diferiram significativamente dos teores dos demais tempos de estocagem (Tabela 12 e Figura 14). A influência do tempo de armazenamento foi significativa ($p < 0,05$) a partir no 7º dia de estocagem, resultando em pequena taxa de degradação após esse período, tornando-se, praticamente, nula até o final de 270 dias. A partir do 7º dia e até o final do período

de armazenamento, os teores de *cis*- β -caroteno da goiabada não apresentaram diferenças estatísticas entre si

Tabela 11. Teores médios de *cis*- β -caroteno¹ da goiabada, no tempo 0 (zero) e após 270 dias de estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.

Condições de estocagem	Teor inicial ($\mu\text{g}/100\text{g}$) ²	Teor após 270 dias de estocagem ($\mu\text{g}/100\text{g}$) ²
5 °C	3,93 \pm 0,88 a	1,95 \pm 0,05 a
30 °C (exposta à luz)	3,93 \pm 0,88 a	1,57 \pm 0,53 b
30 °C (sem exposição à luz)	3,93 \pm 0,88 a	2,23 \pm 0,47 a

¹Média e desvio-padrão de três amostras

²Médias de teores de *cis*- β -caroteno seguidas de letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si, estatisticamente, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey

Tabela 12. Teores médios de *cis*- β -caroteno¹ da goiabada, durante a estocagem, sob diferentes condições de armazenamento.

Tempo de estocagem (em dias)	Teor ($\mu\text{g}/100\text{g}$) ²		
	5° C	30° C na presença de luz	30° C na ausência de luz
0	3,93 \pm 0,88 a	3,93 \pm 0,88 a	3,93 \pm 0,88 a
7	2,82 \pm 0,58 b	2,08 \pm 0,75 b	2,95 \pm 0,62 b
14	2,90 \pm 0,25 b	1,62 \pm 0,49 b	2,33 \pm 0,29 b
30	2,91 \pm 0,20 b	1,67 \pm 0,85 b	2,52 \pm 0,77 b
60	2,48 \pm 0,77 b	1,40 \pm 0,11 b	2,18 \pm 0,72 b
90	3,30 \pm 0,32 b	2,01 \pm 0,21 b	2,00 \pm 0,73 b
150	2,26 \pm 0,69 b	1,04 \pm 0,17 b	2,09 \pm 0,53 b
210	2,59 \pm 0,51 b	1,06 \pm 0,25 b	2,82 \pm 0,40 b
270	1,95 \pm 0,05 b	1,57 \pm 0,53 b	2,23 \pm 0,47 b

¹Média e desvio-padrão de três amostras

²Médias de teores de *cis*- β -caroteno seguidas de letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si, estatisticamente, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey

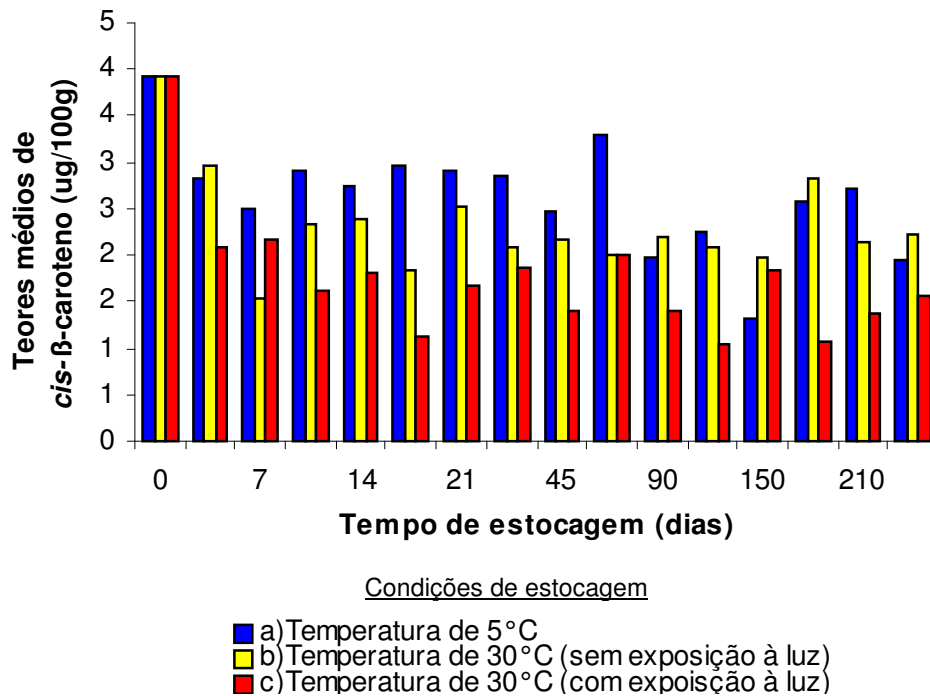


Figura 14. Avaliação do comportamento do *cis*- β -caroteno, durante 270 dias, em goiabada submetida a diferentes condições de estocagem.

Neste trabalho não foi verificada a formação de isômero *cis*- β -caroteno durante a estocagem, em nenhuma das condições de armazenamento; ocorreu porém, degradação dos isômeros formados; é importante notar que, na temperatura de 30°C, sem presença de luz, ocorreu a menor degradação e, em exposição à luz, a maior degradação. LIN e CHEN (2005) observaram resultados semelhantes para os isômeros do beta caroteno, no suco de tomate, aquecido a 121°C, por 40 segundos e estocados na ausência e na presença de luz (10 W) por 12 semanas. Na estocagem em ausência de luz, depois do armazenamento de 12 semanas, ocorreram formações de isômeros, em todas as temperaturas de

armazenamento. Sob luz, houve a formação de alguns isômeros que depois foram degradados.

Os resultados encontrados no presente trabalho corroboram alguns dados encontrados na literatura e divergem de outros. No entanto, nenhum dos estudos mencionados utilizou as mesmas condições de estocagem, e nem o mesmo produto, no caso, a goiabada. Os trabalhos citados utilizaram condições parecidas, e em geral produtos de tomate. Os dados obtidos concordam com uma afirmação de PADULA e RODRIGUEZ-AMAYA (1986), em que diferentes tipos de carotenóides podem apresentar diferentes rotas e/ou velocidades de degradação.

6. CONCLUSÕES

Os teores de acidez total titulável e sólidos totais solúveis da goiabada não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$), quanto às condições de estocagem (5°C , 30°C na presença e ausência de luz) e o tempo de armazenamento, e não influenciaram a degradação do ácido ascórbico.

A goiabada apresentou um decréscimo do teor de ácido ascórbico em função do tempo de armazenagem, caracterizando uma cinética de degradação de 1ª ordem. A maior velocidade ocorreu naquela estocada a 30°C e a presença de luz, seguida da estocada na ausência de luz e, daquela armazenada a 5°C .

O teor de ácido ascórbico encontrado foi, significativamente maior ($p \leq 0,05$) na goiabada armazenada, à temperatura de 5°C em relação às outras duas condições de estocagem. A goiabada estocada a 30°C em presença de luz foi a que apresentou o menor teor de ácido ascórbico, após 270 dias de armazenamento.

As taxas de retenção do ácido ascórbico encontradas foram de 69% para a goiabada armazenada a 5°C , 57% para a estocada a 30°C e ausência de luz, e 46% na goiabada exposta à luz, após os 270 dias.

Os carotenóides majoritários encontrados na goiabada foram o licopeno e o β -caroteno.

O teor de licopeno diminuiu ao longo do tempo de estocagem (270 dias). A maior retenção (16,1%) ocorreu na goiabada estocada a 30°C e ausência de luz.

Nas condições de 30°C e presença de luz e a 5°C, as retenções foram semelhantes, 11,9 e 10,6%, respectivamente.

Após 270 dias de armazenamento, a concentração de licopeno da goiabada estocada a 30°C na ausência de luz, revelou-se significativamente maior ($p < 0,05$) que daquela mantida a 5°C. Embora o valor encontrado fosse maior, não diferiu significativamente daquela estocada a 30°C e presença de luz. Para as condições 30°C e presença de luz e a 5°C não houve diferença significativa entre os teores de licopeno.

No caso do carotenóide *all-trans*- β -caroteno, ocorreram diferenças significativas ($p < 0,05$), a partir do 4º dia e no 270º dia de estocagem, em relação ao seu teor inicial, porém, durante esse período, os teores não diferiram entre si estatisticamente. A maior degradação ocorreu na goiabada armazenada à temperatura de 5°C (61%), seguida do doce estocado a 30°C e presença de luz (49%), e na ausência de luz (45%). Em relação aos teores de β -caroteno, após 270 dias de estocagem, não foram verificadas diferenças significativas.

O *cis*- β -caroteno apresentou um comportamento diferente do β -caroteno, revelando diferenças significativas, dependendo das condições de estocagem. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os teores das goiabadas armazenadas nas três condições sendo que, na goiabada estocada a 30°C na presença de luz, o teor foi significativamente menor do que nas estocadas a 5°C e a 30° na ausência de luz. Quanto ao tempo de estocagem ocorreu diferença significativa a partir do 7º dia de avaliação, sendo que os demais períodos não apresentaram diferenças estatísticas entre si, ocorrendo diferenças, apenas, com relação ao teor inicial.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINI-COSTA, T. S.; ABREU, L. N.; ROSSETI, A. G. Efeito do congelamento e do tempo de estocagem da polpa de acerola sobre o teor de carotenóides. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 25, n.1, p. 56-58, 2003.

AGRIANUAL, 2006. **Anuário estatístico da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP, CONSULTORIA & AGROINFORMATIVOS, 2006. p. 329-332.

AGRAWAL, R.; PARIHAR, P.; MANDHYAN, B. L.; JAIN, D. K. Physical-chemical during ripening of guava fruit (*Psidium guajava* L.). **J. Food Sci. Technol.**, v.39, n.1, p. 94-95, 2002.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. AOAC. **Official methods of analysis**, 15th. ed. Washington, D. C., 1990.

AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. **BioEstat 4.0 – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém: Sociedade Civil Mamirauá/ MCT/ Imprensa Oficial do estado do Pará, cap.6, 2005, p. 39-53.

BENASSI, M. T. Análise dos efeitos de diferentes parâmetros na estabilidade de vitamina C em vegetais processados. 1990. 159f. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1990.

BONONI, M.; COMMISSATI, I.; LUBIAN, E; FOSSATI, A.; TATEO, F. A simplified method for the HPLC resolution of α -caroteno and β -caroteno (*trans* and *cis*) isomers. **Anal. Bional. Chem.** n. 372, p. 401-403, 2002.

BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, R. H. **Carotenoids: isolation analysis**. Basel: Birkhauser, v. 1A, 1995, 187p.

BRUNINI, M. A.; OLIVEIRA, A. L.; VARANDA, D. L. Avaliação da qualidade de polpa de goiaba ' Paluma' armazenada a 20°C. **Rev. Bras. Frutic.** Jaboticabal: v. 25, n. 3, p. 394-396, 2003.

BURRI, B. J. Lycopene and human health. In: MESKIN, BIDLACK, W. R., M. S., DAVIES, A. J., and OMAE, S. T. **Phytonutrients in health and disease**. CRC Press; Boca Raton, Capter 11, p. 157-172, 2002.

CALLIGARIS, S.; FALCONE, P.; ANESE, M. Color changes of tomato purees during storage at freezing temperatures. **J. Food Sci.** v. 67, n. 6, 2002.

CEASA CAMPINAS. **Goiaba**. Disponível em: <http://www.ceasacampinas.com.br/padronização_goiaba.htm> Acesso em 12/02/2006.

CHEN, B. H.; CHEN, T. M.; CHIEN, J. T. Kinetic model for studying isomerization of α e β -carotene during heating and illumination. **J. Agric. Food Chem.** v. 42, p. 2391-2397, 1994.

CRFG. **Tropical guava**. Disponível em: <<http://www.crfg.org>> Acesso em 06/01/2006.

DE MARTIN, Z.; CIA, G.; TEIXEIRA, C. G.; ANGELUCCI, E.; LEITÃO, M. F. F.; BLEINROTH, E. W.; TOSELO, Y. Industrialização da polpa de goiaba da variedade vermelha. **Coletân. Instit. Tecnol. Alim**, v. 6, p.11-36, 1975.

ESCOBAR, A. P. **Efeito do processo de obtenção de polpa de goiaba e de goiabada sobre os teores de licopeno e de α -caroteno**. 2006. 65f. Dissertação (Mestrado). – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

GARDNER, P. T.; WHITE, D. B. M.; GARRY, G. D.. The relative contributions of vitamin C, carotenoids of phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. **Food Chem.**, v. 68, p. 471-474, 2000.

GIANNAKOUROU, M. C.; TAOUKIS, P. S. Kinetic modelling of vitamin C loss in frozen greens vegetables under variable storage conditions. **Food Chem.** v. 83, p. 33-41, 2003.

GIOVANELLI, G.; PARADISO, A. Stability of dried and intermediate moisture tomato pulp during storage. **J. Agric. Food Chem.** v. 50, p. 7277-7281, 2002.

HALLIWELL, B. Review: vitamin C and genomic stability. **Mutation Res.** v. 475, p.29-15, 2001.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. IEA. São Paulo, 2005. Disponível em: <<http://www.iaea.sp.gov.br>> Acesso em 20 fev. 2006.

JAWAHEER, B.; GOBURDHUN, D.; RUGGOO, A. Effect of processing and storage of guava into jam and juice on the ascorbic acid content. **Plant Foods Hum. Nutr.**, v. 58, p. 1-12, 2003.

KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food Chem.**, v. 78, n. 3, p. 389-398, 2002.

LEE, M. T.; CHEN, B. H. Separation of lycopene and its *cis* isomers by liquid chromatography. **Chrom.** v. 54, p. 613-617, 2001.

LEE, M. T.; CHEN, B. H. Stability of lycopene during heating and illumination in a model system. **Food Chem.** v. 78, p. 425-432, 2002.

LESSIN, W. J.; CATIGANI, G. L.; SCHWARTZ, S. J. Quantification of *cis-trans* isomers of provitamin A carotenoids in fresh and processed fruits and vegetables. **J. Agric. Food Chem.** n. 45, p. 3728-3732, 1997.

LIN, C. H.; CHEN, B. H. Determination of carotenoids in tomato juice by liquid chromatography. **J. Chromatogr. A**, n. 1012, p. 103-109, 2003.

LIN, C. H.; CHEN, B. H. Stability of carotenoids in tomato juice during storage. **Food Chem.** v. 90, p. 837-846, 2005.

LOVRIC, B.; SABLEK, Z.; BOSKOVIC, M. *Cis-trans* isomerization of lycopene and colour stability of roam foam-mat dried tomato powder during storage. **J. Sci. Food Agric.** vol.21, December, p. 641-647, 1970.

MANSO, M. C.; OLIVEIRA, F. A. R.; OLIVEIRA, J. C.; FRÍAS, J. M. Modelling ascorbic acid thermal degradation and browning in orange juice under aerobic conditions. **Int. J. Food Sci. Tech.**, v. 36, p. 303-312, 2001.

MATITIUZ, B. H.; DURIGAN, J. F.; ROSSI JUNIOR, O.D. Processamento mínimo em goiabas “Paluma” e “Pedro Sato”. 2- Avaliação química sensorial e microbiológica. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.23, p.409-413, 2003.

MEDEIROS, E. Licopeno, luteína, e zeaxantina: mais do que potentes antioxidantes. **Adit. Ingr.** n. 24, p. 49 – 54, 2003.

MELLO, M. C. **Flores e microalgas como fontes alternativas de carotenóides.** 2002. 113f. Tese (Doutorado). - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

MERCADANTE, A Z. Chromatographic separation of carotenoids. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 49, n. 1, p. 52-57, 1999.

MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUEZ AMAYA, D. Confirmação da identidade da α -criptoxantina e da incidência de carotenóides minoritários e pró-vitamínicos A em verduras folhosas verdes. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.21, n.2, p.216-222, 2001.

MERCADANTE, A. Z.; STECK, A. PFANDER, H. Carotenoids from guava (*Psidium guajava* L.): isolation and struture elucidation. **J. Agric. Food Chem.**, n. 47, p. 145-151, 1999.

MILANESIO, M.; BIANCHI, R.; UGLIENGO, P.; ROETTI, C.; VITERBO, D. Vitamin C at 120 K: experimental and theoretical study of the charge density. **J. Mol. Struct.** (Theochem) v.419, p. 139-154, 1997.

MÍNGUEZ-MOSQUERA, M. I.; HONERO, D. Analysing changes in fruit pigments. In : MAC DOUGALL, D. (Ed.). **Colour in food: improving quality**, 2002. 378p.

MOSER, U.; BENDICH, A. Vitamin. In: Machilin, Lawrence J. **Handbook of vitamins**. 2nd. Ed. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 195-232.

NAGY, S. Vitamin C contents of citrus fruit and their products: **A review J. Agric. Food Chem.** v. 28, p.8-18, 1980.

NGUYEN, M.; FRANCIS, D.; SCHWARTZ, S. Thermal isomerization susceptibility of carotenoids in different tomato varieties. **J. Sci. Food Agric.** n. 81, p. 910-917, 2001.

NOGUEIRA, J. N.; SOYBIHE SOBRINHO, J.; VENSICOVSKY, R; FONSECA, H. Efeito do armazenamento nos teores de ácido ascórbico e beta-caroteno em goiaba liofilizada. **Arch. Latinoam. Nutr.** v. 28, n. 4, p. 363-377, dez. 1978.
OLIVER, J.; PALOU, A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. **J. Chromatogr. A.** v. 881, n. 1-2, p. 543-555, 2000.

PADULA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Characterization of the carotenoids and assessment of the vitamin A value of brazilian guavas (*Psidium guajava* L.). **Food Chem.** n. 20, p. 11-19, 1986.

PADULA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B; MORAES, M. A. C. Comparison of the carotenoid composition and general properties of the processed juice cultivar IAC-4 and commercial juices. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v. 3, n. 2, p. 109-116, 1983.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed, and stored foods.** Arlington: John Snow Inc./OMNI Project, 1997. 88p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in food.** Washington, DC: OMNI Research, 1999. 64p.

ROJAS, A. M.; GERSCHENSON, L. N. Ascorbic acid destruction in sweet aqueous model systems. **Lebensm. - Wiss. U. - Technol.** v. 30, p. 567-572, 1997.

SEAGRI. **Cultura goiaba.** Disponível em: <www.seagri.ba.gov.br/goiba.htm> Acesso em 02 de fev. 2006.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Lycopene as an antioxidant agent. **Rev. Nutr.** v.17 n.2, 2004.

SHARMA, S. K.; LE MAGUER, M. Kinetics of lycopene degradation in tomato pulp solids under different processing and storage conditions. **Food Res. Internat.**, v. 29, n. 3-4, p. 309-315, 1996.

SHAW, P.E.; NAGY, S.; ROUSEFF, R. L. The shelf life of citrus products. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed). **Shelf life studies of food and beverages:** chemical, biological, physical and nutritional aspects. Amsterdam: Elsevier, 1993. p. 755-778.

SHI, J; LE MAGUER, M.; KAKUDA, Y.; LIPTAY, A.; NIEKAMP, F. Lycopene degradation and isomeration in tomato dehydration. **Food Res. Intern.**, v. 32, p. 15-21, 1999.

SHI, J.; LE MAGUER, M. Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. **Crit. Rev. Biotech.** v. 4, n. 20, p. 293-334, 2000.

STAHL, W.; SIES, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. **Bioch. Bioph. Acta.** n. 1740, p. 101-107, 2005.

TAVARES, C. A.; RODRIGUES-AMAYA, D. Carotenoid composition of Brazilian tomatoes and tomato products. **Lebensm. - Wiss.U. - Technol.**, n. 27, p.219-224, 1994.

TODA FRUTA. **Goiaba**. Disponível em: <www.ceasacampinas.com.br/padronizacao_goiaba.htm> Acesso em 12/02/2006.

UDDIN, M. S.; HAWLADER, M. N. A. ; DING, L.; MUJUMDAR, A. S. Degradation of ascorbic acid in dried guava during storage. **J. Food Engin.**, n. 51, p. 21-26, 2002.

VIEIRA, M. C.; TEIXEIRA, A. A.; SILVA, C. L. Mathematical modeling of the thermal degradation kinetics of vitamin C in cupuaçu (*Teobroma grandiflorum*) néctar. **J. Food. Eng.**, v. 43, p. 1-7, 2000.

WAWRZYNIAK, A. The role of lycopene in the human organism: an update - a review. **Pol. J. Food Nutr. Sci.**, v. 11/52, n.4, p. 3-12, 2002.

WILBERG, V. C.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. HPLC quantitation of major carotenoids of fresh and processed guava, mango, and papaya. **Lebensm. - Wiss. U. - Technol.**, v. 28, p. 474-480, 1995.

YAMASHITA, F.; BENASSI, M. T. Influência da embalagem de atmosfera modificada e do tratamento com cálcio na cinética de degradação de ácido ascórbico e perda de massa em goiabas (*Psidium guajava* L.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.20, n. 1, p. 27-31, jan./abr. 2000.

YUONG, A. J.; LOWE, G. M. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. **Arch. Biochem. Bioph.** v. 385, n. 1, p. 20-27, jan. 2001.

YUSOF, S.; CHIONG, L. K. Effects of brix, processing techniques and storage temperature on the quality of carambola fruit cordial. **Food Chem.**, Grã Bretanha, v. 59, n. 1, p. 27-32, 1997.

ZECHMEISTER, L. *Cis-trans* isomerization and stereichemistry of carotenoids and diphenylpolyenes. **Chem. Rev.**, v. 34, n. 2, p. 267-344, 1944.