

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO

JULIA MARIANO CAJU DE OLIVEIRA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E POTENCIAL FUNCIONAL
DE BEBIDA MISTA DESENVOLVIDA COM XIQUE-XIQUE
(Pilosocereus gounellei) E **MARACUJÁ** *(Passiflora edulis)*

JOÃO PESSOA

2021

JULIA MARIANO CAJU DE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E POTENCIAL FUNCIONAL DE BEBIDA
MISTA DESENVOLVIDA COM SUCO DE XIQUE-XIQUE (*Pilosocereus gounellei*) E
MARACUJÁ (*Passiflora edulis*)**

JOÃO PESSOA

2021

JULIA MARIANO CAJU DE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E POTENCIAL FUNCIONAL DE BEBIDA
MISTA DESENVOLVIDA COM SUCO DE XIQUE-XIQUE (*Pilosocereus gounellei*) E
MARACUJÁ (*Passiflora edulis*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Nutrição.

Linha de Pesquisa: Análise e Controle de Qualidade em Alimentos.

Orientadora: Prof^ª Dra. Maria Elieidy Gomes de Oliveira.

João Pessoa

2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

O48c Oliveira, Julia Mariano Caju de.

Caracterização físico-química e potencial funcional de bebida mista desenvolvida com xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) e maracujá (*Passiflora edulis*) / Julia Mariano Caju de Oliveira. - João Pessoa, 2021.
76 f. : il.

Orientação: Maria Elieidy Gomes de Oliveira.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Cactácea. 2. Nutrição. 3. *Pilosocereus*. 4. Bebida funcional. 5. Parâmetros físico-químicos. 6. Compostos bioativos. 7. Atividade antioxidante. I. Oliveira, Maria Elieidy Gomes de. II. Título.

UFPB/BC

CDU 582.852:612.3

JULIA MARIANO CAJU DE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E POTENCIAL FUNCIONAL DE BEBIDA
MISTA DESENVOLVIDA COM SUCO DE XIQUE-XIQUE (*Pilosocereus gounellei*) E
MARACUJÁ (*Passiflora edulis*)**

Dissertação aprovada em 12 de maio de 2021.

BANCA EXAMINADORA



Profª Dra. Maria Eliedy Gomes de Oliveira (DN/CCS/UFPB)

Orientadora

Presidente da Banca examinadora



Prof. Dr. Evandro Leite de Souza (DN/CCS/UFPB)

Examinador interno



Profª Dra. Vanessa Bordin Viera (UAS/CES/UFCG)

Examinadora externa

Profª Dra. Jailane de Souza Aquino (DN/CCS/UFPB)

Examinadora suplente interna

Profª Dra. Estefânia Fernandes Garcia (DG/CTDR/UFPB)

Examinadora suplente externa

Aos meus pais, pelo apoio e amor incondicional.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Universo, que me guiou até aqui e permitiu que tudo acontecesse como deveria.

À minha família, meus pais Maria do Socorro e Nobilino, e meu irmão Ramon Lucas, que são minha inspiração e a motivação para tudo que faço e tudo que quero conquistar. Obrigada pelo apoio incondicional e por me encorajarem a seguir o que quero. Amo-os profundamente.

Ao meu amor, Kaíque Yago, que me ajudou em todos os momentos possíveis, de todas as maneiras imagináveis. Sem ele não sei como teria conseguido. Obrigada por estar sempre comigo, por segurar minha mão ao longo de todo processo e, principalmente, por me fazer feliz.

À Professora Maria Elieidy, minha Orientadora em todos os sentidos, que tive a sorte de escolher na graduação e que espero poder levar para o resto da vida. És uma das minhas maiores inspirações. Suas mensagens, mesmo em tempos desesperadores, sempre me trouxeram conforto e esperança. Obrigada por sempre me guiar com paciência e carinho, que foi o que me permitiu chegar até aqui.

À Professora Rita de Cássia Queiroga, a primeira idealizadora deste trabalho, apaixonada pelo xique-xique e pela pesquisa. Sem ela, esse estudo definitivamente não teria acontecido. Independente do plano em que se encontre, seja material ou espiritual, viverá eternamente através dos seus ensinamentos, que vão muito além das pesquisas acadêmicas.

À professora Dra. Vanessa Bordin Viera, do Laboratório de Bromatologia de Alimentos da UFCG, Campus de Cuité/PB, pela disponibilidade e cuidado nas relevantes contribuições feitas para a melhoria deste trabalho, assim como na realização das análises de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, carotenoides totais e atividade antioxidante.

Ao professor Dr. Evandro Leite de Souza pela disponibilidade, atenção e contribuições valiosíssimas que me permitiram aprimorar este trabalho e escrita do artigo científico.

Ao professor Dr. Marcos dos Santos Lima, do Instituto Federal do Sertão de Pernambuco em Petrolina-PE, pela condução das análises cromatográficas.

Aos técnicos do Laboratório de Bromatologia, em especial Cecília e Patrícia, pela disponibilidade e auxílio nas análises realizadas.

À Ana Cristina e Aryane, pelo auxílio assim como pela companhia durante as análises.

Às amigas que o Mestrado me proporcionou, Karina, Karine, Larissa e Naís, que me acompanharam nessa trajetória e me ajudaram em momentos críticos, descascando xique-xique comigo em meio à pandemia. Serei sempre grata.

À Maria Isabel, que também esteve presente nos momentos em que mais precisei. Obrigada pela força e pela amizade.

Aos meus amigos e amigas, Karol, Nayana, Gabriella, Ingryd, Carol, João Jorge, Helcius, Letícia, Gio, entre muitos outros, que mesmo impedidos de nos vermos pessoalmente neste último ano, sempre se fizeram presentes e foram fontes de alegria e apoio nos momentos difíceis.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição/UFPB, em especial ao corpo docente, pelos ensinamentos e pela oportunidade da realização do mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro e concessão da bolsa de pesquisa.

A todos que de alguma forma contribuíram direta ou indiretamente com a realização desse trabalho e que me apoiaram durante essa trajetória, deixo meus agradecimentos.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo caracterizar parâmetros físico-químicos e avaliar o potencial funcional de bebidas mistas desenvolvidas com xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) e maracujá (*Passiflora edulis*). Quatro formulações foram elaboradas utilizando proporções diferentes de sucos de xique-xique e de maracujá, além de suco de limão (15%) e mel de engenho (5%), adicionados em quantidades iguais para todas as formulações, sendo: BC (bebida controle, sem adição de suco de xique-xique e com 80% de suco de maracujá), B30 (30% de suco de xique-xique e 50% de suco de maracujá), B40 (40% de suco de xique-xique e 40% de suco de maracujá) e B50 (50% de suco de xique-xique e 30% de suco de maracujá). Os produtos desenvolvidos foram submetidos a análises físicas e físico-químicas (incluindo perfil de açúcares e de ácidos orgânicos), determinação do teor de carotenoides totais, flavonoides totais, compostos fenólicos totais, atividade antioxidante total (ABTS e FRAP) e determinação do perfil de compostos fenólicos ao longo de 21 dias de armazenamento refrigerado (4 ± 1 °C). O pH diminuiu e a acidez titulável aumentou significativamente ao longo do tempo de armazenamento para a maioria das formulações ($p < 0,05$). As bebidas contendo suco de xique-xique apresentaram-se significativamente menos ácidas (7,90 - 10,97 g/100 mL) quando comparadas à formulação BC (11,66 - 12,76 g/100 mL), além de apresentarem teores mais elevados de cinzas totais, com destaque para B50 e B40, que exibiram os maiores valores dentre as formulações (0,30 - 0,47 g/100 mL). BC apresentou teores médios mais elevados de sólidos solúveis totais (7,40 - 8,00 °Brix) e açúcares totais (9,10 - 10,7 g/100 mL) ($p < 0,05$). Também foi observado aumento nos valores desses parâmetros na maioria das formulações no último dia de armazenamento ($p < 0,05$). Em relação aos ácidos orgânicos, o ácido cítrico foi o ácido identificado em maiores concentrações em todas as bebidas, sendo que BC apresentou teores significativamente superiores (0,97 - 1,12 g/100 mL) quando comparada às demais formulações. Para o perfil de compostos fenólicos, CB e B30 apresentaram maior conteúdo de ácido sirínico, epicatequina e epicatequina galato, enquanto B50 apresentou maiores teores de procianidina A2, quando comparado às demais bebidas ($p < 0,05$). As bebidas formuladas com suco de xique-xique em geral apresentaram melhores quantidades dos compostos bioativos pesquisados e maior atividade antioxidante quando comparadas à BC; com destaque para B50, que apresentou maiores valores de carotenoides totais (51,51 - 59,27 µg/100 mL), flavonoides totais (1,39 - 2,15 mg CE/100 mL) e compostos fenólicos totais (68,49 - 115,66 mg EGA/100 mL), como também para a atividade antioxidante pelos métodos ABTS (0,71 - 0,84 µmol Trolox/mL) e FRAP (0,33 - 0,39 µmol Trolox/mL). Os compostos fenólicos totais, flavonoides totais, carotenoides totais e a atividade antioxidante (ABTS e FRAP) reduziram significativamente após 21 dias de armazenamento para todas as formulações ($p < 0,05$). Esses resultados indicam que a adição do suco de xique-xique nas bebidas mistas potencializou suas propriedades bioativas, sobretudo de compostos com propriedades antioxidantes, trazendo a opção de um novo produto para a indústria de bebidas funcionais.

Palavras-chave: cactácea; *Pilosocereus*; bebida funcional; parâmetros físico-químicos; compostos bioativos; atividade antioxidante.

ABSTRACT

The present study aimed to characterize physical-chemical parameters and to evaluate the functional potential of mixed drinks developed with xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) and passion fruit (*Passiflora edulis*). Four formulations were prepared using different proportions of xique-xique and passion fruit juices, in addition to lemon juice (15%) and sugar cane syrup (5%), added in equal amounts for all formulations, being: BC (control beverage, without addition of xique-xique juice and with 80% of passion fruit juice), B30 (30% xique-xique juice and 50% passion fruit juice), B40 (40% xique-xique juice and 40% passion fruit juice) and B50 (50% xique-xique juice and 30% passion fruit juice). The developed products were submitted to physical and physical-chemical analysis (including sugar and organic acid profile), determination of total carotenoid content, total flavonoids, total phenolic compounds, total antioxidant activity (ABTS and FRAP) and determination of the phenolic compounds profile over 21 days of cold storage (4 ± 1 °C). The pH decreased and the titratable acidity increased significantly over the storage time for most formulations ($p < 0.05$). Beverages containing xique-xique juice were significantly less acidic (7.90 - 10.97 g/100 mL) when compared to BC formulation (11.66 - 12.76 g/100 mL), in addition to presenting higher total ash contents, with emphasis on B50 and B40, with the highest values among all formulations (0.30 - 0.47 g/100 mL). BC showed higher average levels of total soluble solids (7.40 - 8.00 °Brix) and total sugars (9.10 - 10.7 g/100 mL) ($p < 0.05$). An increase in these parameters values was also observed in most formulations on the last day of storage ($p < 0.05$). In relation to organic acids, citric acid was identified in higher concentrations in all beverages, with BC having significantly higher citric acid levels (0.97 - 1.12 g/100 mL) when compared to other formulations. For the phenolic compounds profile, CB and B30 had a higher content of syringic acid, epicatechin and epicatechin gallate, while B50 had higher levels of procyanidin A2, when compared to other beverages ($p < 0.05$). In general, beverages formulated with xique-xique juice showed better amounts of the researched bioactive compounds and greater antioxidant activity when compared to BC; with emphasis on B50, which presented higher values of total carotenoids (51.51 - 59.27 µg/100 mL), total flavonoids (1.39 - 2.15 mg EC/100 mL) and total phenolic compounds (68.49 - 115.66 mg EGA/100 mL), as well as for antioxidant activity by the ABTS (0.71 - 0.84 µmol Trolox/mL) and FRAP (0.33 - 0.39 µmol Trolox/mL) methods. Total phenolic compounds, total flavonoids, total carotenoids and antioxidant activity (ABTS and FRAP) reduced significantly after 21 days of storage for all formulations ($p < 0.05$). These results indicate that the addition of xique-xique juice to mixed drinks has enhanced its bioactive properties, especially of compounds with antioxidant properties, bringing the option of a new product for the functional beverage industry.

Keywords: cactus; *Pilosocereus*; functional beverage; physical-chemical parameters; bioactive compounds; antioxidant activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ILUSTRAÇÕES DA DISSERTAÇÃO

Figura 1 - Xique-xique (<i>Pilosocereus gounellei</i>).....	17
Figura 2 – Estrutura do xique-xique (<i>Pilosocereus gounellei</i>). (A) Planta; (B) cladódio cortado transversalmente com espinhos e casca; (C) e sem espinhos; (D) cladódio cortado longitudinalmente; (E) talo central; (F) e talo central fatiado.....	18
Figura 3 – Delineamento experimental do estudo.....	28
Figura 4 – Obtenção do suco a partir dos cladódios do xique-xique (<i>Pilosocereus gounellei</i>). (A) talo central e cladódio; (B) cladódio (polpa); (C) suco de xique-xique.....	30

ILUSTRAÇÕES DO ARTIGO

Figure 1. Bioactive compounds contents in beverages during 21 days of storage time at 4 °C. (A) Total phenolics compounds, (B) total flavonoids content and (C) total carotenoids content in four formulations. Error bars represent the standard deviation of the mean (n = 3). Different lowercase letters on the same storage time differ (p<0.05) among formulations and different uppercase letters on the same formulation differ (p<0.05) among storage times based on Tukey's test. CB – control beverage; B30 – beverage with 30% of xique-xique juice; B40 – beverage with 40% of xique-xique juice; B50 – beverage with 50% of xique-xique juice.....	70
Figure 2. Antioxidant activity in beverages during 21 days of storage at 4 °C by (A) ferric reducing antioxidant power (FRAP) in µmol Trolox/mL of sample and (B) ABTS radical cation scavenging activity in µmol Trolox equivalent/mL of sample. Error bars represent the standard deviation of the mean (n = 3). Different lowercase letters on the same storage time differ (p<0.05) among formulations and different uppercase letters on the same formulation differ (p<0.05) among storage times based on Tukey's test. CB – control beverage; B30 – beverage with 30% of xique-xique juice; B40 – beverage with 40% of xique-xique juice; B50 – beverage with 50% of xique-xique juice.....	71
Figure 3. Principal Component Analysis of total carotenoids, total flavonoids, total phenolic compounds and antioxidant activity (FRAP and ABTS) of formulated beverages (n = 3) at 1, 14 and 21 days of storage (T1, T14 and T21, respectively) at 4 °C. CB – control beverage; B30 – beverage with 30% of xique-xique juice; B40 – beverage with 40% of xique-xique juice; B50 – beverage with 50% of xique-xique juice.....	72

LISTA DE TABELAS

TABELAS DA DISSERTAÇÃO

Tabela 1 – Formulações de bebidas mistas elaboradas.....	30
---	----

TABELAS DO ARTIGO

Table 1. Formulation of beverages with xique-xique cladode, passion fruit and lime juices and sugar cane syrup.....	73
Table 2. Physical and physicochemical parameters (mean $\pm$ standard deviation) of formulated beverages during 21 days of refrigerated storage (4 °C).....	74
Table 3. Soluble sugars and organic acids content (mean $\pm$ standard deviation) of formulated beverages during 21 days of refrigerated storage (4 °C).....	75
Table 4. Phenolic compounds (mean $\pm$ standard deviation) identified in formulated beverages during 21 days of storage at 4 °C.....	76

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABTS	<i>2,2-azino-bis (3-etilbenzo-tiazoline)-6-sulfonic acid</i>
ACP	Análise de componentes principais
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
CCA	Centro de Ciências Agrárias
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CNNPA	Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos
DAD	<i>Diode array detector</i>
EAG	Equivalentes de ácido gálico
EC	Equivalente de catequina
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FRAP	<i>Ferric reducing ability of plasma</i>
HAT	<i>Hydrogen Atom Transfer</i>
PET	Polietileno tereftalato
PTFE	Politetrafluoretileno
RFC	Reagente de Folin-Ciocalteu
RID	<i>Refractive index detector</i>
SET	<i>Single electron transfer</i>
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
UFPB	Universidade Federal da Paraíba

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1 XIQUE-XIQUE (<i>Pilosocereus gounellei</i> A. Weber ex K. Schum. Bly. ex Rowl).....	17
2.2 BEBIDAS FUNCIONAIS.....	19
2.2.1 Maracujá (<i>Passiflora edulis</i> Sims f. <i>Flavicarpa</i> Deg).....	22
2.2.2 Limão (<i>Citrus latifolia</i> Tanaka).....	23
2.2.3 Melado de cana.....	24
2.3 COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	25
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	28
3.2 MATÉRIA-PRIMA.....	29
3.3 OBTENÇÃO DO SUCO DE XIQUE-XIQUE, MARACUJÁ E LIMÃO.....	29
3.4 PREPARO DA BEBIDA MISTA.....	30
3.5 CARACTERIZAÇÃO DAS BEBIDAS MISTAS.....	31
3.5.1 Características físicas e físico-químicas.....	31
3.5.2 Determinação do perfil de açúcares e ácidos orgânicos.....	31
3.5.3 Determinação de compostos bioativos.....	32
3.5.3.1 Obtenção do extrato.....	32
3.5.3.2 Conteúdo total de compostos fenólicos e flavonoides.....	32
3.5.3.3 Capacidade antioxidante equivalente a Trolox – ABTS ⁺	33
3.5.3.4 Capacidade Redutora de Ferro – FRAP.....	34
3.5.3.5 Conteúdo total de carotenoides.....	34
3.5.3.6 Determinação do perfil dos compostos fenólicos.....	34
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
REFERÊNCIAS.....	37
APÊNDICE A.....	45

1 INTRODUÇÃO

A busca por alimentos funcionais e sua difusão no mercado tem crescido cada vez mais, principalmente, devido a fatores que envolvem desde o aumento na incidência de doenças crônicas não transmissíveis até a crescente conscientização sobre a relação entre dieta e saúde por parte da população, levando a uma maior procura por alimentos mais saudáveis e com ingredientes naturais com capacidade de exercer propriedades bioativas benéficas aos consumidores (GRANATO et al., 2010; MONTEMURRO et al., 2021). Nesse contexto, a formulação de alimentos e bebidas com propriedades funcionais a partir de ingredientes naturais com funções fisiológicas específicas tem sido um dos principais focos de pesquisa e desenvolvimento na indústria de alimentos e bebidas (NAZIR et al., 2019).

Segundo relatório do Market Research (2018), é previsto o crescimento de aproximadamente 7,8% no mercado mundial de bebidas funcionais até o ano de 2022, sendo a categoria que mais cresce dentre os produtos com propriedades benéficas à saúde. Esse crescimento se dá tanto pela maior facilidade no transporte e armazenamento desses produtos, como pela maior possibilidade de incorporação de componentes e nutrientes bioativos, os quais irão conferir propriedades de funcionalidade e de saúde à bebida (KAUSAR et al., 2012).

Dentre os componentes mais utilizados no desenvolvimento de bebidas funcionais destacam-se as vitaminas, minerais, aminoácidos, ácidos graxos, fibras prebióticas, bactérias probióticas e compostos antioxidantes (BADER-UL-AIN et al., 2019). A busca pela inserção de aditivos e coadjuvantes de tecnologia mais naturais no processamento de produtos alimentícios tem impulsionado a execução de estudos que vislumbram a busca por matrizes não convencionais para a obtenção dos compostos supracitados e sua incorporação na elaboração de bebidas, a exemplo da utilização de frutas exóticas, plantas suculentas e cactáceas (GIRONÉS-VILAPLANA et al., 2012b; BACCOUCHE et al., 2013; MISHRA; SANGMA, 2017).

Uma espécie pertencente à família Cactaceae e ainda pouco explorada é o xique-xique (*Pilosocereus gounellei* A. Weber ex K. Schum. Bly. ex Rowl), a qual é endêmica da região da caatinga no Nordeste brasileiro (MACIEL et al., 2016). O xique-xique é amplamente utilizado pela população dessa região de diversas formas, inclusive na medicina popular, onde suas raízes, flores, frutas e cladódios são utilizados *in natura*, macerados ou na forma de sucos no tratamento de inflamações na uretra e próstata (ROQUE et al., 2010), constipação (LUCENA et al., 2015), gastrite (LUCENA et al., 2012), lesões e icterícia (ALBUQUERQUE et al., 2007).

Estudos realizados por Maciel et al. (2016) e Silva et al. (2018) já demonstraram a presença de componentes bioativos nessa espécie vegetal, como compostos fenólicos, flavonoides e betalaínas, principalmente, nos frutos e cladódios. Esses estudos demonstram ainda que a concentração dessas substâncias no xique-xique, sobretudo de compostos fenólicos, está correlacionada à sua alta capacidade antioxidante. Também tem sido relatada a presença de fibras solúveis e insolúveis no suco dos cladódios de xique-xique (ASSIS et al., 2019; RIBEIRO et al., 2020), tornando-o uma matéria-prima propícia para elaboração de alimentos com potencial funcional, a exemplo de bebidas vegetais.

Tendo em vista que, diferente dos frutos, a polpa dos cladódios do xique-xique não possui sabor pronunciado, a adição de ingredientes que conferem sabor na elaboração de bebidas utilizando esses cladódios possibilitaria uma melhora na sua aceitação sensorial. Nesse caso, a adição de frutas a fim de conferir sabor ao produto, entre outros atributos sensoriais, se torna uma opção viável para a indústria e consumidores, visto o crescente interesse do mercado por produtos à base de frutas, mostrando um aumento de mais de 5 vezes desde o ano de 2004 (FAO, 2017).

O limão (*Citrus latifolia* Tanaka) e o maracujá (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) são frutas amplamente utilizadas na elaboração de diversos produtos alimentícios, sendo bem aceitas pelos consumidores, além de serem fontes de vitaminas, minerais e componentes antioxidantes (KIELING; BARBOSA-CANÓVAS; PRUDENCIO, 2019; MONTEIRO et al., 2020). Estudos demonstram que a adição de combinações de frutas na formulação de bebidas pode proporcionar aspectos sensoriais e nutricionais melhores do que se fossem adicionadas isoladamente (MISHRA & SANGMA, 2017; MAIA et al., 2019).

A adição de açúcares é também um fator que contribui para melhorar a aceitação de alguns aspectos sensoriais, sobretudo do sabor, e, quando dada a preferência aos açúcares menos processados, podem ainda agregar valor nutricional e funcional ao produto (GONZALEZ-MONTEMAYOR, 2019). O melado de cana, também conhecido como mel de engenho, é um subproduto derivado da cana-de-açúcar. Estudos demonstram seu alto teor em minerais, principalmente potássio, cálcio e magnésio, além da presença de compostos fenólicos e forte atividade antioxidante (NOGUEIRA, 2009; FAGUNDES, 2010), porém ainda são escassos os estudos que avaliem a viabilidade da adição do melado de engenho em bebidas funcionais.

Sendo assim, visto o potencial do xique-xique em relação a presença de componentes bioativos potencialmente benéficos à saúde, o desenvolvimento de uma bebida mista utilizando o suco dessa cactácea, juntamente com sucos de maracujá e de limão e adoçada com mel de

engenho, possibilita a valorização de produtos regionais, assim como a inovação no uso de uma matriz ainda pouco explorada na indústria de alimentos e bebidas. Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo desenvolver e caracterizar os parâmetros físico-químicos e avaliar o potencial funcional de bebida mista desenvolvida com sucos de xique-xique e maracujá. Para isso, foram elaboradas formulações de bebidas com diferentes concentrações de sucos de xique-xique e de maracujá; analisadas as características físicas e físico-químicas das bebidas mistas desenvolvidas durante 21 dias de armazenamento refrigerado; determinados os perfis de açúcares, ácidos orgânicos e de compostos fenólicos das bebidas desenvolvidas durante 21 dias de armazenamento refrigerado; e determinados os conteúdos totais de compostos fenólicos, flavonoides e carotenoides e atividade antioxidante das bebidas desenvolvidas durante 21 dias de armazenamento refrigerado.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 XIQUE-XIQUE (*Pilosocereus gounellei* A. Weber ex K. Schum. Bly. ex Rowl)

Pilosocereus gounellei, conhecida popularmente como xique-xique, é uma espécie de planta pertencente à família Cactaceae. Essa espécie é endêmica da região da caatinga do Nordeste brasileiro, ou seja, ocorre somente neste local, se desenvolvendo bem em áreas mais secas do semiárido e sendo capaz de crescer em solos com pouca profundidade, arenosos e rochosos (MONTEIRO et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2018).

Essa espécie vegetal tem como partes principais o tronco, flor, fruto e raiz. O xique-xique apresenta tronco ereto com galhos laterais afastados, espinhos resistentes e coloração verde-opaca, como apresentado na Figura 1. Suas flores são tubulosas, brancas, grandes e noturnas e seu fruto é do tipo baga, sendo arredondado e achatado nos polos, com casca avermelhada e interior púrpura, com pequenas sementes pretas (ALMEIDA et al., 2007).

Figura 1 – Xique-xique (*Pilosocereus gounellei*).



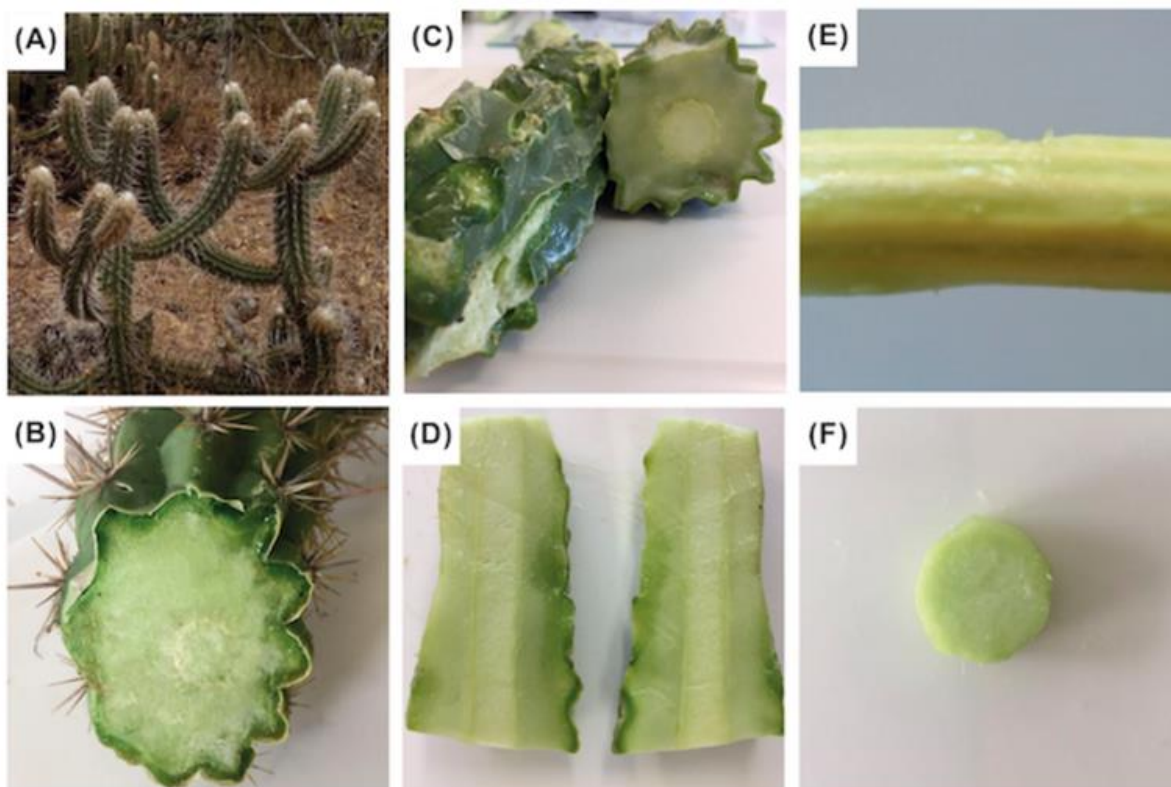
Fonte: MACHADO (2019).

Seu caule e polpa são utilizados pela população da zona rural na alimentação de animais, assim como na produção de sucos, biscoitos, bolos e geleias. Porém, poucos estudos disponibilizam informações acerca das suas características físico-químicas, o que possibilitaria

estimular seu aproveitamento como alimento e fonte de renda, visto sua adaptação ao clima e solo da região da caatinga (LUCENA et al., 2012).

Almeida et al. (2007) caracterizaram a polpa proveniente do talo central do xique-xique e do cilindro vascular situado entre o talo e a casca, apresentados na Figura 2, em relação a composição física e química. Nesse estudo foi observado que a polpa possui baixa acidez, e o talo central apresenta maior quantidade de sólidos solúveis, o que possibilita seu uso para produção de farinhas. Por sua vez, a polpa do cladódio se mostrou mais apropriada para elaboração de produtos com alto teor de água.

Figura 2 – Estrutura do xique-xique (*Pilosocereus gounellei*). (A) Planta; (B) cladódio cortado transversalmente com espinhos e casca; (C) e sem espinhos; (D) cladódio cortado longitudinalmente; (E) talo central; (F) e talo central fatiado.



Fonte: MACHADO (2019).

Além de seu uso como alimento, o xique-xique também é amplamente utilizado como uma planta medicinal pela população para tratamento de diversas enfermidades. Na medicina tradicional, o caule, raiz e flores do xique-xique são comumente usados no tratamento de feridas, inflamação de próstata e uretra, hiperglicemia, retenção de líquido, icterícia e infecção renal, apesar da escassez de estudos que comprovem esses efeitos (ALBUQUERQUE et al., 2007; ALMEIDA et al., 2005; ROQUE et al., 2010).

Dentre esses estudos, alguns experimentos *in vitro* já demonstram a presença de componentes bioativos nessa planta, como os compostos fenólicos e flavonoides, assim como atividade antioxidante proveniente, principalmente, de extratos do fruto do xique-xique (MACIEL et al., 2016; SILVA et al., 2018). Outros estudos *in vivo* também já foram realizados, como os conduzidos por Oliveira et al. (2018; 2019), os quais verificaram atividade antinociceptiva, anti-inflamatória e antipirética dos extratos salinos do caule da planta em ratos, com potencial efeito hipoglicêmico e hipolipídico, sem apresentar efeitos tóxicos.

Outros estudos já demonstraram a baixa toxicidade desta planta em modelos animais, como o de Dias et al. (2015), onde o extrato etanólico do caule do xique-xique exibiu efeito anti-inflamatório em edemas de pata induzidos por carragenina. Sousa et al. (2018) reportaram que a administração de extrato etanólico das raízes e cladódio do xique-xique promoveu importante efeito gastroprotetor ao inibir a formação de lesões gástricas em modelos animais, também sem exibir efeitos tóxicos.

Alguns estudos também investigaram o potencial funcional do suco do cladódio do xique-xique, componente ainda pouco explorado dessa matriz. O estudo de Assis et al. (2019) verificou o efeito anti-inflamatório do suco de xique-xique no tratamento de colite em modelos animais, sendo esse efeito atribuído a presença dos compostos fenólicos e flavonoides no suco. Ribeiro et al. (2020) demonstraram que o suco de xique-xique possui propriedades com potencial prebiótico, visto que o mesmo viabilizou o crescimento e metabolismo de cepas probióticas, consequentemente, possibilitando efeitos benéficos com seu consumo. Esses achados apontam o potencial que esse componente possui, podendo ser incorporado como ingrediente na produção de bebidas funcionais, viabilizando seu consumo pela população.

2.2 BEBIDAS FUNCIONAIS

As bebidas funcionais podem ser definidas como produtos não alcoólicos nos quais sua formulação pode apresentar constituintes como ervas, aminoácidos, vitaminas, minerais, vegetais crus ou frutas (BADER-UL-AIN et al., 2019). Essas bebidas são geralmente formuladas a partir da adição de ingredientes bioativos que apresentem benefícios ao organismo e/ou pela remoção ou redução de ingredientes ou aditivos que em excesso possam trazer riscos à saúde (NAZIR et al., 2019).

Esse termo pode englobar diversas categorias de produtos, como, por exemplo, as bebidas lácteas, que são utilizadas como veículo de vitaminas, minerais, ácidos graxos, antioxidantes, proteínas, esteróis vegetais e, principalmente, probióticos; os energéticos,

geralmente compostos por cafeína, vitaminas e minerais, açúcares e estimulantes não nutritivos; as bebidas de frutas e vegetais, as quais também podem ser adicionadas de probióticos, além de apresentarem substâncias bioativas próprias dessas matrizes; as bebidas esportivas ou isotônicos, que servem como fonte de carboidratos, vitaminas e eletrólitos; e as bebidas adicionadas de ingredientes funcionais, os quais podem incluir tanto componentes nutricionais como agentes estabilizantes, flavorizantes, conservantes e adoçantes (BADER-UL-AIN et al., 2019).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para que os alimentos ou ingredientes possam expressar alegação de propriedade funcional, eles devem “além das funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzir efeitos metabólicos e ou fisiológicos e ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguros para consumo sem supervisão médica” (BRASIL, 1999). No Brasil, não existe legislação própria para bebidas funcionais, porém, bebidas não gaseificadas e não fermentadas, obtidas pela mistura de suco de fruta e vegetal ou partes comestíveis de vegetais também podem ser denominadas como bebidas mistas (BRASIL, 2009).

Atualmente, a categoria mais ativa no mercado de alimentos funcionais é a de bebidas, visto sua capacidade de satisfazer os padrões da indústria quanto a dimensões e características de suas embalagens, condições de armazenamento sob temperatura ambiente ou de refrigeração e facilidade de distribuição (KAUSAR et al., 2012; BADER-UL-AIN et al., 2019). Até o ano de 2025, espera-se que o mercado de bebidas funcionais seja responsável por aproximadamente 40% da demanda geral de bebidas não alcoólicas (BAGCHI; NAIR, 2016).

A área de bebidas e alimentos funcionais tem atraído destacável interesse na pesquisa e inovação, onde cada vez mais são explorados diversos ingredientes funcionais e suas propriedades benéficas, assim como possíveis processos de fabricação a fim de produzir novas bebidas ou aprimorar produtos já existentes (BIGLIARDI; GALATI, 2013; BAMBACE; ALVAREZ; MOREIRA, 2021). Na última década, a indústria alimentícia tem demonstrado interesse na utilização de subprodutos resultantes de processos de fabricação e no uso e processamento de ingredientes naturais (CORBO et al., 2014; MENSI & UDENIGWE, 2021).

As principais propriedades relatadas provenientes dessas bebidas funcionais são a atividade anti-inflamatória, antidiabética, tratamento de obesidade e doenças cardíacas e atividade antioxidante (HABAUZIT et al., 2015; WANG et al., 2015; BADER-UL-AIN et al., 2019). A atividade antioxidante pode estar presente nessas bebidas devido a incorporação de ingredientes naturais que conferem ao produto tal propriedade, destacando-se os ingredientes fontes de compostos fenólicos (NAZIR et al., 2019).

O desenvolvimento de novas bebidas funcionais utilizando um ou mais ingredientes bioativos proveniente de fontes não convencionais vem sendo relatado em diversas pesquisas. Alguns exemplos são o uso de frutas exóticas (GIRONÉS-VILAPLANA et al., 2012a; GIRONÉS-VILAPLANA et al., 2012b), ervas medicinais (LAKSHAN et al., 2019), extrato de soja (MOURA NETO et al., 2016), tubérculos (DIONÍSIO et al., 2016), plantas suculentas (HULLE et al., 2017; MISHRA; SANGMA, 2017) e cactáceas da espécie *Opuntia ficus-indica*, conhecida popularmente como palma (BACCOUCHE et al., 2013).

A preparação de bebidas funcionais a partir da combinação de frutas e plantas medicinais é um setor emergente na indústria alimentícia. Os benefícios associados ao consumo de sucos de frutas e vegetais são diversos, visto que além dos seus efeitos antioxidantes, podem também auxiliar na melhora da função endotelial; na inibição de agregação plaquetária; na prevenção da hiperhomocisteinemia; e no controle de peso corporal, possuindo também ação anti-inflamatória, além de auxiliar na diminuição da pressão arterial e melhora nos níveis de lipídeos plasmáticos (ZHENG et al., 2017; MAIA et al., 2019).

Quando se trata do desenvolvimento dessas bebidas funcionais, um dos fatores de grande importância é a redução de possíveis sabores amargos, adstringentes ou demasiadamente ácidos para a maioria dos consumidores, provenientes desses ingredientes com alto valor nutricional (MISHRA; SANGMA, 2017).

Dessa forma, a indústria frequentemente faz uso de flavorizantes a fim de melhorar as características sensoriais desses produtos. A utilização de frutas com ampla aceitação pelos consumidores como flavorizantes naturais é um artifício que permite a valorização do produto, tanto pelo apelo de se tratar de um aditivo natural, como pela presença de compostos bioativos nessas matrizes, como compostos fenólicos, vitaminas e minerais, o que pode conferir funcionalidade ao alimento ou bebida elaborados (MISHRA; SANGMA, 2017; JEON; KIM, 2018).

Aliado a isso, tem sido relatado que os consumidores se mostram mais propensos a experimentar novos produtos quando estes contêm ao menos um ingrediente que os é familiar (BEVERAGE INDUSTRY, 2014). Estudos demonstram que a adição de misturas de sucos de frutas em bebidas funcionais pode trazer ainda melhores resultados quando comparado com a adição de suco de uma única fruta isoladamente, visto que a combinação de diferentes frutas fornece maior variedade de vitaminas, minerais, fibras, compostos fenólicos e carotenoides (MAIA et al., 2019).

Além disso, as razões para a produção de bebidas com misturas de sucos ou que contenham menos de 100% de suco são várias, sendo algumas delas: a redução de custo ao

combinar frutas mais acessíveis com frutas mais custosas ou exóticas; compensação de sabores excessivamente fortes, como acidez, adstringência ou amargor de certas frutas; correção de níveis baixos de sólidos solúveis; balancear sucos com sabores suaves ou fracos, mas que possuem outros atrativos positivos; melhorar a coloração de certos sucos; balancear os atributos sensoriais entre as misturas; enfatizar propriedades nutricionais e perfil de compostos fitoquímicos de certos produtos; e melhorar a consistência do suco como um todo (BATES et al., 2001).

Tendo em vista esses benefícios, o presente estudo faz uso do suco de maracujá e de limão, adicionados ao suco de xique-xique, devido ao potencial funcional que essa combinação apresenta, sendo frutas frequentemente usadas como flavorizantes naturais de diversos produtos (GIRONES-VILAPLANA et al., 2012; CHAUHAN et al., 2014; REBOUÇAS et al., 2014; ARAGÃO et al., 2018). Bebidas elaboradas com sucos concentrados de frutas ácidas requerem a mistura com outros sucos mais doces ou adição de méis, como também pode ser utilizado o mel de engenho na sua composição, visando a melhora de sua aceitação (MAIA et al., 2019).

2.2.1 Maracujá (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.)

A família Passifloraceae é composta por mais de 500 espécies, onde o principal gênero é o *Passiflora*, devido não só ao grande número de espécies mas também a sua importância econômica (PEREIRA et al., 2015). Dentre essas espécies, *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg. e *P. laurifolia* L. se destacam por serem amplamente cultivadas e apresentarem frutos comestíveis (CORRÊA et al., 2016).

P. edulis é encontrada principalmente em regiões tropicais e seu fruto apresenta aroma e sabor característicos intensos e agradáveis. Nos últimos anos, o Brasil se tornou o maior produtor de maracujá no mundo, sendo responsável por 60% da produção global, produzindo mais de 900 000 toneladas por ano (CORRÊA et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016).

A fruta do maracujazeiro apresenta elevado valor nutricional, contendo quantidades significantes de riboflavina, niacina, cálcio, fósforo e ácido ascórbico, além de apresentar baixo teor de gorduras e conteúdo moderado de carboidratos (CORRÊA et al., 2016). Também é rica em compostos bioativos, dentre eles os compostos fenólicos, como quercetina e catequina, carotenoides, vitamina C, provitamina A e fibras, que estão relacionados principalmente à alta capacidade antioxidante do maracujá, contribuindo para efeitos benéficos à saúde, como a diminuição do risco cardiovascular e de doenças neurodegenerativas (REIS et al., 2018).

Devido essas características, a fruta se torna uma matéria prima potencial para uso como flavorizante natural, tanto pela sua composição como pelo seu apelo econômico. Nos últimos anos, diversos estudos demonstram a utilização da fruta do maracujá na composição de variados produtos alimentícios, como sorvetes (ARAGÃO et al., 2018), bebidas prebióticas (REBOUÇAS et al., 2014; MONTEIRO et al., 2020) néctares (SOUZA et al., 2010) e bebidas proteicas (VALENCIA et al., 2015), demonstrando o amplo uso de seus benefícios sensoriais e bioativos, sendo uma alternativa promissora no desenvolvimento de novos produtos funcionais.

2.2.2 Limão (*Citrus latifolia* Tanaka)

O gênero *Citrus*, pertencente à família Rutaceae, tem sua origem proveniente da região sudeste da Ásia, e é o grupo de frutas de maior importância no mundo, contendo três espécies naturais (tangerina, cidra e pomelo) e diversos híbridos, denominados citrinos (GONZÁLEZ-MOLINA; MORENO; GARCÍA-VIGUERA, 2010; GIRONÉS-VILAPLANA et al., 2012a). Dentre essas espécies híbridas, encontra-se o limão-taiti (*Citrus latifolia* Tanaka), de origem tropical, que, apesar do seu nome, não é um limão verdadeiro e sim uma lima ácida. Ainda, se destaca como uma das espécies cítricas de maior importância comercial no Brasil (EMBRAPA, 1998).

Os frutos do limoeiro são de tamanho médio, possuem casca esverdeada fina e lisa, com raras sementes, polpa de cor amarelo-esverdeada e suco ácido, o qual é fonte de nutrientes. Dentre esses, estão os minerais, como potássio, o ácido cítrico, os flavonoides e a vitamina C, também conhecida como ácido ascórbico. O teor de ácido ascórbico no suco de limão varia de 20 a 40 mg/mL, sendo uma das mais importantes vitaminas hidrossolúveis e que, devido seu alto poder de sequestro de espécies reativas de oxigênio, é também um eficiente antioxidante e conservante natural (EMBRAPA, 1998; GIRONÉS-VILAPLANA et al., 2012a).

Os flavonoides são os compostos fenólicos mais abundantes nas frutas cítricas, onde as flavononas são a subclasse majoritária. Esses componentes possuem grande relevância devido suas propriedades bioativas e nutricionais, estando associados à redução do risco de diferentes tipos de câncer e doenças cardiovasculares, visto suas atividades antioxidante, anti-inflamatória e de sequestro de radicais (LEDESMA-ESCOBAR et al., 2018).

O limão, ou lima ácida, é amplamente utilizado na indústria alimentícia para produção de bebidas, sucos e chás, principalmente, devido ao seu sabor agradável e refrescante, visto que, quando se trata da indústria de bebidas, em particular, os sabores cítricos são a categoria mais

popular entre os consumidores (BEVERAGE INDUSTRY, 2014; KIELING; BARBOSA-CANÓVAS; PRUDENCIO, 2019). No Brasil, o limão-taiti é uma das principais frutas comercializadas com produção durante o ano inteiro, sendo o país um dos mais importantes produtores da fruta (RANGEL et al., 2011; KIELING et al., 2019).

Além de seu apelo sensorial, a adição de suco de limão em bebidas pode prevenir reações de escurecimento enzimático e deterioração da cor do produto (CHAUHAN et al., 2014). O suco de limão pode ainda agir como acidulante natural, regulando a acidez e pH, além de conferir aroma característico ao produto (JAYACHANDRAN et al., 2016). Tendo em vista essas vantagens, estudos demonstram a utilização desse suco na composição de bebidas funcionais, enfatizando, principalmente, a potencialização da capacidade antioxidante desses produtos (KIELING; PRUDENCIO, 2017; KIELING et al., 2019).

2.2.3 Melado de cana

Os adoçantes obtidos a partir da natureza, como o mel de abelha e melados provenientes de fontes vegetais, são conhecidos por serem em sua maioria opções mais nutritivas, sendo ricos em carboidratos e componentes como proteínas, lipídeos, fibras e fitoquímicos. Os melados podem ser extraídos de diversas fontes, como árvores, plantas, frutas e vegetais (EDWARDS et al., 2016; GONZÁLEZ-MONTEMAYOR et al., 2019). O melado de cana, também conhecido como mel de engenho, é um subproduto obtido a partir do caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) e gerado por meio da concentração desse caldo a partir de sua evaporação (BRASIL, 2005).

O mel de engenho apresenta cor marrom dourada escura, com textura semelhante ao mel de abelha e sabor doce de intensidade média, com leve sabor herbal, assemelhando-se ao sabor de caramelo e da própria cana-de-açúcar; entretanto, sem o sabor forte característico de melaços (CLARKE, 2003). É importante destacar que o melaço se difere do melado, visto que o primeiro é um subproduto residual da fabricação do açúcar cristalizado, do melado ou da refinação do açúcar bruto, não apresentando tanto valor nutricional para o consumo humano, sendo geralmente destinado a alimentação animal ou produção de álcool (FAGUNDES, 2010).

Por sua vez, o melado pode ser usado de diversas maneiras na alimentação humana, sendo utilizado inclusive na fabricação da rapadura e do açúcar mascavo. Pode ainda ser adicionado diretamente nos alimentos como agente adoçante, sendo considerado superior a outras opções, como o açúcar refinado, por apresentar vitaminas e minerais na sua composição, preservando parte dos nutrientes da cana devido seu modo de fabricação (FAGUNDES, 2010).

Com o aumento da demanda por produtos naturais, o melado de cana já possui um mercado garantido em algumas regiões do País, juntamente com a rapadura e o açúcar mascavo. Apesar de haver pouca literatura oficial que regulamente esse produto, algumas características de qualidade podem ser citadas para o melado de cana comercializado. Segundo a resolução 12/35 de 1978 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA), não é permitida a adição de essências, corantes, conservantes ou edulcorantes e, em relação às características físico-químicas, o melado pode apresentar até 25% de umidade, acidez máxima de 10%, resíduo mineral fixo de até 6% e no mínimo 50% de açúcares totais, podendo chegar até cerca de 70% nos produtos comercializados (CHAVES; FERNANDES; SILVA, 2003).

Entre os minerais que estão presentes em sua composição, o mel de engenho apresenta altos valores de cálcio, ferro, manganês, magnésio, fósforo e potássio, quando comparado com o açúcar refinado (TACO, 2011). Alguns estudos já demonstram o potencial nutricional e funcional desse alimento, verificando além do teor de minerais, elevado teor de compostos fenólicos totais e alta atividade antioxidante, porém ainda são poucos os estudos que mostrem a incorporação do melado de cana em alimentos e bebidas e seu efeito na funcionalidade desses alimentos (NOGUEIRA et al., 2009; FAGUNDES, 2010).

2.3 COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os compostos fenólicos são importantes constituintes nos alimentos de origem vegetal, sendo componentes secundários do metabolismo de plantas, onde apresentam função de proteção contra patógenos e prevenção de estresse oxidativo. As frutas, vegetais e as bebidas derivadas destes produtos são as principais fontes de compostos fenólicos na alimentação humana (LANDETE, 2012).

Os compostos fenólicos podem ser divididos em diversos grupos e apresentam estruturas químicas distintas entre si. No geral, podem ser definidos como substâncias que apresentam, ao menos, um radical hidroxila ligado a um átomo de carbono do anel aromático, denominado de unidades de fenóis, sendo classificados como polifenóis quando apresentam mais de uma dessas unidades (VEIGA et al., 2019). Ainda, podem ser classificados tanto de acordo com sua fonte de origem, função biológica ou estrutura química. Os compostos fenólicos mais comumente encontrados em alimentos de origem vegetal são as lignanas, ligninas, antranas, flavonoides, antraquinonas, cromonas, naftoquinonas, estilbenos, isoflavonas, antocianidinas e ácidos fenólicos (VEIGA et al., 2019; VERMERRIS; NICHOLSON, 2007).

Quando incorporados na alimentação humana, os compostos fenólicos podem atuar reduzindo os riscos relacionados com a produção exacerbada de radicais livres, como o desenvolvimento de arteriosclerose e câncer, entre outras enfermidades. Dessa forma, esses compostos bioativos atuam como antioxidantes, impedindo que ocorram danos às células e macromoléculas ao neutralizar os radicais livres, devido sua capacidade de aceitar elétrons e formar radicais fenoxil relativamente estáveis, retardando o processo oxidativo e, consequentemente, o desenvolvimento de doenças (BARREIROS; DAVID, 2006; GENGAIHI et al., 2014).

Um antioxidante pode ser definido como uma substância que, quando presente em baixas concentrações, comparadas com a de um substrato oxidável em um meio, é capaz de inibir ou retardar a oxidação desse substrato (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Esses componentes antioxidantes podem ser classificados de acordo com sua função (de sequestro de radicais livres e/ou agentes oxidantes, de inibição da geração de oxidantes, de agentes quelantes de metais de transição, ou de estimulação da produção endógena de compostos antioxidantes); polaridade (hidrossolúvel ou lipossolúvel); fonte (exógena ou endógena); e mecanismo (neutralização por transferência de átomo de hidrogênio (HAT); por transferência de um único elétron (SET), ou pela habilidade de quelar metais de transição) (GRANATO et al., 2018).

Dentre esses mecanismos, o SET é o mais empregado na determinação da capacidade antioxidante em amostras de alimentos, com métodos como FRAP (*Ferric reducing ability of plasma*) e sequestro do radical ABTS (2,2-azino-bis (3-etilbenzo-tiazoline)-6-sulfonic acid), onde é medida a capacidade do antioxidante em reduzir radicais livres, metais pró-oxidantes e carbonilas pela transferência de um elétron (APAK et al., 2013; GRANATO et al., 2018).

Esse mecanismo também é utilizado para determinação do conteúdo de compostos fenólicos totais pelo método do reagente de Folin-Ciocalteu (RFC), cujo princípio é a redução do reagente colorimétrico na presença de compostos fenólicos. Trata-se de um método simples e amplamente utilizado para determinação desses compostos em frutas e vegetais (MALTA; LIU, 2014; SHAHIDI; ZHONG, 2015).

Apesar de amplamente difundidos, métodos espectrofotométricos como RFC não possuem especificidade na determinação de compostos e, devido a isso, resultados obtidos apenas através desses métodos não são completamente confiáveis (SCHENDEL, 2019). Sendo assim, a combinação com análises mais específicas, como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e espectrometria de massa, se fazem necessárias para confirmar esses resultados, identificando e quantificando os compostos fenólicos com maior acurácia e precisão (GRANATO et al., 2018). Contudo, essas metodologias também possuem suas limitações. A

determinação desses compostos depende da presença de padrões das substâncias a serem identificadas, o que muitas vezes limita o resultado e subestima a quantidade total de compostos fenólicos (SCHENDEL, 2019). Esses fatores reforçam a importância da utilização de mais de uma metodologia para determinação desses componentes, visto que, mesmo sem especificidade, os métodos espectrofotométricos podem ser utilizados para estimar o conteúdo total de compostos fenólicos da matriz (GRANATO et al., 2016).

Os compostos fenólicos antioxidantes podem ser de origem natural ou sintéticos. Os fenólicos naturais, que são os de interesse deste estudo, podem ser divididos em: ácidos fenólicos (derivados do ácido hidroxibenzoico e hidroxicinâmico); flavonoides (flavonóis, flavononóis, flavonas, catequinas, flavononas, antocianidinas e isoflavonas); estilbenos (resveratrol); cumarinas; lignanas; e taninos (hidrolisáveis e condensados). Compostos fenólicos simples, como os ácidos hidroxicinâmicos e flavonoides, são importantes constituintes de bebidas de frutas e vegetais, apresentando ampla atividade antioxidante em estudos *in vitro*, acreditando-se que exerçam efeitos protetores contra doenças cardiovasculares e câncer (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Visto essa capacidade, os compostos fenólicos podem apresentar efeitos benéficos tanto no organismo, agindo como antioxidantes locais e protegendo as células de danos e estresses oxidativos, como também na matriz em que são incorporados, retardando danos provenientes da oxidação e prolongando sua vida de prateleira. Na matriz alimentar, os compostos fenólicos podem agir controlando o desenvolvimento de rancidez e retardando a formação de produtos tóxicos provenientes da oxidação, mantendo o valor nutricional do produto ao longo do período de armazenamento (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015; VEIGA et al., 2019).

Considerando esses benefícios, um número crescente de estudos tem buscado incorporar essa atividade antioxidante em bebidas funcionais a partir da adição de ingredientes fontes de compostos fenólicos, sobretudo de matrizes vegetais ainda pouco investigadas, como frutas exóticas, ervas e plantas nativas (GIRONÉS-VILAPLANA et al., 2012a; MISHRA; SANGMA, 2017; RUBIO-PEREZ et al., 2014). Com base nesse levantamento bibliográfico, verifica-se que o estudo da incorporação do xique-xique na elaboração de bebidas funcionais, além de inédito, torna-se promissor, devido a sugestão de um produto que pode apresentar alto potencial como fonte de compostos fenólicos com atividade antioxidante.

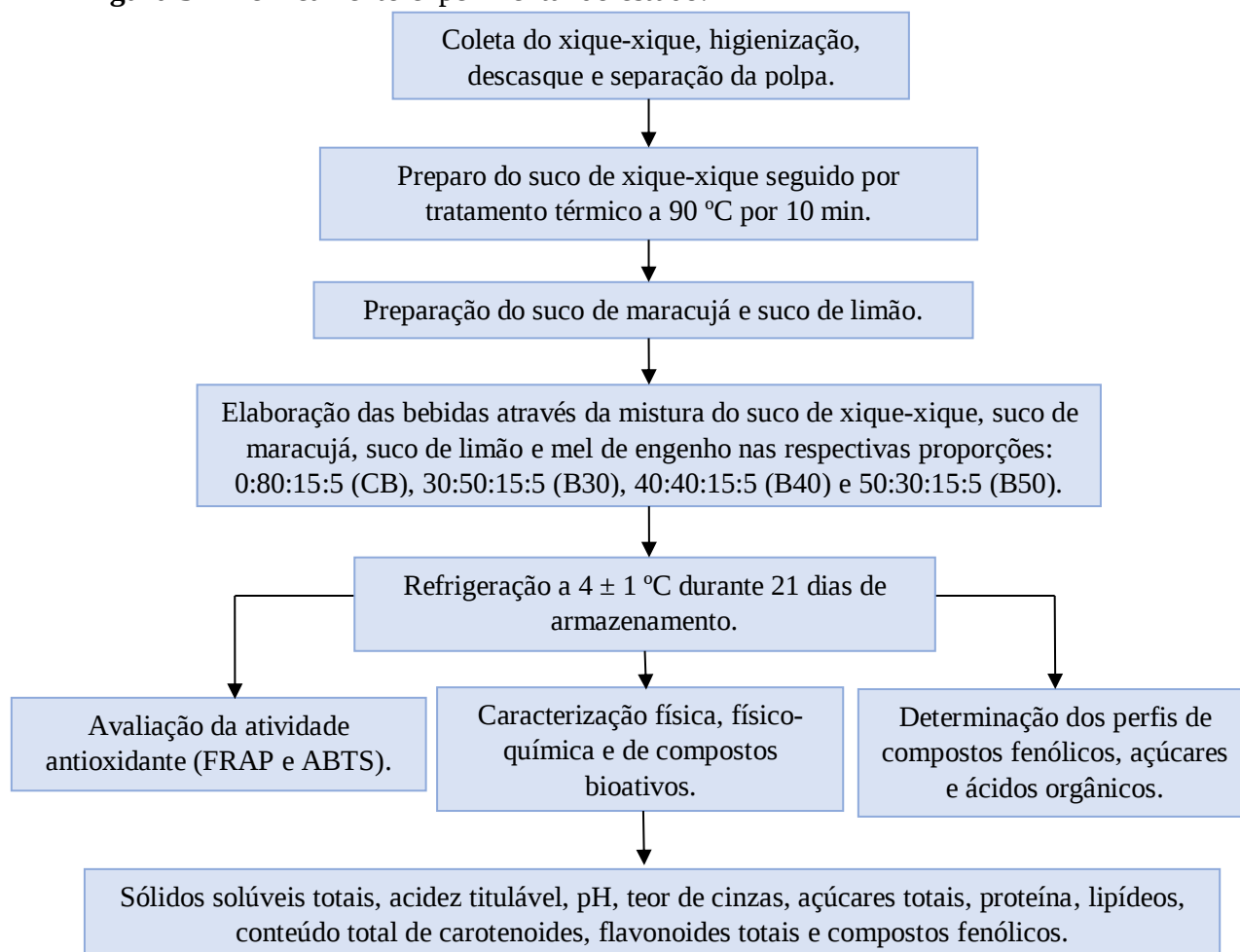
3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho trata-se de um estudo *in vitro*, cujos experimentos foram conduzidos no Laboratório de Técnica Dietética e no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba - *Campus I*, João Pessoa – PB; no Laboratório de Bromatologia de Alimentos da Unidade Acadêmica de Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, *Campus* de Cuité – PB; e no Laboratório Experimental de Alimentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal do Sertão Pernambucano, Petrolina – PE.

3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O desenho experimental desenvolvido no presente estudo está apresentado na Figura 3, na qual são descritas as análises realizadas em triplicata.

Figura 3 – Delineamento experimental do estudo.



Fonte: Próprio autor, 2021.

3.2 MATÉRIA-PRIMA

A coleta dos cladódios de xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) foi realizada em uma área de cultivo particular localizada no município de Boa Vista/PB – Brasil, com coordenadas de 07° 15' 32" S 36° 14' 24" O. A planta foi identificada pelo Profº. Drº. Leonardo Person Felix do Centro de Ciências Agrárias/Universidade Federal da Paraíba - (CCA/UFPB) e a espécie certificada (15437) foi depositada no Herbário Profº. Jaime Coelho Moraes (CCA/UFPB). Já o maracujá (*P. edulis*), limão (*C. latifolia*) e o mel de engenho (Gascana Doces e Rapaduras, Natal, Brasil) utilizados na elaboração das bebidas foram adquiridos no comércio local da cidade de João Pessoa – PB.

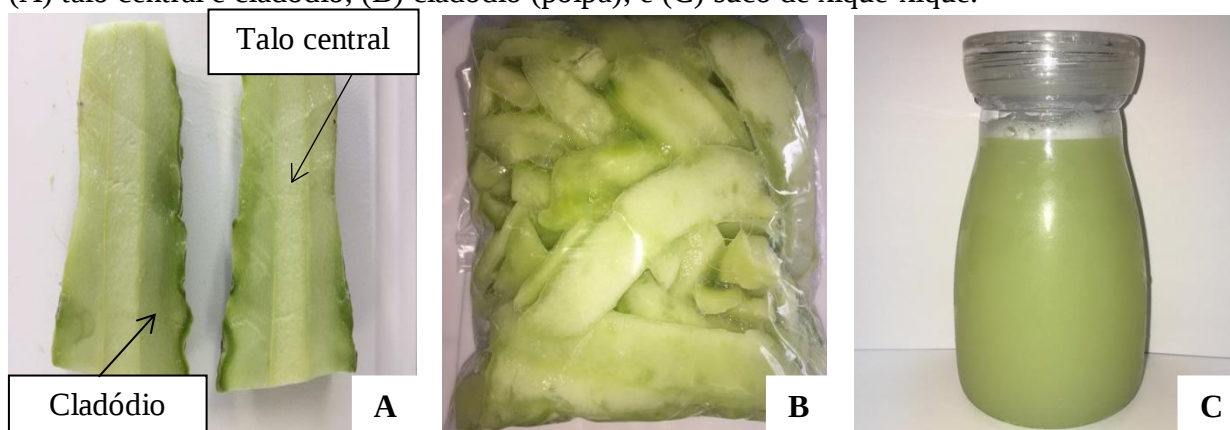
3.3 OBTENÇÃO DOS SUCO DE XIQUE-XIQUE, MARACUJÁ E LIMÃO

Os cladódios de xique-xique primeiramente tiveram seus espinhos retirados utilizando faca doméstica, e em seguida higienizados com água corrente e sanitizados com imersão em água clorada a 100 ppm por 15 minutos, seguindo-se de remoção das cascas. Para obtenção do suco, foi retirado e descartado o talo central, utilizando apenas a polpa do cladódio do xique-xique, que foi triturada em liquidificador doméstico previamente higienizado (Mondial Turbo L-900 FR, Barueri, Brasil) sem adição de água. Em seguida, a polpa triturada foi filtrada primeiramente em peneira (20 mesh) e, posteriormente, em malha 100% algodão.

Após a filtragem, o suco foi submetido ao tratamento térmico (90 ± 1 °C/10 minutos), sendo então resfriado em banho de gelo (4 ± 1 °C) e armazenado em garrafas de polietileno tereftalato (PET) sob refrigeração (4 ± 1 °C) até o momento da preparação da bebida. Na Figura 4 são apresentadas as partes da cactácea utilizadas para a obtenção do suco de xique-xique.

O suco de maracujá foi obtido a partir da polpa da fruta triturada em liquidificador doméstico previamente higienizado (Mondial Turbo L-900 FR), a qual em seguida foi coada em peneira (20 mesh) com auxílio de água filtrada na proporção de 1:4 de suco puro de maracujá para água (v/v). Já o suco de limão foi preparado a partir do suco puro da fruta, obtido com espremedor doméstico, e em seguida adicionado de água potável filtrada na proporção de 1:1 de suco puro de limão para água (v/v). Os sucos preparados foram armazenados em garrafas PET sob refrigeração (4 ± 1 °C) até o momento da preparação da bebida.

Figura 4 – Obtenção do suco a partir dos cladódios do xique-xique (*Pilosocereus gounellei*). (A) talo central e cladódio; (B) cladódio (polpa); e (C) suco de xique-xique.



Fonte: RIBEIRO, 2019.

3.4 PREPARO DA BEBIDA MISTA

As formulações de bebida mista foram elaboradas a partir da mistura do suco da polpa de xique-xique, suco de maracujá, suco de limão e melado de cana, nas proporções apresentadas na Tabela 1. Foram elaboradas quatro formulações, sendo uma bebida controle (sem adição do suco de xique-xique) e três formulações teste com 30, 40 e 50% (v/v) de suco de xique-xique em sua composição. Após a mistura e homogeneização dos ingredientes, as bebidas foram acondicionadas em garrafas PET e armazenadas sob refrigeração (4 ± 1 °C) até a realização das análises. A bebidas foram avaliadas em triplicata nos tempos 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento refrigerado (4 ± 1 °C).

Tabela 1 – Formulações de bebidas mistas elaboradas.

Ingredientes	Formulações*			
	BC	B30	B40	B50
Suco de xique-xique	-	30%	40%	50%
Suco de maracujá	80%	50%	40%	30%
Suco de limão	15%	15%	15%	15%
Melado de cana	5%	5%	5%	5%

*Valores apresentados em porcentagem em relação ao volume total da bebida (v/v). BC – bebida controle; B30 – bebida com 30% de suco de xique-xique; B40 – bebida com 40% de suco de xique-xique; e B50 – bebida com 50% de suco de xique-xique.

3.5 CARACTERIZAÇÃO DAS BEBIDAS MISTAS

3.5.1 Características físicas e físico-químicas

As bebidas foram caracterizadas quanto aos aspectos físicos e físico-químicos de acordo com metodologias descritas pela *Association of Official Analytical Chemists* - AOAC (2016) e Folch, Less e Stanley (1957). Para tanto, foram realizadas seguintes análises: determinação da acidez molar por titulação; determinação eletrométrica do pH utilizando potenciômetro com eletrodo de vidro combinado (Modelo Q400AS, São Paulo, Brasil); sólidos solúveis totais (°Brix) determinado em refratômetro portátil (HI96801, HANNA instruments, São Paulo, Brasil); teor de cinzas, quantificado por meio de carbonização, seguida de incineração em forno mufla estabilizado a 550 °C; quantificação do teor de proteína pelo método Kjeldahl com fator de conversão 6,25 multiplicado pela porcentagem de nitrogênio; açúcares totais conforme a metodologia de redução de Fehling (AOAC, 2016); e determinação de lipídeos realizada pelo método de extração a frio (FOLCH; LESS, STANLEY, 1957).

3.5.2 Determinação do perfil de açúcares e ácidos orgânicos

Para a separação e quantificação de açúcares e ácidos orgânicos foram utilizados métodos de detecção por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Para a preparação dos extratos usados na análise, foram pesadas 10 g de cada formulação de bebida e agitadas por 5 minutos em aparelho Turratec (TE-102, Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brasil). As suspensões foram centrifugadas (9000 x g, 15 min, 4 °C) e os sobrenadantes filtrados em filtros de polipropileno com membranas de 0,45 µm (Millex Millipore, Barueri, SP, Brasil).

Foi realizada uma injeção em sistema de cromatografia líquida de alta eficiência para cada amostra, com um sistema LC 1260 Infinity (Agilent Technologies, Santa Clara, Califórnia, EUA) equipado com uma bomba de solvente quaternário (modelo G1311C), desgaseificador, compartimento de coluna termostato (modelo G1316A) e amostrador automático (modelo G1329B) acoplado a um detector de matriz de diodo (DAD) (modelo G1315D) e detector de índice de refração (RID) (modelo G1362A). Durante a análise, a coluna Agilent Hi-Plex H (300 x 7,7 mm) com tamanho de partícula de 8,0 µm e coluna de guarda PL Hi-Plex H (5 x 3 mm) (Agilent Technologies) foram mantidas a 50 °C. Foi utilizado volume de injeção de 10 µL, vazão de 0,5 mL/min, fase móvel H₂SO₄ a 4,0 mM em água ultrapura e corrida de 20 minutos.

Os dados obtidos foram processados usando OpenLAB CDS ChemStation Edition (Agilent Technologies). Os picos e as áreas médias de pico foram utilizados para quantificação de amostras de CLAE comparando seus tempos de retenção com os padrões de ácidos orgânicos e açúcares. Os conteúdos de açúcares e ácidos orgânicos foram expressos em g por 100 mL de amostra (PADILHA et al., 2017; BATISTA et al., 2018; COELHO et al., 2018; LIMA et al., 2019).

Para realização dessas análises, os padrões de glicose e frutose foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA); os padrões de maltose e ramnose foram obtidos da Chem Service (West Chester, EUA); e os padrões de ácidos cítrico, succínico, málico e láctico foram obtidos da Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil); todos com pureza $\geq 99\%$. A água ultrapura foi obtida de sistema MilliQ (EMD Millipore, USA) e o ácido sulfúrico foi obtido da Merck (Darmstadt, Alemanha).

3.5.3 Determinação de compostos bioativos

3.5.3.1 Obtenção do extrato

Para quantificação de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante total (ABTS e FRAP) foi preparado o extrato das amostras em triplicata. Para isso, foram pesadas em balança semianalítica 2 g das amostras e homogeneizados em 10 mL de metanol (Merck, Darmstadt, Alemanha) a 80% por 10 minutos usando mini-Turrax (TE-102, Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brasil); após homogeneização, os extratos foram mantidos em maceração por 24 horas na ausência da luz e em temperatura ambiente (23°C) e, posteriormente, filtrados em papel filtro qualitativo de 125 mm (Whatman). Após, foram envasados em vidros âmbar e realizadas as análises.

3.5.3.2 Conteúdo total de compostos fenólicos e flavonoides

Para determinar o teor de compostos fenólicos totais utilizou-se metodologia descrita por Liu et al. (2002), com modificações. Resumidamente, 250 μL de cada extrato foram misturados em tubo de ensaio com 1250 μL do reagente Folin-Ciocalteu a 10%. As soluções foram agitadas por 30 segundos em vórtex (Logen Scientific, modelo LSM56-II-VM, Fortaleza/Ceará, Brasil) e armazenadas em temperatura ambiente (23 $\pm$ 1 °C) na ausência da luz por 6 minutos. Após, foram adicionados 1000 μL da solução de carbonato de sódio a 7,5%. A

mistura foi levada ao banho maria (Novatecnica, modelo NT232, Piracicaba – SP, Brasil) a uma temperatura de 50 ± 1 °C durante 5 minutos. A absorbância foi medida a 765 nm utilizando espectrofotômetro (BEL Photonics). Também foi realizado um branco com a ausência dos extratos para zerar o espectrofotômetro. O conteúdo de compostos fenólicos totais das amostras foi determinado utilizando uma curva padrão preparada com ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por cem mL de amostra (mg EAG/100 mL).

O teor de flavonoides totais foi determinado de acordo com o método proposto por Zhishen, Mengcheng e Jianming (1999). Uma alíquota de 0,5 mL dos extratos foi adicionada a 2 mL de água destilada em tubo de ensaio. Em seguida, adicionou-se 150 µL de nitrito de sódio a 5%. Após 5 minutos, 150 µL de cloreto de alumínio a 10% foram adicionados e, após 6 minutos, 1 mL de hidróxido de sódio a 1 M, seguido pela adição de 1,2 mL de água destilada. A absorbância da amostra foi medida a 510 nm usando espectrofotômetro (BEL Photonics) contra um branco na ausência dos extratos. O teor de flavonoides totais dos extratos foi determinado usando uma curva padrão de equivalentes de catequina (EC). Os resultados foram expressos em mg equivalentes de catequina (EC) por cem mL de amostra (mg EC/100 mL).

3.5.3.3 Capacidade antioxidante equivalente a Trolox – ABTS^{•+}

A capacidade dos extratos em capturar o cátion ABTS^{•+} foi avaliada de acordo com a metodologia de Surveswaran et al. (2007), com algumas modificações. Inicialmente, formou-se o radical ABTS^{•+} através da reação da solução ABTS a 7 mM com 88 µL de solução de persulfato de potássio a 140 mM (concentração final de 2,45 mM). Posteriormente, manteve-se em repouso, em temperatura ambiente (23 ± 1 °C) por 12 a 16 horas em ausência de luz, para formação do ABTS^{•+}. O radical formado foi diluído em água destilada até obter o valor de absorbância de 0,800 ($\pm 0,020$) a 734 nm em espectrofotômetro (BEL Photonics). A leitura da absorbância foi feita a 734 nm com a mistura de reação (600 µL) contendo 100 µL da amostra e 500 µL de solução ABTS^{•+}. Também foi feita uma solução “controle” que consistiu em uma alíquota de 100 µL do solvente extrator dos extratos adicionada de 500 µL do radical ABTS^{•+}. A solução utilizada como “branco” consistiu no solvente extrator de cada extrato, sendo utilizada para zerar o espectrofotômetro. Como referência, foi utilizado o Trolox e os resultados foram expressos em µM Trolox por mL da amostra (µmol Trolox/mL).

3.5.3.4 Capacidade Redutora de Ferro – FRAP

Para a determinação da atividade antioxidante por meio da redução do ferro (FRAP) foi utilizada metodologia descrita por Benzie e Strain (1996), adaptada por Pulido, Bravo e Saura-Calixto (2000). O reagente FRAP foi preparado somente no momento da análise por meio da mistura de 11 mL de tampão acetato (0,3M, pH 3,6), 1,1 mL de solução TPTZ (2,4,6-tris (2-pyridyl)-s-triazine) a 10 mM/L em solução de HCl a 40 mM e cloreto férrico (FeCl_3) a 20 mM. Para a análise, 200 μL dos extratos foram adicionados a 1800 μL do reagente FRAP em tubo de ensaio e levados ao banho maria (Novatecnica, modelo NT232, Piracicaba – SP, Brasil) a 37 ± 1 °C por 30 minutos. Uma solução “branco”, sem adição do extrato, foi utilizada para zerar o espectrofotômetro. As absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro (BEL Photonics) a 593 nm. Para determinar a atividade antioxidante (FRAP) dos extratos foi utilizada curva de calibração com Trolox e os resultados foram expressos em μmol de trolox por mL de amostra (μM Trolox/mL).

3.5.3.5 Conteúdo total de carotenoides

Para determinação de carotenoides totais utilizou-se a metodologia empregada por Lichtenthaler e Buschmann (2001). Para tal, foi pesado 1 grama da amostra em tubos de ensaio envoltos com papel alumínio; em seguida, 10 mL de acetona foi adicionada em cada tubo, agitada por 30 segundos em agitador de tubos (modelo AP56, Phoenix Luferco, Araraquara, São Paulo, Brasil) e filtrado em papel filtro qualitativo de 125 mm (Whatman, GE Healthcare, Chicago, IL, USA). A amostra foi lida em espectrofotômetro (BEL Photonics, SP-1102, Piracicaba, São Paulo, Brasil) nos comprimentos de onda de 470, 645 e 662 nm contra o branco constituído de acetona. O conteúdo total de carotenoides foi expresso em mg por 100 mL da amostra (mg/100 mL).

3.5.3.6 Determinação do perfil dos compostos fenólicos

O extrato das amostras foi obtido a partir de 5 gramas da bebida homogeneizada com 5 mL de metanol a 80% (Sigma Aldrich) por 5 minutos em aparelho Turratrec (Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brasil). As suspensões foram centrifugadas ($9000 \times g$, 15 min, 4 °C) e os sobrenadantes filtrados em filtros para seringa com membranas em PTFE de 0,45 μm (Millex Millipore, Barueri, SP, Brasil).

Os compostos fenólicos individuais foram determinados seguindo a metodologia validada por Padilha et al. (2017), com adaptações em gradiente e tempo de execução para quantificação de estilbenos, flavonóis e flavonas, utilizando cromatógrafo líquido Agilent 1260 Infinity System LC (Agilent Technologies, Santa Clara - EUA) acoplado a um detector de arranjo de diodo (DAD) (G1315D). A coluna utilizada foi a Zorbax Eclipse Plus RP-C18 (100 × 4,6 mm, 3,5 µm) e a pré-coluna foi a Zorbax C18 (12,6 × 4,6 mm, 5 µm) (Zorbax, EUA). A temperatura do forno foi de 35 °C e o volume de injeção foi de 20 µL da amostra, previamente diluída na fase A, e filtrada através de membrana de 0,45 µm (Millex Millipore). O fluxo de solvente foi de 0,8 mL/min. O novo gradiente utilizado na separação foi de 0 a 5 minutos: 5% B; 5 a 14 minutos: 23% de B; 14 a 30 minutos: 50% de B; 30-33 minutos: 80% B, em que o solvente A era uma solução de ácido fosfórico (0,1 M, pH = 2,0) e o solvente B era metanol acidificado com 0,5% de H₃PO₄.

Os dados foram processados usando o software OpenLAB CDS ChemStation Edition (Agilent Technologies, Santa Clara-EUA). A detecção dos compostos foi realizada a 220, 280, 320, 360 e 520 nm, e a identificação e quantificação foram feitas por comparação com padrões externos de ácido gálico, ácido siríngico, hesperidina, cis-resveratrol, naringina, procianidina B1, catequina, procianidina B2, epigallocatequina galato, epicatequina, epicatequina galato, procianidina A2, ácido caftarico, ácido clorogênico, ácido caféico, ácido *p*-cumárico, trans-resveratrol, miricitina, quercetina, rutina e campferol (Sigma-Aldrich). Os resultados foram expressos em mg de compostos fenólicos para 100 mL da amostra (mg/100 mL).

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os ensaios foram realizados em triplicata e em dois experimentos distintos, sendo os resultados expressos como média ± desvio padrão. Os dados foram avaliados pela análise de variância (ANOVA), sendo usado o teste de média de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$). As correlações foram calculadas usando o coeficiente de correlação de Pearson (r). A análise de componentes principais (ACP) foi aplicada para mostrar a matriz de correlação entre perfil de compostos fenólicos e atividade antioxidante das bebidas elaboradas. Para todas as análises foi utilizado o programa GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O artigo apresentado no Apêndice A intitulado “Physicochemical parameters, phytochemical profile and antioxidant properties of a new mixed beverage made from xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) and passion fruit (*Passiflora edulis*) juice” teve como objetivo caracterizar parâmetros físico-químicos e avaliar o potencial funcional de bebidas mistas desenvolvidas com sucos de xique-xique e de maracujá. Quatro formulações foram elaboradas utilizando o suco de xique-xique, maracujá, limão e mel de engenho, sendo: BC (bebida controle, sem adição de suco de xique-xique e com 80% de suco de maracujá), B30 (30% de suco de xique-xique e 50% de suco de maracujá), B40 (40% de suco de xique-xique e 40% de suco de maracujá) e B50 (50% de suco de xique-xique e 30% de suco de maracujá) e mantidas em armazenamento refrigerado ($4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 21 dias. Em relação aos parâmetros físico-químicos, as formulações contendo suco de xique-xique (B30, B40 e B50) apresentaram menor acidez, menores concentrações de sólidos solúveis totais e açúcares totais e maiores teores de cinzas totais, quando comparadas à formulação controle (BC). Ao longo do tempo de armazenamento, foi observado aumento significativo na acidez, sólidos solúveis e açúcares totais na maioria das bebidas. Diferentes compostos fenólicos foram identificados nas bebidas desenvolvidas, sendo miricetina, epigallocatequina galato, epicatequina galato, caempferol e procianidina A2 os compostos majoritários. As bebidas formuladas com suco de xique-xique em geral apresentaram maiores teores de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, carotenoides totais e maior atividade antioxidante (ABTS e FRAP) quando comparadas à formulação controle; com destaque para B50. Esses resultados indicam que a adição do suco de xique-xique nas bebidas mistas potencializou suas propriedades bioativas, sobretudo de compostos com propriedades antioxidantes, trazendo opção de um novo produto para a indústria de bebidas funcionais.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, U. P. et al. Medicinal plants of the *caatinga* (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, p. 325-354, 2007.
- ALMEIDA, C. F. C. B. R. et al. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the *caatinga* (Northeast Brazil). **Journal of Arid Environments**, v. 62, p. 127-142, 2005.
- ALMEIDA, C. A. et al. Características físicas e químicas da polpa de xique-xique. **Revista de Ciências Agrônômicas**, v. 38, n. 4, p. 440-443, 2007.
- AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 19. ed., Washington D.C, USA, 2016.
- APAK, R. et al. Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 85, n. 5, p. 957-998, 2013.
- ARAGÃO, D. M. et al. Sorvetes sabor maracujá elaborados com biomassa da banana verde e sucralose. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 13, n. 4, p.483-488, 2018.
- ASSIS, P. O. A. et al. Intestinal anti-inflammatory activity of xique-xique (*Pilosocereus gounellei* A. Weber ex K. Schum. Bly. Ex Rowl) juice on acetic acid-induced colitis in rats. **Food & Function**, v, 10, p. 7275-7290, 2019.
- BAMBACE, M. F.; ALVAREZ, M. V.; MOREIRA, M. R. Ready-to-eat blueberries as fruit-based alternative to deliver probiotic microorganisms and prebiotic compounds. **LWT**, v. 142, p. 111009, 2021.
- BACCOUCHE, A. et al. A physical stability study of whey-based prickly pear beverage. **Food Hydrocolloids**, v. 33, p. 234-244, 2013.
- BADER-UL-AIN, H. et al. Functional nonalcoholic beverages: a global trend toward a healthy life. In: GRUMEZESCU, A.; HOLBAN, A. M. **Non-alcoholic beverages**. Elsevier, 2019. cap. 3, p. 73-105.
- BAGCHI, D.; NAIR, S. **Developing new functional food and nutraceutical products**. 1. ed. London: Academic Press, 2016.
- BARREIROS, A. L. B.; DAVID, J. M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.
- BATES, R. P. et al. Principles and practices of small-and-medium-scale fruit juice processing. **FAO Agricultural Services Bulletin**. v. 146, 2001.
- BATISTA, K.S. et al. Beneficial effects of consumption of acerola, cashew or guava processing by-products on intestinal health and lipid metabolism in dyslipidaemic female Wistar rats. **British Journal of Nutrition**, v. 119, p. 30–41, 2018.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J.; Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BEVERAGE INDUSTRY. Blending is trending: citrus fruits impacted by consumers trends. **Beverage Industry Magazine**, p. 50-53, 2014. Disponível em: <http://www.bevindustry.com>. Acesso em: 15 fev. 2021.

BIGLIARDI, B.; GALATI, F. Innovation trends in the food industry: the case of functional foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 31, n. 2, p. 118-129, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução nº 12, de 24 de julho de 1978** da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos - CNNPA. Brasília, 1978.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999**. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. Brasília, 1999.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 271, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o Regulamento Técnico para Açúcares e Produtos para Adoçar. Brasília, 2005.

_____. Decreto 6.871, de 4 de junho de 2009, que regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 5 de junho de 2009.

CHAUHAN, O. P. et al. A refreshing beverage from mature coconut water blended with lemon juice. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 11, p. 3355-3361, 2014.

CHAVES, J. B. P.; FERNANDES, A. R.; SILVA, C. A. B. Produção de açúcar mascavo, melado e rapadura. In: SILVA, C. A. B.; FERNANDES, A. R. **Projetos de empreendimentos agroindustriais: produtos de origem vegetal**. v. 2. Viçosa: UFV, 2003.

CLARKE, M. A. Syrups. In: **Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition**. 2. ed. Academic Press, 2003. p. 5711.

COELHO, E.M. et al. Simultaneous analysis of sugars and organic acids in wine and grape juices by HPLC: Method validation and characterization of products from northeast Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 66, p. 160-167, 2018.

CORREIA, R. C. G. et al. The past decade findings related with nutritional composition, bioactive molecules and biotechnological applications of *Passiflora* spp. (passion fruit). **Trends in Food Science & Technology**, v. 58, p. 79-95, 2016.

CORBO, M. R. et al. Functional beverages: the emerging side of functional foods: commercial trends, research, and health implications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 6, p. 1192-1206, 2014.

DIAS, G. E. N. et al. Acute oral toxicity and anti-inflammatory activity of ethanolic extract from *Pilosocereus gounellei* (Fac Weber) in rats. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v. 7, p. 1-6, 2015.

DIONÍSIO, A. P. et al. Estabilidade de uma bebida funcional de frutas tropicais e yacon (*Smallanthus sonchifolius*) durante o armazenamento sob refrigeração. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 66, n. 2, p. 148-155, 2016.

EDWARDS, C. H. et al. The role of sugars and sweeteners in food, diet and health: alternatives for the future. **Trends of Food Science and Technology**, v. 56, p. 158-166, 2016.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **A cultura do limão-taiti**. 2. ed. Brasília: Embrapa-SPI, 1998. 69 p., 16 cm. (Coleção Plantar, v. 39).

FAGUNDES, A. D. R. **Características nutricionais com ênfase no ferro e capacidade antioxidante de melados produzidos em Santa Catarina**. 2010, 90 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

FAO - Food and Agriculture Organization of United Nations, FAOSTAT, 2017. Disponível em: <http://apps.fao.org/faostat>. (Acesso em: dezembro de 2020).

FOLCH, J.; LESS, M.; STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497-509. 1957.

GENGAIHI, S. E. I. et al. Antioxidant activity of phenolic compounds from different grape waste. **Journal of Food Processing and Technology**, v. 5, p. 296-300, 2014.

GIRONÉS-VILAPLANA, A. et al. A novel beverage rich in antioxidant phenolics: maqui berry (*Aristotelia chilensis*) and lemon juice. **LWT – Food Science and Technology**, v. 47, p. 279-286, 2012a.

GIRONÉS-VILAPLANA, A. et al. New beverages of lemon juice enriched with the exotic berries maqui açaí, and blackthorn: bioactive components and in vitro biological properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 6571-6580, 2012b.

GONZÁLEZ-MOLINA, E.; MORENO, D. A.; GARCÍA-VIGUERA, C. Natural bioactive compounds of *Citrus limon* for food and health. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 51, n. 2, p. 327-345, 2010.

GONZÁLEZ-MONTEMAYOR, A. M. et al. Honey and syrups: healthy and natural sweeteners with functional properties. In: GRUMEZESCU, A.; HOLBAN, A. M. **Natural Beverages**. Elsevier, 2019. cap. 6, p. 143-177.

GRANATO, D. et al. Functional foods and non-dairy probiotic food development: trends, concepts, and products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 3, p. 292-302, 2010.

GRANATO, D. et al. Chemical perspective and criticism on selected analytical methods used to estimate the total content of phenolic compounds in food matrices. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 266-279, 2016.

GRANATO, D. et al. Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids contents: should we ban *in vitro* screening methods?. **Food Chemistry**, v. 264, p. 471-475, 2018.

HABAUZIT, V. et al. Flavanones protect from arterial stiffness in postmenopausal women consuming grapefruit juice for 6 mo: a randomized, controlled, crossover trial. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 102, p. 66-74, 2015.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 4. ed. Oxford: Oxford University Press, 2007. 888 p.

HULLE, N. R. S. et al. Effect of high pressure thermal processing on the quality attributes of *Aloe vera*-litchi mixed beverage. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 40, p. 68-77, 2017.

JAYACHANDRAN, L. E. et al. Inactivation kinetics of the most baro-resistant enzyme in high pressure processed litchi-based mixed fruit beverage. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, p. 1135-1147, 2016.

JEON, S. Y.; KIM, K. O. Effect of portion size on long-term acceptability as affected by consumers' neophobia level: A case study on flavored green-tea drinks. **Food Quality and Presence**, v. 63, p. 63-72, 2018.

KAUSAR, H. et al. Studies on the development and storage stability of cucumber-melon functional drink. **Journal of Agricultural Research**, v. 50, n. 2, p. 239-248, 2012.

KIELING, D. D. K.; PRUDENCIO, S. H. Antioxidants properties, physicochemical, and sensory quality attributes of a new soy-based beverage with lemongrass and lime juice. **Journal of Culinary Science & Technology**, p. 1-15, 2017.

KIELING, D. D. K.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; PRUDENCIO, S. H. Effects of high pressure processing on the physicochemical and microbiological parameters, bioactive compounds, and antioxidant activity of a lemongrass-lime mixed beverage. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 1, p. 409-419, 2019.

LAKSHAN, S. A. T. et al. A commercial potential blue pea (*Clitoria ternatea* L.) flower extract incorporated beverage having functional properties. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-13, 2019.

LANDETE, J. Updated knowledge about polyphenols: functions, bioavailability, metabolism, and health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, p. 936-948, 2012.

LEDESMA-ESCOBAR, C. A. et al. Targeted analysis of the concentration changes of phenolic compounds in persian lime (*Citrus latifolia*) during fruit growth. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, p. 1813-1820, 2018.

- LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, v. 1, p. F4. 3.1-F4. 3.8, 2001.
- LIMA, R.S. et al. May the superfruit red guava and its processing waste be a potential ingredient in functional foods? **Food Research International**, v. 115, p. 451-459, 2019.
- LIU, M. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 2926–2930, 2002.
- LUCENA, C. M. et al. Conhecimento local sobre cactáceas em comunidades rurais na mesorregião do sertão da Paraíba (Nordeste, Brasil). **Biotemas**, v. 25, p. 281-291, 2012.
- LUCENA, C. M. et al. Conhecimento botânico tradicional sobre cactáceas no semiárido do Brasil. **Gaia Scientia**, v. 9, p. 77-90, 2015.
- MACIEL, J. K. S. et al. New alcamide and antioxidant activity of *Pilosocereus gounellei* A. Weber ex. K. Schum. Bly. ex Rowl. (Cactaceae). **Molecules**, v. 21, n. 11, p. 1-13, 2016.
- MACHADO, T. A. D. G. **Desenvolvimento de farinha de xique-xique (*Pilosocereus gounellei*): caracterização nutricional, propriedades reológicas e sua utilização na elaboração de cookies**. 2019, 134 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2019.
- MAIA, G. A. et al. Development of mixed beverages based on tropical fruits. In: GRUMEZESCU, A.; HOLBAN, A. M. **Non-alcoholic Beverages**. Elsevier, 2019. cap. 5, p. 129-162.
- MALTA, L. G.; LIU, R. H. Analyses of total phenolics, total flavonoids, and total antioxidant activities in food and dietary supplements. **Encyclopedia of Agriculture and Food Systems**, p. 305-314, 2014.
- MARKET RESEARCH. Global health beverage market - analysis by type of beverage by sub-types, by sales channel (online, offline), by region, by country (2018 edition). Disponível em: www.marketresearch.com/Food-Beverage-c84/Beverages-c165/. Acesso em: janeiro de 2021.
- MENSI, A. & UDENIGWE, C. C. Emerging and practical food innovations for achieving the Sustainable Development Goals (SDG) target 2.2. **Trends in Food Science & Technology**, v. 111, p. 783-789, 2021.
- MISHRA, L. K; SANGMA, D. Quality attributes, phytochemical profile and storage stability studies of functional ready to serve (RTS) drink made from blend of *Aloe vera*, sweet lime, amla and ginger. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 3, p. 761-769, 2017.
- MONTEIRO, E. R. et al. Genetic diversity and structure of populations in *Pilosocereus gounellei* (F.A.C. Weber ex K. Schum.) (Cactaceae) in the Caatinga biome as revealed by heterologous microsatellite primers. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 58, p. 86-96, 2015.

- MONTEIRO, S. S. et al. Production of probiotic passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) drink using *Lactobacillus reuteri* and microencapsulation via spray drying. **Foods**, v. 335, n. 9, p. 1-14, 2020.
- MONTEMURRO, M. et al. Plant-based alternatives to yogurt: state-of-the-art and perspectives of new biotechnological challenges. **Foods**, v. 10, n. 2, p. 316, 2021.
- MOURA NETO, L. G. et al. Development of a mixed drink made from hydrosoluble soybean extract, coconut water and umbu pulp (*Spondias tuberosa*). **Acta Scientiarum Technology**, v. 38, n. 3, p. 371-376, 2016.
- NAZIR, M. et al. Opportunities and challenges for functional and medicinal beverages: current and future trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 88, p. 513-526, 2019.
- NOGUEIRA, F. S. et al. Minerais em melados e em caldos de cana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 4, p.727-731, 2009.
- OLIVEIRA, D. A. et al. Valorization of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) by-products: sustainable recovery and biological activities. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 111, p. 55-62, 2016.
- OLIVEIRA, A. M. et al. Saline extract of *Pilosocereus gounellei* stem has antinociceptive effect in mice without showing acute toxicity and altering motor coordination. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 95, p. 289-297, 2018.
- OLIVEIRA, A. M. Assessment of 28-day oral toxicity and antipyretic activity of the saline extract from *Pilosocereus gounellei* (Cactaceae) stem in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 234, p. 96-105, 2019.
- PADILHA, C. V. et al. Rapid determination of flavonoids and phenolic acids in grape juices and wines by RP-HPLC/DAD: Method validation and characterization of commercial products of the new Brazilian varieties of grape. **Food Chemistry**, v. 228, p.106-115, 2017.
- PEREIRA, A. D. et al. Molecular genetic diversity and differentiation of populations of 'somnus' passion fruit trees (*Passiflora setacea* DC): implications for conservation and pre-breeding. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 59, p. 12-21, 2015.
- PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 396-402, 2000.
- RANGEL, C. N. et al. Nutritional value of organic acid lime juice (*Citrus latifolia* T.), cv. *Tahiti*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 4, p. 918-922, 2011.
- REBOUÇAS, M. C. et al. Optimization of the acceptance of prebiotic beverage made from cashew nut kernels and passion fruit juice. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 7, p. 1393-1398, 2014.

REIS, L. C. R. et al. Stability of functional compounds and antioxidant activity of fresh and pasteurized orange passion fruit (*Passiflora caerulea*) during cold storage. **Food Research International**, v. 106, p. 481-486, 2018.

RIBEIRO, T. S. **Caracterização e avaliação *in vitro* do potencial prebiótico do suco de xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) frente à *Lactobacillus* spp.** 2019, 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2019.

RIBEIRO, T. S. et al. In vitro evaluation of potential prebiotic effects of a freeze-dried juice from *Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum. Bly. Ex Rowl) cladodes, an unconventional edible plant from Caatinga biome. **3 Biotech**, v. 10, p. 1-9, 2020.

ROQUE, A. A. et al. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (Nordeste do Brasil). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 12, p. 31-42, 2010.

RUBIO-PEREZ, J. M. et al. A new antioxidant beverage produced with green tea and apple. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v. 65, n. 5, p. 552-557, 2014.

SCHENDEL, R. R. Phenol content in sprouted grains. In: FENG, H.; NEMZER, B.; DEVRIES, J. W. **Sprouted Grains**. Elsevier, 2019. cap. 10, p. 247-315.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects – a review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820-897, 2015.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 757-781, 2015.

SILVA, A. A. et al. Physical and physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of xiquexique (*Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum.)) fruit. **Ciências Agrárias**, v. 29, n. 5, p. 1969-1980, 2018.

SOUZA, P. H. M. et al. Storage stability of a tropical fruit (cashew apple, acerola, papaya, guava and passion fruit) mixed nectar added caffeine. **International Journal of Food & Science Technology**, v. 45, p. 2162-2166, 2010.

SOUSA, G. A. et al. Gastroprotective effect of ethanol extracts of cladodes and roots of *Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum.) Bly. Ex Rowl (Cactaceae) on experimental ulcer models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 218, p. 100-108, 2018.

SURVESWARAN, S. et al. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 938-953, 2007.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 4 ed. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011. 161 p.

VALENCIA, A. et al. Formulación y caracterización de bebidas nutricionales com base a zapallo y lactosuero, enriquecidas com avena y maracuyá. **Enfoque UTE**, v. 6, n. 4, p. 55-66, 2015.

VEIGA, M. et al. Engineering and health benefits of fruits and vegetables beverages. In: GRUMEZESCU, A.; HOLBAN, A. M. **Non-alcoholic beverages**. Elsevier, 2019. cap. 12, p. 363-405.

VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. Families of phenolic compounds and means of classification. In: _____. **Phenolics compound biochemistry**. Netherlands: Springer Science+Business Media, 2007.

WANG, P. et al. Sensitization to docetaxel in prostate cancer cells by green tea and quercetin. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 26, n. 4, p. 408-415, 2015.

ZHENG, J. et al. Effects and mechanisms of fruit and vegetable juices on cardiovascular diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 3, p. 555, 2017.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, **Food Chemistry**, v. 64, p. 555–559, 1999.

APÊNDICE A

Physicochemical parameters, phytochemical profile and antioxidant properties of a new beverage formulated with xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) cladode and passion fruit (*Passiflora edulis*) juice

Abstract

This study elaborated different formulations with xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) cladode, passion fruit and lime juice and sugar cane syrup. The formulated beverages were subjected to physical and physicochemical analysis, determination of total carotenoid, total flavonoid and total phenolic compound contents, as well as of their antioxidant activity (ABTS and FRAP method), organic acid, sugar and phenolic compound profile during 21 days of refrigeration storage (4 °C). Significant variations were found among formulated beverages for most of the measured parameters during storage. Beverage without xique-xique juice was more acidic (11.66 – 12.76 g/100 mL) than beverages with this juice (7.90 – 10.97 g/100 mL). Beverages with xique-xique juice had overall higher contents of bioactive compounds and higher antioxidant activity when compared to control formulation. Beverage with the highest xique-xique juice concentrations had the highest contents of carotenoids (51.51 – 59.27 µg/100 mL), flavonoids (1.39 – 2.15 mg CE/100 mL), phenolic compounds (68.49 – 115.66 mg EGA/100 mL) and antioxidant activity, as measured by ABTS (0.71 – 0.84 µmol Trolox/mL) and FRAP (0.33 – 0.39 µmol Trolox/mL). These results indicate that incorporation of xique-xique cladode juice in beverages should potentiate their functional properties, enabling the development of new products with health-related benefits to consumers.

Keywords: Cactus; functional beverage; physico-chemical characteristics; bioactive compounds; antioxidant activity.

1. Introduction

The search for functional products and their diffusion in food market have been increasing in the last years mainly due to the growing incidence of chronic non-communicable diseases and awareness of consumers about the relationship between diet and health, leading to a high demand for healthier foods (Granato, Branco, Nazzaro, Cruz, & Faria, 2010; Montemurro, Pontonio, Coda, & Rizzello, 2021). In this context, the formulation of beverages with natural ingredients with capability of exerting specific health-related physiological functions has been a major focus of interest for food industry (Nazir et al., 2019).

The world market for functional beverages is expected to grow around 7.8% by the year of 2022, being the fastest growing category among functional foods (Market Research, 2018). This market growth could be associated with the easier transport and storage of the functional beverages, as well as with the greater possibility of incorporating components and bioactive nutrients in their formulation, which add desired functionality to these products (Kausar, Saeed, Ahmad, & Salam, 2012; Nazir et al., 2019).

Vitamins, minerals, amino acids, fatty acids, prebiotic fibers, probiotic bacteria and antioxidant compounds are among the most common components used for formulation of functional beverages (Bader-Ul-Ain, Abbas, Saeed, Khalid, & Suleria, 2019). Some studies have focused on the investigation of unconventional matrices as new sources for the bioactive components, such as exotic fruits, succulent plants and cacti, envisaging their incorporation for development of new functional beverages (Gironés-Vilaplana, Mena, García-Viguera, & Moreno, 2012; Baccouche, Ennouri, Felfould, & Attia, 2013; Mishra & Sangma, 2017).

Xique-xique (*Pilosocereus gounellei* A. Weber ex K. Schum. Bly. ex Rowl), Cactaceae family, is an endemic plant species from Caatinga biome in Northeastern Brazil, being still an underexplored non-conventional plant food (Maciel et al., 2016). This species is widely used by population from this region in folk medicine, being its roots, flowers, fruits and cladodes

commonly used for treatment of urethra and prostate inflammation (Roque et al., 2010), constipation (Lucena et al., 2015), gastritis (Lucena et al., 2012) and jaundice (Albuquerque et al., 2007). Xique-xique has been also used for human consumption, being its fruits consumed *in natura*, while the cladodes are used for production of candies, flour, bakery products and juices (Almeida et al., 2007; Lucena et al., 2013; Lucena et al., 2015).

Early studies have found a variety of bioactive compounds in xique-xique cladodes, such as phenolic compounds, flavonoids and betalains (Maciel et al. 2016; Silva, Dantas, Vêras, Alves, & Silva, 2018). The contents of these bioactive compounds in xique-xique, especially of phenolic compounds, have been shown to correlated with its high antioxidant capacity. Soluble and insoluble fibers have been also found in xique-xique cladode juice (Ribeiro et al., 2020; Assis et al., 2019).

Results of *in vivo* studies have shown that saline extract from stem, roots and xique-xique cladodes exert antinociceptive, antipyretic, hypoglycaemic and hypolipemic effects in rats with no evidence of toxic effects (Oliveira et al., 2018; Oliveira et al., 2019). The consumption of xique-xique cladode juice was reported to have protective effects toward intestinal inflammation and decrease oxidative stress in rats with inflammatory bowel disease, besides having no evident toxic effects (Assis et al., 2019). The results of these studies indicate that xique-xique could be safe for human consumption and promising raw material to formulate potentially functional foods and beverages.

Considering that xique-xique cladode pulp does not have a pronounced flavor, the addition of ingredients to add flavor in xique-xique-based beverage preparations could allow improvement in their sensory acceptance. Lime (*Citrus latifolia* Tanaka) and passion fruit (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) are popular fruits widely used for beverage formulations and well-accepted by consumers, besides being sources of vitamins, minerals and antioxidant compounds (Kieling, Barbosa-Canóvas, & Prudencio, 2019; Monteiro, Beserra,

Oliveira, & Pasquali, 2020). It has been shown that addition of fruit blends in beverage formulations could enhance nutritional and sensory characteristics when compared to their addition separately (Maia et al., 2019). The addition of sugar cane syrup could also contribute to the improvement of sensory aspects while also adding nutritional and functional value to the beverage, considering its high mineral contents, mainly potassium, calcium and magnesium (Nogueira, Ferreira, Carneiro Júnior, & Passoni, 2009).

Considering the potential of xique-xique cladodes in regards of the variety of bioactive compounds found in their composition, the formulation of beverages using xique-xique cladode juice in combination with passion fruit and lime juice and sweetened with sugar cane syrup would enable innovation for the use of this still underexplored plant species. This study aimed to formulate potentially functional beverage with xique-xique, passion fruit and lime juice and cane syrup, as well as to evaluate its physicochemical parameters, content of total carotenoids, flavonoids and phenolic compounds, profile of phenolic compounds and antioxidant activity during refrigerated storage.

2. Material and methods

2.1 Raw materials and ingredients

Xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) cladodes were collected from a private cultivation area located at the municipality of Boa Vista (coordinates 07 ° 15 '32 "S 36 ° 14' 24" O, Paraíba, Brazil). The plant was identified by Prof. Dr. Leonardo Person Felix (Center of Agricultural Sciences, Federal University of Paraíba, Bananeiras, Paraíba, Brazil) and a certified voucher specimen (number 15437) was deposited in Herbarium Prof. Jaime Coelho Morais (Center of Agricultural Sciences, Federal University of Paraíba, Bananeiras, Paraíba, Brazil). Passion fruit (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) and tahiti lime (*Citrus latifolia* Tanaka) at commercial maturation stage and sugar cane syrup (Gascana Doces e Rapaduras, Natal, Rio

Grande do Norte, Brazil) were purchased from local supermarkets (João Pessoa, Paraíba, Brazil).

2.2 Preparation of xique-xique, passion fruit and lime juice

The xique-xique cladodes had their spikes removed with a domestic knife and were cleaned with running water and sanitized by immersion in chlorinated water (100 ppm, 15 min) and peeled. To prepare the xique-xique cladode juice, the central stems of cladodes were removed and discarded. Cladode pulp was collected and mashed with a domestic blender (Mondial Turbo L-900 FR, Barueri, São Paulo, Brazil) without adding water. Mashed pulp was firstly filtered with a sieve (20 mesh) and then with a 100% sterile cotton mesh. Filtered juice was subjected to heating (90 ± 1 °C, 10 min), cooled in an ice bath (4 ± 1 °C), stored in polyethylene terephthalate (PET) bottles and kept under refrigeration (4 ± 1 °C).

The passion fruit juice was obtained by mashing the fruit pulp with a domestic blender (Mondial Turbo L-900 FR) and filtering through a sieve (20 mesh) with potable water in a rate of 1:4. Lime juice was obtained with a domestic juicer and added of potable water in the proportion of 1:1. Prepared juices was stored in PET bottles under refrigeration (4 ± 1 °C). Obtained xique-xique cladode, passion fruit and lime juices were used to preparation of mixed beverages within a maximum period of 12 h of refrigerated storage.

2.3 Formulation of beverages

The beverages were formulated with mixtures of xique-xique cladode pulp juice, passion fruit juice, lime juice and cane syrup in different rates, as shown in Table 1. Four beverage formulations were prepared, being one control beverage (without xique-xique cladode juice) and three formulations with 30, 40 and 50% xique-xique cladode juice (v/v). After mixing and homogenizing the ingredients, the beverages were packed in PET bottles and stored under

refrigeration (4 ± 1 °C) up to characterization analysis. The beverages were evaluated on days 1, 7, 14 and 21 of refrigerated storage.

2.4 Physical and physicochemical characterization of formulated beverages

The beverages were characterized regarding their physical and physicochemical parameters according to standard procedures (AOAC, 2016), to cite: determination of molar acidity by titration; electrometric determination of pH using a potentiometer with combined glass electrode (Model Q400AS, São Paulo, Brazil); total soluble solids (TSS) (°Brix, g/100 mL) using a portable refractometer (HI96801, Hanna instruments, São Paulo, Brazil) at 25 ± 1 °C; ash content determined by carbonization and incineration in a muffle furnace stabilized at 550 °C; quantification of protein content by Kjeldahl method with conversion factor of 6.25 multiplied by percentage of nitrogen; and total sugars according to Fehling reduction methodology. Lipid content was measured by cold extraction method (Folch, Less & Stanley, 1957).

2.5 Determination of sugar and organic acid profile of formulated beverages

For extract preparation, a 10 g-aliquot of each beverage were homogeneized using a mini-Turrax apparatus (TE-102, Technal, Piracicaba, São Paulo, Brasil), centrifuged ($9000 \times g$, 15 min, 4 °C) and filtered with a 0.45 µm-filter (Millex Millipore, Barueri, SP, Brazil) and double injected with flow rate of 0.7 mL/min. Contents of sugars and organic acids were simultaneously measured with HPLC coupled to a diode array detector (DAD) and refractive index detector (RID), using an Agilent chromatograph (model 1260 Infinity LC, Agilent Technologies, St. Clara, CA, USA) equipped with a quaternary solvent pump (G1311C model), degasser, thermostatic column compartment (G1316A model) and automatic auto-sampler (G1329B model), coupled with a DAD (G1315D model) and RID (G1362A model), according

to a previously described method (Coelho et al. 2018). The other analytical conditions were: an Agilent Hi-Plex H column (8 μ m, 7.7 $\times$ 300 mm); mobile phase H₂SO₄ 4 mM/L in ultrapure water; flow rate of 0.7 mL/min; separation temperature of 70 °C; and sample injection volume of 10 μ L.

HPLC sample peaks were identified by comparison of their retention times with those of organic acid and sugar standards. Mean peak areas were used for quantification. Glucose and fructose standards were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MA, USA); and citric, malic, succinic and lactic acid standards were obtained from Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil) Organic acids and sugar contents were expressed as g per 100 mL of formulated beverage (g/100 mL).

2.6 Determination of total carotenoid content in formulated beverages

Total carotenoid content was measured according to a previously described method (Lichtenthaler & Buschmann, 2001). Absorption was measured at 470, 645 and 662 nm with a spectrophotometer (Bel Photonics, Piracicaba, São Paulo, Brazil). Total carotenoid content was expressed as μ g per 100 mL of formulated beverage (μ g/100 mL).

2.7 Total flavonoid and total phenolic compound contents in formulated beverages

For extract preparation, a 2 g-aliquot of each beverage formulation was homogenized with 20 mL of methanol 80% for 10 min using a mini-Turrax apparatus (Technal), kept to rest for 24 h and filtered with a 125 mm-filter paper (Whatman, GE Healthcare, Chicago, IL, USA). Total flavonoid content was measured according to a previously described procedure, with modifications (Zhishen, Mengcheng & Jianming, 1999). A 0.5 mL-aliquot of the extract was added to 2 mL of distilled water and homogenized with 150 μ L of a 5% sodium nitrite. After 5 min, 150 μ L of 10% aluminum chloride solution was added and, after 6 min, 1 mL of 1 M

sodium hydroxide solution and 1.2 mL of distilled water was added to the mixture. Sample absorbance was measured at 510 nm with a spectrophotometer (BEL Photonics) against a blank in the absence of extract. Content of total flavonoids was determined with a standard curve of catechin (Sigma-Aldrich) equivalents (CE). Results were expressed as mg catechin equivalents (CE) per 100 mL of sample (mg CE/100 mL).

Total phenolic content was determined with Folin-Ciocalteu method (Liu et al., 2002). A 250 μ L-aliquot of the extract was homogenized with 1250 μ L of 10% Folin-Ciocalteu reagent, stirred with a Vortex mixer (Quimis, Diadema, São Paulo, Brazil), kept at room temperature (25 ± 0.5 °C) under the dark for 6 min, added of a 1 mL-aliquot of 7.5% sodium carbonate solution and placed in a water-bath (Raypa, Barcelona, Spain) at 50 ± 0.5 °C for 5 min. Absorbance was measured at 765 nm with a spectrophotometer (Bel Photonics). A blank was performed with absence of extract to reset spectrophotometer. Total phenolic content was determined with a standard curve prepared with gallic acid (Sigma-Aldrich). Results were expressed as mg equivalent of gallic acid (EGA) per 100 mL of sample (mg EGA/100 mL).

2.8 Phenolic compound profile in formulated beverages

For extract preparation, a 5 g-aliquot of each beverage was homogenized with 5 mL of 80% methanol (Sigma Aldrich) using a mini-Turrax apparatus (Technal), centrifuged ($9000 \times g$, 15 min, 4 °C) and filtered with a 0.45 μ m-filter (Millex Millipore). Individual phenolic compounds were determined with high performance liquid chromatograph, with gradient adaptations and runtime to quantify different phenolic classes, using an Agilent 1260 Infinity System LC liquid chromatograph (Agilent Technologies) coupled to a diode array detector (DAD) (G1315D). The column was a Zorbax Eclipse Plus RP-C18 (100×4.6 mm, 3.5 μ m) and pre-column was a Zorbax C18 (12.6×4.6 mm, 5 μ m) (Agilent Technologies). Oven

temperature was 35 °C and injection volume was 20 µL diluted in phase A and filtered with a 0.45 µm-filter (Millex Millipore).

Solvent flow was 0.8 mL/min; new gradient used in separation was zero to 5 min: 5% B; 5 to 14 min: 23% B; 14 to 30 min: 50% B; 30-33 min: 80% B, where solvent A was a solution of phosphoric acid (0.1 M, pH = 2.0) and solvent B was acidified methanol with 0.5% H₃PO₄. Data were processed with OpenLAB CDS ChemStation Edition software (Agilent Technologies). Detection of phenolic compounds was done at 220, 280, 320, 360 and 520 nm. Identification and quantification were done by comparison with external standards (Sigma-Aldrich). Results were expressed as mg of phenolic compound for 100 mL of beverage (mg/100 mL) (Dutra, Rodrigues, Oliveira, Pereira, & Lima, 2018; Padilha et al., 2017).

2.9 Evaluation of antioxidant activities of formulated beverages

The FRAP and ABTS methods were used to evaluate the antioxidant activity of formulated beverages. Extracts were prepared as described in section 2.7. The capability of these extracts of reducing iron was measured with FRAP (ferric reducing ability of plasma) method according to a previously described procedure, with modifications (Rockenbach et al., 2011). FRAP reagent was prepared with 3 mol/L of acetate buffer (pH 3.6) + 10 mM/L of TPTZ (2,4,6-tris (2-pyridyl)-s-triazine) in a 40 mM/L HCl solution + 20 mM FeCl₃. A 200 mL-aliquot of the extract was added to 1800 µL of FRAP solution, stirred with a Vortex mixer (Quimis) for 30 s and placed in a water bath for 30 min at 37 °C. Absorbance was measured at 593 nm with a spectrophotometer (Bel Photonics). The standard curve was created with Trolox 1 mM and results were expressed in µmol Trolox per mL of sample (µmol Trolox/mL).

The extract ability to capture ABTS^{•+} cation (2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid) was measured with ABTS method. ABTS reagent, which was prepared by mixing 5 mL of 7 mM ABTS with 88 µL of 140 mM potassium persulfate (final concentration of 2.45

mM) (Sariburun, Sahin, Demir, Turkben, & Uylaser, 2010) and ABTS^{•+} was formed after resting ABTS reagent for 12 – 16 h at room temperature (25 ± 0.5 °C) under the dark. ABTS^{•+} solution was diluted with distilled water to an absorbance value of 0.800 - 0.900 at 734 nm. Absorbance of reaction mixture (600 µL) with 100 µL of extract and 500 µL of ABTS^{•+} solution was measured at 734 nm in a spectrophotometer (Bel Photonics). A control solution with 100 µL of extracting solvent + 500 µL of ABTS radical was prepared. The negative control solution was the extracting solvent for each extract used to reset the spectrophotometer. Trolox was used as a reference and results were expressed in µmol Trolox equivalent antioxidant capacity per mL of sample (µmol Trolox/mL).

2.10 Statistical analysis

Experiments were done in triplicate in three repetitions and results were expressed as average $\pm$ standard deviation. Data were submitted to analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test using $p < 0.05$. Correlations were calculated with Pearson's correlation coefficient (r). A principal component analysis (PCA) was done to evaluate the correlation matrix among total carotenoids, total flavonoids, total phenolic compounds and antioxidant activity during refrigerated storage. Statistical analysis was done with computational software GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

3. Results and discussion

3.1 Physical and physicochemical characteristics of beverages

The results of the physical and physicochemical parameters of the formulated beverages during 21 days of refrigeration storage are shown in Table 2. There was a reduction in pH values and an increase in TA during storage ($p < 0.05$) in most beverage formulations. Control formulation (BC) had higher acidity when compared to other beverage formulations ($p < 0.05$).

This variation could be attributed to the higher concentration of passion fruit juice in CB, since it is a more acidic juice with pH of approximately 2.8, while xique-xique cladode juice has a pH of approximately 5.0 (Rocha & Boline, 2014; Ribeiro et al., 2020).

The increasing acidity found during the measured refrigeration storage period could be caused by degradation of polyphenols in beverage formulations over time. This gradual increase in acidity could be a positive feature in formulated beverages, as a low pH could inhibit the growth of pathogenic and spoilage microorganisms (Mishra & Sangma, 2017).

An increase ($p < 0.05$) in TSS values from day 1 to day 21 of storage was found in all formulations. This increase in TSS values at the later storage period might be due to hydrolysis of polysaccharides into monosaccharides and oligosaccharides in beverages, as this parameter is an indicator of sugar contents, primarily sucrose, glucose and fructose. Similar results have been found in earlier studies with functional beverages with *Aloe vera* (Mishra & Sangma, 2017) and cucumber-melon (Kausar, Saeed, Ahmad & Salam, 2012).

The CB formulation had higher TSS contents than other beverage formulations during the measured storage period ($p < 0.05$). This variation could be attributed to different sugar concentrations in ingredients used to elaborate the beverages, as passion fruit juice has a higher TSS value (13.17 °Brix) than xique-xique cladode juice (5.45 °Brix) (Reis, Facco, Flôres & Rios, 2018; Almeida, Figueirêdo, Queiroz & Oliveira, 2007).

Total ash values were higher ($p < 0.05$) in B40 and B50 formulations (maximum values of 0.39, 0.40 and 0.47 g/100 mL, respectively) when compared to CB formulation (maximum value of 0.26 g/100mL). High ash contents have been found in xique-xique cladodes and derived juice (Almeida, Figueirêdo, Queiroz & Oliveira, 2007; Ribeiro et al. 2020), which should be linked to high content of minerals in these products. A previous study has found high contents of potassium, magnesium and calcium in xique-xique cladode juice (Carvalho et al.,

2021). Therefore, it could indicate that addition of xique-xique cladode juice to beverage formulations contributed to the higher mineral contents found in these products.

Similar to TSS, the total sugar contents had an increase ($p < 0.05$) from day 1 to day 21 of storage for examined beverage formulations, with BC having overall a higher TSS content when compared to formulations with xique-xique cladode juice. This increase could be attributed to hydrolysis of complex sugars into simple sugars due to a higher acidity in BC, as previously found to a functional *Aloe vera*-based beverage (Mishra & Sangma, 2017). Overall, protein and lipid content did not change during the measured storage period or among different beverage formulations ($p \geq 0.05$).

3.2 Soluble sugar and organic acid contents of beverages

Glucose and fructose were the sugars found in formulated beverages, being glucose found in highest contents, especially on day 21 of storage (Table 3). Only B40 showed a significant increase ($p < 0.05$) from day 1 to day 21 of storage for both glucose (0.55 ± 0.01 to 1.02 ± 0.04 g/100 mL) and fructose (0.67 ± 0.02 to 0.98 ± 0.04 g/100 mL) contents.

Previous studies have also found glucose and fructose in xique-xique cladode juice (0.28 ± 0.05 g/100 g and 0.21 ± 0.06 g/100 g, respectively) (Ribeiro et al., 2020) and in passion fruit juice (1.41 ± 0.01 and 1.46 ± 0.01 g/100 g, respectively) (Ramaiya et al., 2012), which have shown that xique-xique cladode juice has slightly lower sugar content than passion fruit juice. Glucose and fructose contents found in formulated beverages could be attributed to the combination of xique-xique cladode and passion fruit juices, as well as to other ingredients used in their preparation, especially sugar cane syrup.

Organic acids play an important role in taste, flavor and consumer acceptance of fruit beverages. Citric, succinic, malic and lactic acids were the organic acids found in examined beverage formulations (Table 3). Citric acid was the major organic acid regardless of the

examined beverage formulation (0.72 - 1.12 g/100 mL). Overall, the contents of citric acid decreased as the concentration of xique-xique juice increased in beverage formulations, indicating that passion fruit juice should be the main source of citric acid in these products.

Regarding the lactic acid contents, a significant difference was found among beverage formulations on day 21 of storage, where B40 and B50 had the highest lactic acid contents (0.03 ± 0.00 g/100 mL). Lactic acid is mostly produced by lactic acid bacteria (LAB) and its production occurs naturally in a variety of dairy, meat and plant food products, with an important role as a natural biopreservative due to its well-known antimicrobial effects (Schnurer & Magnusson, 2005). No difference was found ($p \geq 0.05$) for malic and succinic acid contents among examined beverage formulations. Overall, the contents of organic acids in formulated beverages did not vary during the measured storage time ($p \geq 0.05$).

3.3 Total contents of carotenoids, flavonoids and phenolic compounds of beverages

Among the examined beverage formulations, B50 had the highest contents of total phenolic compounds during storage (115.66 ± 0.10 to 68.49 ± 0.01 mg EGA/100 mL), while CB had the lowest contents (59.06 ± 0.10 to 40.19 ± 0.00 mg EGA/100 mL). Therefore, the higher the concentration of xique-xique cladode juice in beverage formulations the higher was the total phenolic content ($p < 0.05$) (Fig. 1A). Phenolic compounds are originated from a class of secondary metabolites in plants, with a variety of bioactivities beneficial to human health, outstanding their antioxidant activities (Shahidi & Ambigaipalan, 2015). Different phenolic compounds have been found in xique-xique cladode juice, which have been linked to anti-inflammatory and antioxidant effects in acetic acid-induced colitis in animal models (Assis et al., 2019), reinforcing the great functional potential of this product.

A decrease ($p < 0.05$) in total phenolic compound contents was found during storage in all examined beverage formulations (Fig. 1A). A decrease in total phenolic compounds was

also found in pasteurized orange passion during refrigeration storage (Reis, Facco, Flôres & Rios, 2018). This reduction in total phenolic compound contents in formulated beverages, even under low temperature storage, could be related to the high susceptibility of these compounds to chemical reactions and enzymatic oxidation (Wang, Xie & Sun, 2021).

The B50 formulation had the highest content of total flavonoids on day 1 of storage (2.15 ± 0.00 mg EC/100 mL); however, this formulation had a lower content of total flavonoids ($p < 0.05$) on day 21 of storage when compared to other beverage formulations (1.39 ± 0.01 mg CE/100 mL), although it still had a considerable flavonoid concentration (Fig. 1B). Flavonoids are a class of phenolic compounds with antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activities (Shahidi & Ambigaipalan, 2015; Maciel et al., 2016). Early studies had also found flavonoids in xique-xique cladode ethanol extract (Maciel et al., 2016) and juice (Assis et al., 2019), as well as in other *Pilosocereus* species (Gonçalves et al., 2015). A decrease in flavonoid contents during refrigeration storage was also found in a mixed beverage with hibiscus and coconut water (Castro et al., 2021).

Similar to total phenolic compounds, carotenoid content increased as the concentration of xique-xique cladode juice used in beverage formulation increased, where B50 had the highest total carotenoid contents (59.27 ± 0.00 to 51.51 ± 0.00 $\mu\text{g}/100$ mL). Carotenoids, also known as provitamin A, play an important role in antioxidant and immune system activity. The consumption of carotenoid-rich foods is an important dietary aspect to be controlled, since it is a nutrient not synthesized by human body (Silveira et al., 2019). There is no data in available literature regarding the determination of carotenoids in xique-xique cladodes or derived-products. Total carotenoid contents decreased ($p < 0.05$) during storage regardless of the examined beverage formulation (Fig. 1C). Losses in carotenoid contents in fruit-based beverages have been shown to depend usually on the fruit maturity stage, as well as on storage

and process conditions, being the susceptibility to oxidation the main cause for these losses (Peña, Salvia-Trujillo, Rojas-Grau, & Martín-Belloso, 2011).

3.4 Phenolic compound profile of beverages

The phenolic compound profile identified in formulated beverages is shown in Table 4. Flavanones, flavonols, flavanols, anthocyanins hydroxybenzoic acids, hydroxynamic acids and polyphenols were found in beverage formulations during refrigerated storage, totaling 18 phenolic compounds. Flavanones were found at the lowest contents and only CB and B30 had hesperidin in their composition. Naringenin was found in all beverage formulations on day 1 of storage, but this compound was found only in B30 up to day 14 of storage.

Myricetin, epigallocatechin gallate, epicatechin gallate, kaempferol and procyanidin A2 were the most prevalent phenolic compounds in beverage formulations. Myricetin was the major phenolic compound found in beverage formulations and its contents did not differ among them ($p \geq 0.05$). CB had higher contents of syringic acid, epicatechin gallate and epicatechins when compared to B50, indicating that these compounds could be mostly attributed to passion fruit juice. Presence of epicatechin and syringic acid was previously found in *P. edulis* fruit pulp (Santos et al., 2021), which is in agreement with results of this study.

The B50 formulation had higher procyanidin A2 content (0.15 ± 0.00 to 0.13 ± 0.00 mg/100 g) when compared to CB (0.13 ± 0.00 to 0.12 ± 0.01 mg/100 g), indicating that this compound could be found in higher contents in xique-xique cladode juice. Procyanidins are phytoalexins found in vegetables and fruits, being related to antioxidant, anticancer, antibacterial, anti-inflammatory, cardioprotective and immunomodulatory effects (Taeye, Caullet, Evina & Collin, 2017).

In general, the contents of phenolic compounds found in examined beverage formulations had few variations during storage. Still, most of the phenolic compounds did not

have significant content variations among examined beverage formulations. These results could be in disagreement with results of total phenolic contents determined with Folin-Ciocalteu reagent (FCR) method, where the examined beverage formulations, especially B50, had higher total phenolic contents when compared to CB. An early study also found higher contents of phenolic compounds when determined by FCR method than those when determined by HPLC, being suggested that such difference could be due to reaction of Folin-Ciocalteu reagent not only with phenolic compounds, which could affect the results of this determination (Gironés-Vilaplana, Mena, García-Viguera, & Moreno, 2012). However, it should be also considered that, in the present study, the chromatograms had peaks not identified due to a limitation in number of available external standards, which may have undervalued the contents of phenolic compounds determined by HPLC method in examined beverage formulations.

3.5 Antioxidant activity of beverages

Regarding the antioxidant activity determined with either FRAP or ABTS method, the beverage formulations with xique-xique cladode juice had higher antioxidant activity ($p < 0.05$) when compared to CB (Fig. 2). When determined by FRAP method, the formulations B50 and B40 had the highest antioxidant activities ($p < 0.05$), both measuring 0.394 ± 0.00 $\mu\text{mol Trolox/mL}$ on day 1 of storage and 0.331 and 0.336 ± 0.00 $\mu\text{mol Trolox/mL}$, respectively, on day 21 of storage; CB had values ranging from 0.344 to 0.297 ± 0.00 $\mu\text{mol Trolox/mL}$ during storage. Similar results were found with ABTS assay, where B50 had the higher radical scavenging activity on days 1 and 7 of storage (0.840 and 0.810 ± 0.00 $\mu\text{mol Trolox/mL}$, respectively), while B40 had the higher radical scavenging activity on days 14 and 21 of storage (0.810 and 0.770 ± 0.00 $\mu\text{mol Trolox/mL}$, respectively). CB had lower antioxidant activities ranging from 0.680 and 0.620 ± 0.00 $\mu\text{mol Trolox/mL}$ ($p < 0.05$).

These results are in agreement with an early study that found free-radical scavenging activity in ethanol extracts of xique-xique, where extracts from fruits and cladodes had the highest activities in both FRAP and ABTS assays (Maciel et al., 2016). The antioxidant activity decreased ($p < 0.05$) in examined beverage formulations during storage when measured by FRAP and ABTS method. The decrease in antioxidant activity during refrigerated storage should be expected, since this activity could be mostly attributed to the presence of bioactive components (e.g., vitamins and phenolic compounds), which are usually thermosensitive and susceptible to oxidation (Gironés-Vilaplana, Mena, García-Viguera & Moreno, 2012).

3.6 Correlation between antioxidant activity and bioactive compounds in beverages

The correlation between antioxidant activity (ABTS and FRAP), bioactive compounds (carotenoids, flavonoids and phenolic compounds) and the four formulate beverages during refrigeration storage is shown in Fig. 3. Data variance was explained by 99.90% for PC1 and 0.07% for PC2. Strongest negative correlation with PC2 was found for total flavonoids, while the weakest positive correlation was found to total carotenoids. ABTS had a strong positive correlation with PC2. Total phenolic compounds had a strong positive correlation with PC1, while FRAP had a very strong positive correlation with PC1 and PC2.

Possibly, CB formulation (shown as yellow) moved away from total phenolic contents and total carotenoids, which may confirm results shown in Fig. 1 where this formulation had the lowest content for these compounds. Beverages formulated with xique-xique cladode juice (B30, B40 and B50) are closer to total phenolic and carotenoid contents and antioxidant activity assays. As the storage time passed, these formulations moved away from total phenolic and total flavonoid contents, but they stayed in relation to total carotenoid contents, which were the bioactive compound less affected by storage time.

Regarding correlations among antioxidant assays and bioactive compounds, for ABTS method, the strongest positive correlation was found for total carotenoids ($r = 0.81$), followed by total phenolics ($r = 0.80$) and total flavonoids ($r = 0.68$). As for FRAP, total phenolics and total flavonoids were strongly positively correlated ($r = 0.85$), while total carotenoids had a lower correlation ($r = 0.66$).

Therefore, these correlations show that antioxidant activity measured by ABTS method was more affected by total carotenoid and total phenolic contents, while antioxidant activity measured by FRAP was more affected by flavonoid and total phenolic contents. These results could explain the higher antioxidant activities measured with ABTS and FRAP found for formulations with xique-xique cladode juice, mainly B40 and B50, which had the best results for total phenolic compounds, total flavonoids and total carotenoids among the formulated beverages.

4. Conclusion

The results of this study indicated significant variations in examined physicochemical and phytochemical parameters among the four beverages formulated through storage time, where beverages with xique-xique cladode juice had lower acidity, total soluble solids and total sugar contents when compared to CB. Beverages formulated with xique-xique cladode juice had overall an increased content of total flavonoids, total carotenoids and total phenolic compounds, as well as a higher antioxidant activity when compared to CB during 21 days of refrigeration storage. The beverage formulation with the highest concentration of xique-xique cladode juice had the best results regarding contents of total ash, total flavonoids, total carotenoids and total phenolic compounds and antioxidant activity, indicating its potential as a new functional mixed beverage. Further investigations, such as *in vivo* analysis, could improve the development of the proposed xique-xique cladode mixed beverages and their insertion in market as a potentially functional product with health-related properties.

Acknowledgment

Authors thank the CAPES (Brazil) for partial funding of this research (Finance code 001).

Author contributions

Julia Mariano Caju de Oliveira: Conceptualization, Methodology, Formal Analysis, Writing - Original Draft Preparation and Writing - Review and Editing. **Evandro Leite de Souza:** Conceptualization, Data Curation, Writing - Original Draft Preparation and Writing - Review and Editing, Supervision. **Kaíque Yago Gervazio de Lima:** Methodology and Formal Analysis. **Marcos dos Santos Lima:** Methodology and Formal Analysis. **Vanessa Bordin Viera:** Methodology and Formal Analysis. **Rita de Cássia Ramos do Egypto Queiroga:** Conceptualization, Data Curation, Writing - Original Draft Preparation and Writing - Review and Editing, Supervision. **Maria Elieidy Gomes de Oliveira:** Conceptualization, Data Curation, Writing - Original Draft Preparation, Writing - Review and Editing, Supervision.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Albuquerque, U. P., Medeiros, P. M., Almeida, A. L. S., Monteiro, J. M., Lins Neto, E. M. F., Melo, J. G., & Santos, J. P. (2007). Medicinal plants of the *caatinga* (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. *Journal of Ethnopharmacology*, 114, 325-354. <http://doi.org/10.1016/j.jep.2007.08.017>
- Almeida, C. A., Figueirêdo, R. M. F., Queiroz, A. J. M., & Oliveira, F. M. N. (2007). Physical and chemical characteristics of xiquexique pulps. *Revista de Ciências Agronômicas*, 38, 440-443. [In portuguese]
- Assis, P. O. A., Guerra, G. C. B., Araújo, D. F. S., Andrade, L. F. L. I., Araújo, A. A., Araújo Júnior, R. F., ... & Queiroga, R. C. R. E. (2019). Intestinal anti-inflammatory activity of xique-xique (*Pilosocereus gounellei* A. Weber ex K. Schum. Bly. Ex Rowl) juice on acetic acid-induced colitis in rats. *Food & Function*, 10, 7275-7290. <http://doi.org/10.1039/c9fo00920e>

- Association of Official Analytical Chemists – AOAC. (2016). Official methods of analysis of A.O.A.C. *International, United States, 20th ed.*
- Baccouche, A., Ennouri, M., Felfould, I., & Attia, H. (2013). A physical stability study of whey-based prickly pear beverage. *Food Hydrocolloids*, 33, 234-244.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.03.007>
- Bader-Ul-Ain, H., Abbas, M., Saeed, F., Khalid, S., & Suleria, H. A. R. (2019). Functional nonalcoholic beverages: a global trend toward a healthy life. In: Grumezescu, A. & Holban, A. M. *Non-alcoholic beverages*. Elsevier, 3, 73-105.
- Carvalho, P. O. A. A., Guerra, G. C. B., Borges, G. S. C., Bezerril, F. F., Sampaio, K. B., Ribeiro, T. S., ... & Queiroga, R. C. R. E. (2021). Nutritional potential and bioactive compounds of xique-xique juice: an unconventional food plant from Semiarid Brazilian. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45, 1-10.
<https://doi.org/10.1111/jfpp.15265>
- Castro, J. M. C., Alves, C. A. N., Santos, K. L., Silva, E. O., Araújo, I. M. S. & Vasconcelos, L. B. (2021). Elaboration of a mixed beverage from hibiscus and coconut water: an evaluation of bioactive and sensory properties. *International Journal of Gastronomic and Food Science*, 23, 100284. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100284>
- Coelho, E. M., Padilha, C. V. S., Miskinis, G. A., Sá, A. G. B., Pereira, G. E., Azevêdo, L. C., & Lima, M. S. (2018). Simultaneous analysis of sugars and organic acids in wine and grape juices by HPLC: method validation and characterization of products from northeast Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66, 160-167.
<http://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.12.017>
- Dutra, M. C. P., Rodrigues, L. L., Oliveira, D., Pereira, G. E., & Lima, M. S. (2018). Integrated analyses of phenolic compounds and minerals of Brazilian organic and conventional grape juices and wines: validation of a method for determination of Cu, Fe and Mn. *Food Chemistry*, 269, 157–165.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.014>
- Folch, J., Less, M., & Stanley, S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.
- Gironés-Vilaplana, A., Mena, P., García-Viguera, C., & Moreno, D. A. (2012). A novel beverage rich in antioxidant phenolics: maqui berry (*Aristotelia chilensis*) and lemon juice. *LWT-Food Science and Technology*, 47, 279-286.
<http://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.01.020>
- Gonçalves, A. S. M., Peixe, R. G., Sato, A., Muzitano, M. F., Souza, R. O. M. A., Machado, T. B., ...Leal, I. C. R. (2015). *Pilosocereus arrabidae* (Byles & Rowley) of the Grumari Sandbank, RJ, Brazil: physical, Chemical characterizations and antioxidant activities correlated to detection of flavonoids. *Food Research International*, 70, 110-117.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.10.009>
- Granato, D., Branco, G. F., Nazzaro, F., Cruz, A. D., & Faria, J. A. F. (2010). Functional foods and non-dairy probiotic food development: trends, concepts, and products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 292-302.
<https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00110.x>
- Karaffa, L. & Kubicek, C. P. (2020). Production of organic acids by fungi. *Reference Module in Life Sciences*, Elsevier. <http://doi.org/10.1016/b978-0-12-809633-8.21066-2>
- Kausar, H., Saeed, S., Ahmad, M. M., & Salam, A. (2012). Studies on the development and storage stability of cucumber-melon functional drink. *Journal of Agricultural Research*, 50, 239-248. <http://doi.org/10.13140/RG.2.2.35674.18886>
- Kieling, D. D. K., Barbosa-Canóvas, G. V., Prudencio, S. H. (2019). Effects of high pressure processing on the physicochemical and microbiological parameters, bioactive compounds

- and antioxidant activity of a lemongrass-lime mixed beverage. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 409-419. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3502-6>
- Lichtenthaler, H. K. & Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1, F4.3.1 – F4.3.8. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>
- Liu, M., Li, X.Q., Weber, C., Lee, C.Y., Brown, J., & Liu, R.H. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2926–2930. <https://doi.org/10.1021/jf0111209>
- Lucena, C. M., Costa, G. M., Sousa, R. F., Carvalho, T. K. N., Almeida Marreiros, N., Alves, C. A. B., ... & Lucena, R. F. P. (2012). Local knowledge on cacti in rural communities in mesoregion of sertão of Paraíba (Northeast, Brazil). *Biotemas*, 25, 281-291. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2012v25n3p281> [In portuguese]
- Lucena, C. M., Lucena, R. F. P., Costa, G. M., Carvalho, T. K. N., Silva Costa, G. G., Nóbrega Alves, R. R., ... & Nunes, E. N. (2013). Use and knowledge of Cactaceae in Northeastern Brazil. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 9, 1-11. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-9-62>
- Lucena, C. M., Carvalho, T. K., Ribeiro, J. E., Quirino, Z. G., Casas, A., & Lucena, R. F. P. (2015). Traditional botanical knowledge about the cactus in the semiarid of Brazil. *Gaia Scientia*, 9, 77-90. [In portuguese]
- Maciel, J. K. S., Chavez, O. S., Brito Filho, S. G., Telles, Y. C. F., Fernandes, M. G., Assis, T. S., ... & Souza, M. F. V. (2016). New alcamide and anti-oxidant activity of *Pilosocereus gounellei* A. Weber ex K. Schum. Bly. ex Rowl. (Cactaceae). *Molecules*, 21, 1-13.
- Maia, G. A., Silva, L. M. R., Prado, G. M., Fonseca, A. V. V., Sousa, P. H. M. & Figueiredo, R. W. (2019). Development of mixed beverages based on tropical fruits. In Grumezescu, A. & Holban, A. M. *Non-alcoholic Beverages*. Elsevier, 5, 129-162.
- Market Research. (2018). Global health beverage market - analysis by type of beverage, by sub-types, by sales channel (online, offline), by region, by country. Available at: www.marketresearch.com/Food-Beverage-c84/Beverages-c165/ (Accessed: January 2021).
- Mishra, L. K. & Sangma, D. (2017). Quality attributes, phytochemical profile and storage stability studies of functional ready to serve (RTS) drink made from blend of *Aloe vera*, sweet lime, amla and ginger. *Journal of Food Science Technology*, 54, 761-769. <http://doi.org/10.1007/s13197-017-2516-9>
- Monteiro, S. S., Beserra, Y. A. S., Oliveira, H. M. L. & Pasquali, M. A. D. B. (2020). Production of probiotic passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. Flavicarpa Deg.) drink using *Lactobacillus reuteri* and microencapsulation via spray drying. *Foods*, 9, 335. <https://doi.org/10.3390/foods9030335>
- Montemurro, M., Pontonio, E., Coda, R., & Rizzello, C. G. (2021). Plant-based alternatives to yogurt: state-of-the-art and perspectives of new biotechnological challenges. *Foods*, 10, 316. <https://doi.org/10.3390/foods10020316>
- Nazir, M., Arif, S., Khan, R. S., Nazir, W., Khalid, N., & Maqsood, S. (2019). Opportunities and challenges for functional and medicinal beverages: current and future trends. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 513-526. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.011>
- Nogueira, F. S., Ferreira, K. S., Carneiro Júnior, J. B., & Passoni, L. C. (2009). Minerals in sugar cane syrup and cane juice. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29, 727-731. [In portuguese] <http://doi.org/10.1590/S0101-20612009000400005>
- Oliveira, A. M., Luna Freire, M. O., Silva, W. A. V., Ferreira, M. R. A., Paiva, P. M. G., Soares, L. A. L., ... & Napoleão, T. H. (2018). Saline extract of *Pilosocereus gounellei* stem has antinociceptive effect in mice without showing acute toxicity and altering motor

- coordination. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 95, 289-297.
<http://doi.org/10.1016/j.yrtph.2018.04.004>
- Oliveira, A. M., Silva, W. A. V., Ferreira, M. R. A., Paiva, P. M. G., Medeiros, P. L., Soares, L. A. L., ... & Napoleão, T. H. (2019). Assessment of 28-day oral toxicity and antipyretic activity of the saline extract from *Pilosocereus gounellei* (Cactaceae) stem in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 234, 96-105. <http://doi.org/10.1016/j.jep.2019.01.036>
- Padilha, C. V. S., Miskinis, G. A., de Souza, M. E. A. O., Pereira, G. E., de Oliveira, D., Bordignon-Luiz, M. T., & dos Santos Lima, M. (2017). Rapid determination of flavonoids and phenolic acids in grape juices and wines by RP-HPLC/DAD: Method validation and characterization of commercial products of the new Brazilian varieties of grape. *Food Chemistry*, 228, 106-115. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.137>
- Peña, M. M., Salvia-Trujillo, L., Rojas-Grau, M. A., & Martín-Belloso, O. (2011). Changes on phenolic and carotenoid composition of high intensity pulsed electric field and thermally treated fruit juice-soymilk beverages during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 129, 982-990. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.058>
- Ramaiya, S. D., Bujang, J. S., Zakaria, M. H., King, W. S. & Sahrir, M. A. S. (2012). Sugars, ascorbic acid, total phenolic content and total antioxidant activity in passion fruit (*Passiflora*) cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 1198-1205. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5876>
- Ribeiro, T. S., Sampaio, K. B., Menezes, F. N. D. D., Assis, P. O. A., Lima, M. S., Oliveira, ... & Queiroga, R. C. R. E. (2020). *In vitro* evaluation of potential prebiotic effects of a freeze-dried juice from *Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum. Bly. Ex Rowl) cladodes, an unconventional edible plant from Caatinga biome. *3 Biotech*, 10, 1-9. <http://doi.org/10.1007/s13205-020-02442-8>
- Reis, L. C. R., Facco, E. M. P., Flôres, S. H., & Rios, A. O. (2018). Stability of functional compounds and antioxidant activity of fresh and pasteurized orange passion fruit (*Passiflora caerulea*) during cold storage. *Food Research International*, 106, 481-486. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.019>
- Rocha, I. F. O. & Bolini, H. M. A. (2014). Passion fruit juice with different sweeteners: sensory profile by descriptive analysis and acceptance. *Food Science & Nutrition*, 3, 129-139. <http://doi.org/10.1002/fsn3.195>
- Rockenbach, I. I., Rodrigues, E., Gonzaga, L. V., Caliar, V., Genovese, M. I., Gonçalves, A. E. D. S. S. & Fett, R. (2011). Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. *Food Chemistry*, 127, 174-179. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.137>
- Roque, A. A., Rocha, R. M., Loiola, M. I. B. (2010). Use and diversity of medicinal plants of Caatinga in rural community of Laginhas, municipality of Caicó, Rio Grande do Norte (brazilian Northeast). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 12, 31-42. [In portuguese] <http://doi.org/10.1590/S1516-05722010000100006>
- Santos, T. B., Araújo, F. P., Neto, A. F., Freitas, S. T., Araújo, J. S., Vilar, S. B. O., Araújo, A. J. B., & Lima, M. S. (2021). Phytochemical compounds and antioxidant activity of the pulp of two Brazilian passion fruit species: *Passiflora cincinnata* Mast. and *Passiflora Edulis* Sims. *International Journal of Fruit Science*, 1-15. <https://doi.org/10.1080/15538362.2021.1872050>
- Sariburun, E., Sahin, S., Demir, C., Turkbent, C. & Uylaser, V. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of raspberry cultivars. *Journal Food Science*, 75, 328-335. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01571.x>
- Schnurer, J. & Magnusson, J. (2005). Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 70-78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.014>

- Shahidi, F. & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenols in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects – a review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820-897. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- Silva, A. A., Dantas, R. L., Vêras, C. S., Alves, R. E., & Silva, S. M. (2018). Physical and physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of xiquexique (*Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum.)) fruit. *Ciências Agrárias*, 29, 1969-1980. <http://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n5p196>
- Silveira, M. R., Coutinho, N. M., Esmerino, E. A., Moraes, J., Fernandes, L. M., Pimentel, T. C., ... & Cruz, A. G. (2019). Guava-flavored whey beverage processed by cold plasma technology: bioactive compounds, fatty acid profile and volatile compounds. *Food Chemistry*, 279, 120-127. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.128>
- Taeye, C. D., Caullet, G., Evina, V. J. E., & Collin, S. (2017). Procyanidin A2 and its degradation products in raw, fermented, and roasted cocoa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65, 1715-1723. <http://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05262>
- Wang, J., Xie, B. & Sun, Z. (2021). Quality parameters and bioactive compound bioaccessibility changes in probiotics fermented mango juice using ultraviolet-assisted ultrasonic pre-treatment during cold storage. *LWT*, 137, 110438. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110438>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)

Figure captions

Figure 1. Contents of bioactive compounds in formulated beverages during 21 days of refrigeration storage (4 °C). (A) Total phenolic compounds, (B) total flavonoid and (C) total carotenoid contents in four formulated beverages. Error bars represent the standard deviation of the mean (n = 3). Different lowercase letters on the same storage time differ ($p < 0.05$) among beverage formulations and different uppercase letters for the same beverage formulation differ ($p < 0.05$) among different storage time periods based on Tukey's test. CB – control beverage; B30 – beverage with 30% of xique-xique cladode juice; B40 – beverage with 40% of xique-xique cladode juice; B50 – beverage with 50% of xique-xique cladode juice.

Figure 2. Antioxidant activity in formulated beverages during 21 days of refrigeration storage (4 °C) by (A) ferric reducing antioxidant power (FRAP, $\mu\text{mol Trolox/mL}$) and (B) ABTS radical cation scavenging activity ($\mu\text{mol Trolox equivalent/mL}$). Error bars represent the standard deviation of the mean (n = 3). Different lowercase letters on the same storage time period differ ($p < 0.05$) among formulated beverages and different uppercase letters on the same beverage formulation differ ($p < 0.05$) among different storage time periods based on Tukey's test. CB – control beverage; B30 – beverage with 30% of xique-xique cladode juice; B40 – beverage with 40% of xique-xique cladode juice; B50 – beverage with 50% of xique-xique cladode juice.

Figure 3. Principal Component Analysis of contents total carotenoids, total flavonoids and total phenolic compounds and antioxidant activity (FRAP and ABTS) of formulated beverages (n = 3) on days 1, 14 and 21 of refrigeration storage (T1, T14 and T21, respectively) (4 °C). CB – control beverage; B30 – beverage with 30% of xique-xique cladode juice; B40 – beverage with 40% of xique-xique cladode juice; B50 – beverage with 50% of xique-xique cladode juice.

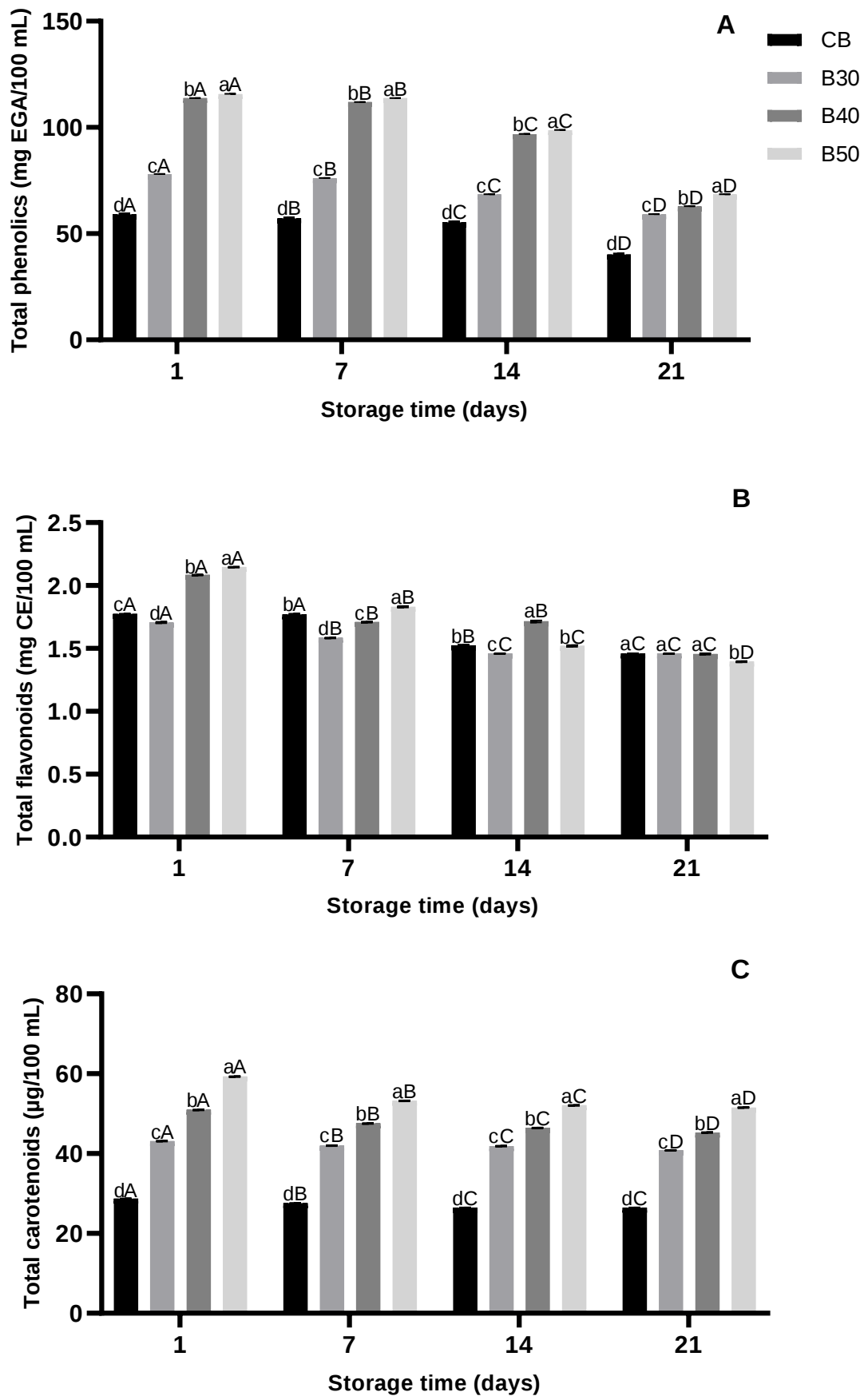


Fig. 1.

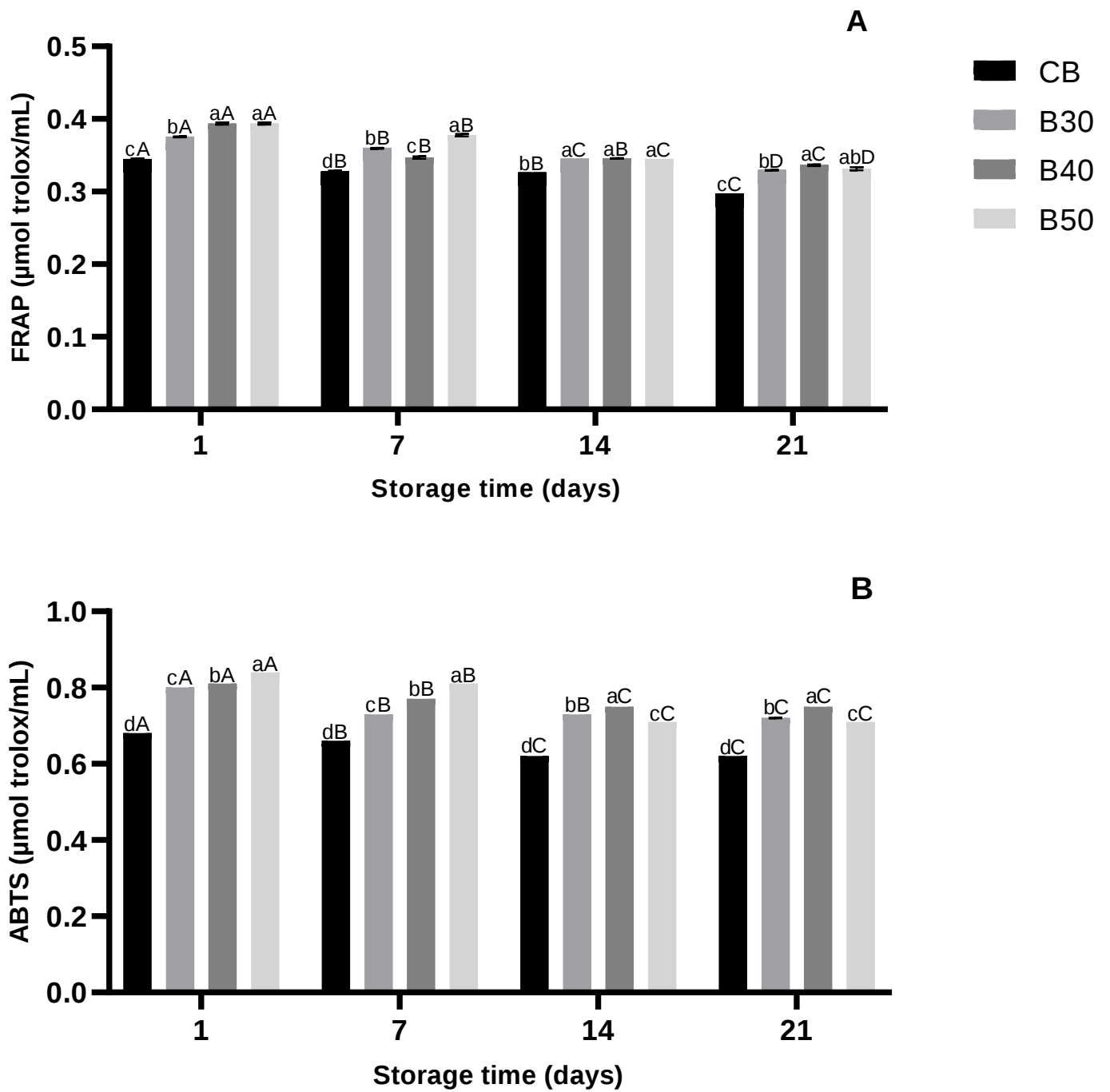


Fig. 2.

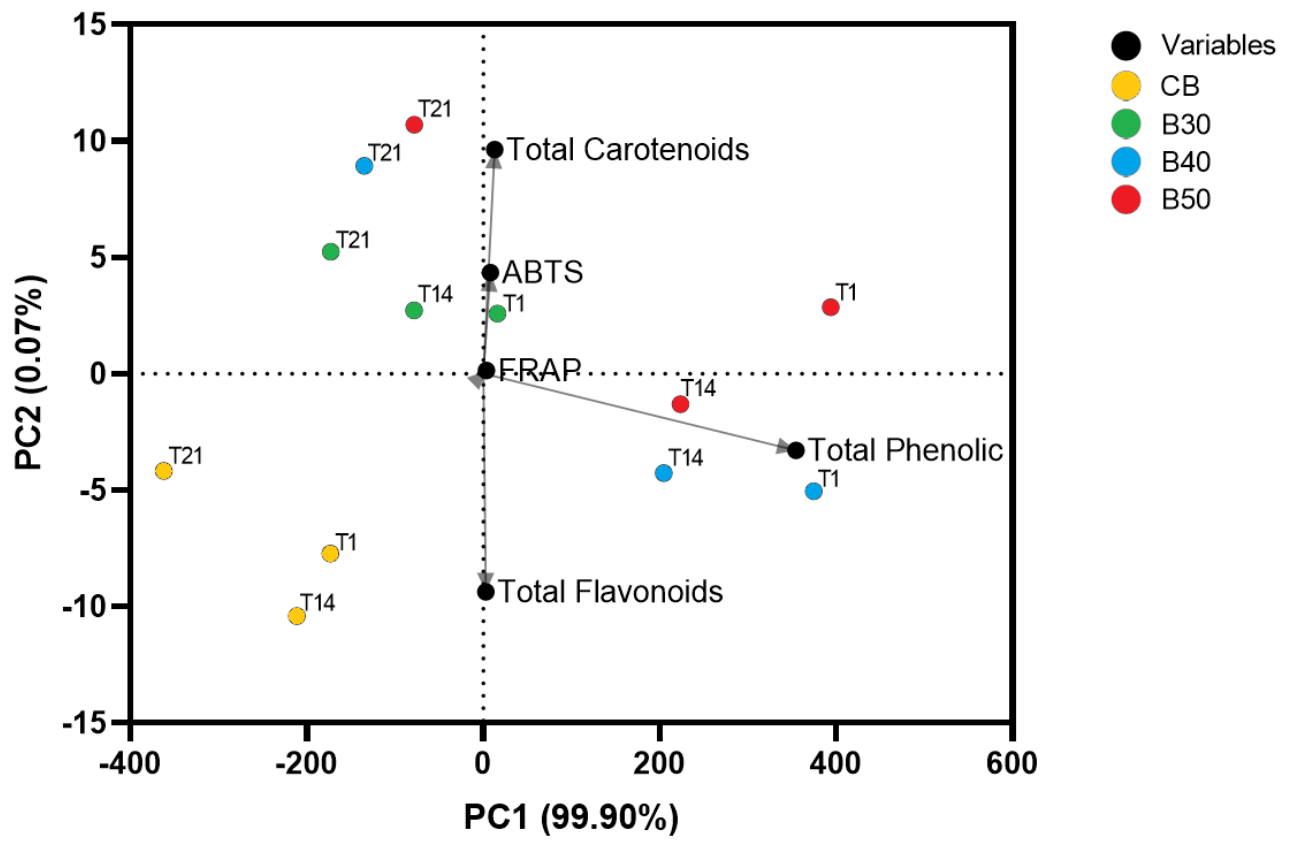


Fig. 3.

Table 1. Formulation of beverages with xique-xique cladode, passion fruit and lime juices and sugar cane syrup.

Ingredients	Formulations*			
	CB	B30	B40	B50
Xique-xique juice	-	30%	40%	50%
Passion fruit juice	80%	50%	40%	30%
Lime juice	15%	15%	15%	15%
Sugar cane syrup	5%	5%	5%	5%

* Values presented in percentage in relation to beverages total volume. CB - control beverage; B30 – beverage with 30% of xique-xique juice; B40 – beverage with 40% of xique-xique juice; and B50 - beverage with 50% of xique-xique juice.

Table 2. Physical and physicochemical parameters (mean $\pm$ standard deviation) of formulated beverages during 21 days of refrigerated storage (4 °C).

Parameters	Time (days)	Formulations			
		CB	B30	B40	B50
pH	1	3.14 $\pm$ 0.01 ^{aA}	3.19 $\pm$ 0.00 ^{aA}	3.19 $\pm$ 0.01 ^{aA}	3.09 $\pm$ 0.01 ^{aA}
	7	2.93 $\pm$ 0.01 ^{bB}	3.00 $\pm$ 0.01 ^{abA}	3.01 $\pm$ 0.01 ^{aAB}	2.99 $\pm$ 0.01 ^{abAB}
	14	2.86 $\pm$ 0.00 ^{aB}	2.92 $\pm$ 0.02 ^{aAB}	2.95 $\pm$ 0.01 ^{aBC}	2.97 $\pm$ 0.01 ^{aBC}
	21	2.80 $\pm$ 0.00 ^{bC}	2.90 $\pm$ 0.01 ^{abB}	2.93 $\pm$ 0.01 ^{aC}	2.91 $\pm$ 0.01 ^{abC}
TA* (g/100 mL)	1	11.66 $\pm$ 0.13 ^{aB}	9.42 $\pm$ 0.08 ^{bB}	8.66 $\pm$ 0.08 ^{cB}	7.99 $\pm$ 0.13 ^{dA}
	7	12.21 $\pm$ 0.26 ^{aAB}	9.59 $\pm$ 0.07 ^{bAB}	8.83 $\pm$ 0.07 ^{cAB}	7.90 $\pm$ 0.08 ^{dA}
	14	12.47 $\pm$ 0.27 ^{aAB}	10.27 $\pm$ 0.13 ^{bA}	9.21 $\pm$ 0.19 ^{cAB}	8.66 $\pm$ 0.29 ^{cA}
	21	12.76 $\pm$ 0.27 ^{aA}	10.10 $\pm$ 0.27 ^{bAB}	9.51 $\pm$ 0.13 ^{bA}	9.51 $\pm$ 0.49 ^{bA}
TSS** (°Brix)	1	6.90 $\pm$ 0.01 ^{aB}	5.95 $\pm$ 0.05 ^{bB}	6.10 $\pm$ 0.05 ^{bB}	5.75 $\pm$ 0.05 ^{cC}
	7	7.40 $\pm$ 0.05 ^{aB}	6.95 $\pm$ 0.05 ^{bA}	6.20 $\pm$ 0.10 ^{dB}	6.65 $\pm$ 0.05 ^{cB}
	14	7.85 $\pm$ 0.05 ^{aA}	7.00 $\pm$ 0.10 ^{bA}	6.80 $\pm$ 0.05 ^{bA}	6.80 $\pm$ 0.05 ^{bB}
	21	8.00 $\pm$ 0.05 ^{aA}	7.00 $\pm$ 0.10 ^{cA}	6.95 $\pm$ 0.05 ^{cA}	7.50 $\pm$ 0.05 ^{bA}
Total ash (g/100 mL)	1	0.26 $\pm$ 0.03 ^{bA}	0.39 $\pm$ 0.01 ^{aA}	0.40 $\pm$ 0.04 ^{aAB}	0.47 $\pm$ 0.06 ^{aAB}
	7	0.21 $\pm$ 0.01 ^{bA}	0.35 $\pm$ 0.04 ^{aA}	0.39 $\pm$ 0.02 ^{aAB}	0.42 $\pm$ 0.01 ^{aAB}
	14	0.19 $\pm$ 0.03 ^{bA}	0.31 $\pm$ 0.05 ^{abA}	0.40 $\pm$ 0.02 ^{aA}	0.38 $\pm$ 0.05 ^{aA}
	21	0.16 $\pm$ 0.01 ^{bA}	0.26 $\pm$ 0.06 ^{abA}	0.31 $\pm$ 0.01 ^{aB}	0.30 $\pm$ 0.03 ^{aB}
Total sugars (g/100 mL)	1	9.10 $\pm$ 0.10 ^{aB}	7.97 $\pm$ 0.11 ^{bD}	8.95 $\pm$ 0.10 ^{aB}	8.31 $\pm$ 0.10 ^{bB}
	7	10.24 $\pm$ 0.06 ^{aA}	8.87 $\pm$ 0.03 ^{bC}	9.07 $\pm$ 0.12 ^{bB}	8.98 $\pm$ 0.26 ^{bAB}
	14	10.68 $\pm$ 0.27 ^{aA}	9.12 $\pm$ 0.07 ^{bB}	10.00 $\pm$ 0.18 ^{aA}	9.24 $\pm$ 0.05 ^{bA}
	21	10.70 $\pm$ 0.29 ^{aA}	9.64 $\pm$ 0.10 ^{bA}	10.34 $\pm$ 0.20 ^{aA}	9.80 $\pm$ 0.43 ^{abA}
Proteins (g/100 mL)	1	0.58 $\pm$ 0.01 ^{aA}	0.46 $\pm$ 0.01 ^{bA}	0.46 $\pm$ 0.02 ^{bcA}	0.41 $\pm$ 0.01 ^{cA}
	7	0.55 $\pm$ 0.02 ^{aA}	0.49 $\pm$ 0.04 ^{aA}	0.50 $\pm$ 0.03 ^{aA}	0.45 $\pm$ 0.05 ^{aA}
	14	0.51 $\pm$ 0.02 ^{aA}	0.46 $\pm$ 0.06 ^{aA}	0.45 $\pm$ 0.05 ^{aA}	0.45 $\pm$ 0.06 ^{aA}
	21	0.56 $\pm$ 0.05 ^{aA}	0.49 $\pm$ 0.04 ^{aA}	0.47 $\pm$ 0.07 ^{aA}	0.46 $\pm$ 0.05 ^{aA}
Lipids (g/100 mL)	1	0.97 $\pm$ 0.14 ^{aA}	0.67 $\pm$ 0.14 ^{abA}	0.68 $\pm$ 0.18 ^{abA}	0.42 $\pm$ 0.02 ^{bA}
	7	0.91 $\pm$ 0.10 ^{aA}	0.77 $\pm$ 0.33 ^{aA}	0.68 $\pm$ 0.33 ^{aA}	0.48 $\pm$ 0.37 ^{aA}
	14	0.99 $\pm$ 0.07 ^{aA}	0.71 $\pm$ 0.11 ^{abA}	0.62 $\pm$ 0.10 ^{bA}	0.48 $\pm$ 0.29 ^{abA}
	21	1.00 $\pm$ 0.01 ^{aA}	0.80 $\pm$ 0.27 ^{aA}	0.70 $\pm$ 0.35 ^{aA}	0.48 $\pm$ 0.37 ^{aA}

Results are expressed as average (n = 3) $\pm$ standard deviation.

*TA (Tritatable Acidity) is expressed as g citric acid per 100 mL of beverage.

**TSS (Total Soluble Solids) is expressed as °Brix (25 °C).

a–d: mean $\pm$ standard deviation with different lowercase letters on the same storage time differ (p<0.05) among beverage formulations, based on Tukey's test.

A-D: mean $\pm$ standard deviation with different uppercase letters on the same beverage formulation differ (p<0.05) among different storage time periods, based on Tukey's test.

Table 3. Soluble sugars and organic acids content (mean $\pm$ standard deviation) of formulated beverages during 21 days of refrigerated storage (4 °C).

Parameters (g/100 mL)	Time (days)	Beverages			
		CB	B30	B40	B50
<i>Soluble sugars</i>					
Glucose	1	1.00 ±0.15 ^{abA}	0.68 ±0.07 ^{abA}	0.55 ±0.01 ^{bB}	0.94 ±0.01 ^{aA}
	14	1.03 ±0.21 ^{abA}	0.83 ±0.02 ^{bA}	0.98 ±0.09 ^{abAB}	1.05 ±0.01 ^{aA}
	21	1.05 ±0.01 ^{aA}	1.02 ±0.11 ^{aA}	1.02 ±0.04 ^{aA}	1.09 ±0.03 ^{aA}
Fructose	1	0.87 ±0.18 ^{aA}	0.75 ±0.07 ^{aA}	0.67 ±0.02 ^{aB}	0.87 ±0.01 ^{aA}
	14	0.97 ±0.04 ^{aA}	0.79 ±0.03 ^{aA}	0.82 ±0.08 ^{aAB}	0.90 ±0.01 ^{aA}
	21	1.04 ±0.15 ^{aA}	0.85 ±0.09 ^{aA}	0.98 ±0.04 ^{aA}	1.03 ±0.04 ^{aA}
<i>Organic Acids</i>					
Citric	1	0.97 ±0.14 ^{aA}	0.83 ±0.06 ^{aA}	0.73 ±0.05 ^{aA}	0.72 ±0.01 ^{aA}
	14	1.01 ±0.09 ^{abA}	0.84 ±0.06 ^{abA}	0.82 ±0.01 ^{aA}	0.74 ±0.01 ^{bA}
	21	1.12 ±0.03 ^{aA}	0.89 ±0.02 ^{bA}	0.82 ±0.02 ^{bA}	0.76 ±0.01 ^{cA}
Malic	1	0.07 ±0.02 ^{aA}	0.07 ±0.01 ^{aA}	0.06 ±0.01 ^{aAB}	0.07 ±0.00 ^{aA}
	14	0.06 ±0.01 ^{aA}	0.06 ±0.02 ^{aA}	0.04 ±0.00 ^{aB}	0.03 ±0.00 ^{aB}
	21	0.09 ±0.00 ^{aA}	0.09 ±0.01 ^{aA}	0.09 ±0.00 ^{aA}	0.06 ±0.00 ^{aA}
Succinic	1	0.04 ±0.01 ^{aA}	0.03 ±0.01 ^{aA}	0.03 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aA}
	14	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aB}
	21	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aAB}
Lactic	1	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aAB}	0.02 ±0.00 ^{aA}
	14	0.03 ±0.02 ^{aA}	0.03 ±0.01 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aB}	0.02 ±0.00 ^{aA}
	21	0.02 ±0.00 ^{bA}	0.02 ±0.00 ^{bA}	0.03 ±0.00 ^{aA}	0.03 ±0.00 ^{aA}

Results are expressed as average (n = 3) $\pm$ standard deviation.

a–d: mean $\pm$ standard deviation with different lowercase letters on the same storage time differ (p<0.05) among beverage formulations, based on Tukey's test.

A–D: mean $\pm$ standard deviation with different uppercase letters on the same beverage formulation differ (p<0.05) among different storage time periods, based on Tukey's test

Table 4. Phenolic compounds (mean $\pm$ standard deviation) identified in formulated beverages during 21 days of storage at 4 °C.

Phenolic compounds (mg/100 g)	Time (days)	Beverages			
		CB	B30	B40	B50
Flavanones					
Hesperidin	1	0.08 ±0.01 ^{aA}	0.05±0.00 ^{aA}	<LOD	<LOD
	14	0.07 ±0.00 ^{aA}	0.05±0.00 ^{aA}	<LOD	<LOD
	21	0.07 ±0.01 ^{aA}	0.05±0.00 ^{aA}	<LOD	<LOD
Naringenin	1	0.02 ±0.00 ^a	0.02±0.00 ^{aA}	0.02±0.00 ^a	0.03 ±0.00 ^a
	14	<LOD	0.02±0.00 ^B	<LOD	<LOD
	21	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Flavonols					
Kaempferol	1	0.13 ±0.02 ^{aA}	0.13±0.00 ^{aA}	0.13±0.00 ^{aA}	0.13 ±0.00 ^{aA}
	14	0.13 ±0.00 ^{aA}	0.12±0.01 ^{aA}	0.13±0.02 ^{aAB}	0.13 ±0.00 ^{aA}
	21	0.13 ±0.01 ^{aA}	0.11±0.01 ^{aA}	0.12±0.01 ^{aB}	0.12 ±0.01 ^{aA}
Myricetin	1	0.37 ±0.05 ^{aA}	0.35±0.00 ^{aA}	0.37±0.06 ^{aA}	0.36 ±0.02 ^{aA}
	14	0.34 ±0.01 ^{aA}	0.32±0.02 ^{aA}	0.35±0.02 ^{aA}	0.36 ±0.00 ^{aA}
	21	0.33 ±0.02 ^{aA}	0.30±0.01 ^{aA}	0.33±0.01 ^{aA}	0.35 ±0.00 ^{aA}
Quercetin	1	0.05 ±0.00 ^{aA}	0.04±0.00 ^{aA}	0.04±0.00 ^{aA}	0.04 ±0.00 ^{aA}
	14	0.05 ±0.00 ^{aA}	0.05±0.01 ^{aA}	0.04±0.00 ^{aAB}	0.04 ±0.00 ^{aA}
	21	0.04 ±0.01 ^{aA}	0.04±0.00 ^{aA}	0.04±0.00 ^{aB}	0.04 ±0.00 ^{aA}
Rutin	1	0.03 ±0.01 ^{aA}	0.03±0.02 ^{aA}	0.04±0.01 ^{aA}	0.05 ±0.00 ^{aA}
	14	0.03 ±0.00 ^{aA}	0.03±0.02 ^{aA}	0.03±0.00 ^{aA}	0.03±0.00 ^{aAB}
	21	0.02 ±0.01 ^{aA}	0.02±0.00 ^{aA}	0.02±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aB}
Hydroxybenzoic acids					
Syringic acid	1	0.03 ±0.01 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}
	14	0.03 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{abA}	0.02 ±0.00 ^{abA}	0.01 ±0.00 ^{bA}
	21	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{abA}	0.01 ±0.00 ^{bA}	0.01 ±0.00 ^{bA}
Hydroxynamic acids					
Caffeic acid	1	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}
	14	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}
	21	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}
Coumaric acid	1	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.01 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}
	14	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}
	21	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aA}
Caftaric acid	1	0.05 ±0.01 ^{aA}	0.05 ±0.00 ^{aA}	0.05 ±0.00 ^{aA}	0.05 ±0.00 ^{aA}
	14	0.05 ±0.00 ^{aA}	0.05 ±0.00 ^{aA}	0.05 ±0.02 ^{aA}	0.05 ±0.00 ^{aA}
	21	0.03 ±0.00 ^{aA}	0.03 ±0.00 ^{aA}	0.04 ±0.00 ^{aA}	0.05 ±0.00 ^{aA}
Chlorogenic acid	1	0.07 ±0.00 ^{abA}	0.07 ±0.00 ^{aA}	0.05 ±0.01 ^{abA}	0.04 ±0.00 ^{bA}
	14	0.07 ±0.01 ^{aAB}	0.05 ±0.00 ^{aA}	0.04 ±0.01 ^{aA}	0.04 ±0.00 ^{aA}
	21	0.06 ±0.00 ^{aB}	0.05 ±0.00 ^{aA}	0.04 ±0.00 ^{abA}	0.04 ±0.00 ^{bA}
Polyphenols					
Trans-resveratrol	1	0.02 ±0.00 ^{abA}	0.02 ±0.00 ^{aAB}	0.02 ±0.00 ^{abAB}	0.02 ±0.00 ^{bA}
	14	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aB}
	21	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{aB}	0.02 ±0.00 ^{aB}	0.02±0.00 ^{aAB}
Cis-resveratrol	1	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aAB}	0.02 ±0.00 ^{aA}
	14	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aAB}	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aA}
	21	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aB}	0.02 ±0.00 ^{aB}	0.02 ±0.00 ^{aA}
Epicatechins gallate	1	0.17 ±0.00 ^{aA}	0.11 ±0.00 ^{abA}	0.10 ±0.00 ^{bA}	0.08 ±0.00 ^{cA}
	14	0.16 ±0.02 ^{aA}	0.10 ±0.00 ^{aB}	0.09 ±0.00 ^{aA}	0.06±0.01 ^{aAB}
	21	0.15 ±0.01 ^{aA}	0.09 ±0.03 ^{abAB}	0.07 ±0.01 ^{abA}	0.05 ±0.00 ^{bB}
Epicatechins	1	0.04 ±0.01 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aA}
	14	0.04 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{abA}	0.02 ±0.00 ^{bA}	0.02 ±0.00 ^{bB}
	21	0.03 ±0.00 ^{aA}	0.02 ±0.00 ^{aA}	0.01 ±0.00 ^{bA}	0.01 ±0.00 ^{bB}
Flavanols					
Epigallocatechin gallate	1	0.25 ±0.05 ^{abAB}	0.16 ±0.00 ^{aAB}	0.15 ±0.03 ^{abA}	0.12 ±0.00 ^{bA}
	14	0.23 ±0.01 ^{aA}	0.14 ±0.01 ^{bA}	0.14 ±0.01 ^{bA}	0.11 ±0.01 ^{bA}
	21	0.18 ±0.01 ^{aB}	0.11 ±0.01 ^{abB}	0.12 ±0.03 ^{abA}	0.09±0.02 ^{bA}
Anthocyanins					

Procyanidin B1	1	0.06 ±0.01 ^{aA}	0.05 ±0.00 ^{aA}	0.06 ±0.01 ^{aA}	0.05 ±0.00 ^{aA}
	14	0.05 ±0.01 ^{aA}	0.04 ±0.00 ^{aA}	0.05 ±0.00 ^{aA}	0.05 ±0.00 ^{aA}
	21	0.05 ±0.00 ^{aA}	0.04 ±0.00 ^{aA}	0.05 ±0.00 ^{aA}	0.05 ±0.00 ^{aA}
Procyanidin A2	1	0.13 ±0.00 ^{cA}	0.14 ±0.00 ^{bA}	0.14 ±0.00 ^{bA}	0.15 ±0.00 ^{aA}
	14	0.13 ±0.00 ^{bAB}	0.13 ±0.01 ^{abA}	0.14 ±0.2 ^{abAB}	0.14 ±0.00 ^{aB}
	21	0.12 ±0.01 ^{bB}	0.12 ±0.00 ^{bB}	0.13 ±0.00 ^{aB}	0.13 ±0.00 ^{aC}

Results are expressed as average (n = 3) ± standard deviation.

a–c: mean ± standard deviation with different lowercase letters on the same storage time differ (p<0.05) among beverage formulations, based on Tukey's test.

A–C: mean ± standard deviation with different uppercase letters on the same beverage formulation differ (p<0.05) among different storage time periods, based on Tukey's test

<LOD: below the limit of detection.