**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Potencial de metabólitos da acerola (*Malpighia emarginata*) como
antioxidantes em diferentes sistemas oxidativos mediados por
radicais livres**

Richtier Gonçalves da Cruz

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Ciências. Área de concentração: Ciência e
Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2017**

Richtier Gonçalves da Cruz
Bacharel em Ciências de Alimentos

**Potencial de metabólitos da acerola (*Malpighia emarginata*)
como antioxidantes em diferentes sistemas oxidativos
mediados por radicais livres**

Orientadora:
Profa. Dra. **THAIS MARIA FERREIRA DE SOUZA VIEIRA**

Co-Orientador:
Prof. Dr. **LAURENT BENEY**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de
Alimentos

**Piracicaba
2017**

RESUMO

Potencial de metabólitos da acerola (*Malpighia emarginata*) como antioxidantes em diferentes sistemas oxidativos mediados por radicais livres

Os antioxidantes naturais extraídos de vegetais são potenciais substitutos aos sintéticos. Entretanto, as pesquisas que avaliem as atividades destes compostos em sistemas *in vivo* e que também elucidem os mecanismos dessas substâncias são escassas. A acerola apresenta consideráveis quantidades de compostos antioxidantes, os quais foram objetivo de estudo deste trabalho. A extração de compostos ativos de frutos de acerola verde e madura foi otimizada e diferentes métodos para avaliação da atividade antioxidante *in vivo*, utilizando *Saccharomyces cerevisiae* como microrganismo modelo, foram aplicados. Foi realizado um estudo da extração de compostos com atividade antioxidante através da metodologia de superfície resposta, identificando os efeitos da concentração de etanol da solução extratora e da temperatura de extração sobre o poder redutor e atividade estabilizadora de radicais ABTS e DPPH dos extratos. Duas estirpes de *S. cerevisiae* foram utilizadas para avaliação da atividade antioxidante *in vivo*: *Wild Type* (WT) e modificada geneticamente (*erg6Δ*). As estirpes apresentam diferença quanto à presença de ergosterol (ERG) e zimosterol (ZIM), esteróis analisados por modelagem molecular para determinação de sua possível atividade antioxidante. Os extratos de acerola verde e madura obtidos sob condições otimizadas, além dos antioxidantes sintéticos BHA (2 e 3-terc-butil-4-hidroxianisol), BHT (Butil Hidroxitolueno) e ácido ascórbico, tiveram sua atividade antioxidante avaliada por meio do estresse oxidativo induzido às células por diferentes reagentes químicos. As técnicas utilizadas para avaliar o efeito dos extratos e dos antioxidantes sintéticos foram a cultivabilidade, oxidação no nível de membrana celular e oxidação intracelular. Por fim, foi avaliado o efeito do processo de microencapsulação por *spray drying* na composição química dos extratos de acerola verde e madura. Através da análise das superfícies respostas foi possível identificar as condições ótimas para a obtenção de extratos, que apresentaram alta atividade antioxidante nos estudos com células de *S. cerevisiae*, com efeito protetor maior ou igual aos antioxidantes BHT e ácido ascórbico. Ainda foi comprovado nos experimentos *in vivo* que em todas as concentrações utilizadas, o BHA, além de não prevenir a oxidação, mostrou-se uma substância deletéria as células, principalmente no meio intracelular. Por meio dos estudos de modelagem molecular foi possível não só prever uma atividade antioxidante para o ERG e ZIM (em menor grau), mas também sugerir o mecanismo de transferência de elétrons seguido por doação de próton. O processo de microencapsulação permitiu a obtenção de um produto à base de extrato de acerola verde promissor para futuras aplicações. Pode-se concluir que é possível obter extratos ricos em compostos com atividade antioxidante a partir de frutos de acerola verdes e maduros e que a *S. cerevisiae* pode ser utilizada como um microrganismo modelo para a análise *in vivo* do efeito de antioxidantes por diferentes técnicas.

Palavras-chave: *Saccharomyces cerevisiae*; Ergosterol; Zimosterol; Atividade antioxidante; Modelagem molecular; Citometria de fluxo; Oxidação intracelular

ABSTRACT

Potential of acerola (*Malpighia emarginata*) metabolites as antioxidants in different oxidative systems mediated by free radicals

Natural antioxidants extracted from plants show potential to replace synthetic ones. However, publications that both evaluates the activities of these compounds in *in vivo* systems and elucidate the chemical characteristics of these substances are scarce and often resorts to techniques that do not necessarily reflect the antioxidant activity in different systems. Acerola fruits have considerable concentrations of antioxidant compounds, so in this study the extraction of natural compounds from green and ripe acerola fruits was optimized and different methods for *in vivo* antioxidant activity evaluation using *Saccharomyces cerevisiae* as model microorganism were performed. Surface response methodology was applied to identify effects of ethanol concentration and temperature during the extraction of antioxidants compounds, using as response the reducing power and the sequestering activity of radicals ABTS and DPPH. Two strains of *S. cerevisiae* were used to evaluate the *in vivo* antioxidant activity: wild Type (WT) and the genetically modified (*erg6Δ*), which had difference in the presence of ergosterol (ERG) and zymosterol (ZYM). These two sterols were analyzed by molecular modelling to evaluate their possible antioxidant activity. Effects of green and ripe acerola fruits extracts, synthetic antioxidants Butylated hydroxyanisole (BHA), Butylated hydroxytoluene (BHT) and ascorbic acid were evaluated on the oxidative stress caused in the cells by different chemical reagents, cell culturability, cell membrane oxidation level and intracellular oxidation. Finally, the effect of the microencapsulation process by spray drying on the chemical composition of the acerola extracts was evaluated. Through the surface response methodology it was possible to determine the optimal conditions to produce acerola extracts rich in phenolic compounds and ascorbic acid. The extracts of acerola showed a high or equal antioxidant activity in the studies with *S. cerevisiae* cells, especially when compared to the synthetic antioxidants BHT and ascorbic acid. It has still been proven in *in vivo* experiments that at the presence of BHA in all concentrations, besides to do not prevent oxidation, proved to be a deleterious substance to cells, mainly in the intracellular studies. Through molecular modeling it was possible to predict an antioxidant activity for ERG and, in a lesser degree, for ZYM by the mechanism of electron transfer followed by proton donation. It was possible to obtain a microencapsulated powder from green acerola extract as a promising product for future food applications. The same conditions applied to mature acerola fruit extracts showed undesirable effect on reduction power and scavenging capacity. The study concludes that it is possible to obtain extracts rich in antioxidants compounds from green and ripe acerola fruits under optimized conditions. *S. cerevisiae* can be used as a model microorganism for *in vivo* analysis of synthetic and natural antioxidants. Finally, the microencapsulation by spray drying was feasible under the conditions of this work only for the green acerola extract.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*; Ergosterol; Zymosterol; Antioxidant activity; Molecular modelling; Flow cytometry; Intracellular oxidation

INTRODUÇÃO

Uma série de antioxidantes estão disponíveis no mercado, sendo estes classificados em sintéticos ou naturais de acordo com sua origem. Os sintéticos são muito utilizados pelas indústrias dos setores alimentício, farmacêutico, cosmético, entre outras, e isso se deve a sua vasta aplicação e eficiência no controle das reações de oxidação, que podem descaracterizar os produtos do ponto de vista sensorial, tecnológico e nutricional. Todavia, nos últimos anos têm-se questionado a inocuidade destes à saúde do consumidor, o que leva a uma tendência em substituí-los por antioxidantes naturais, mesmo não havendo trabalhos suficientes que atestem concentrações seguras de consumo destes.

Uma das possíveis fontes de antioxidantes naturais são as frutas tropicais, cujo consumo é crescente ano após ano. Estas, além de serem fontes de nutrientes essenciais como vitaminas, minerais e fibras, apresentam em sua composição compostos secundários como os ácidos fenólicos, que auxiliam na prevenção de doenças crônico-degenerativas como hipertensão, Alzheimer e diabetes.

Entre as frutas tropicais a acerola se diferencia pela alta concentração de compostos com atividade antioxidante com destaque para o ácido ascórbico. A aceroleira é originária do mar das Antilhas e é cultivada nos Estados Unidos e Japão, onde é amplamente consumida. No Brasil seu plantio em larga escala começou em 1949, sendo que atualmente quase toda produção tem como fim o mercado interno. Ela é conhecida por ser uma planta rústica e resistente, propagando-se com facilidade em várias regiões com diferentes condições climáticas. O interesse pela acerola e os estudos sobre suas potencialidades econômicas só começaram a serem explorados nos anos 40 quando foi descoberto na porção comestível da fruta altos teores de vitamina C.

Diversos trabalhos relatam a presença de quantidades apreciáveis de substâncias fenólicas como as antocianinas, bem como uma elevada atividade antioxidante, em frutos de acerola, similares ou mesmo superiores a outras frutas consideradas importantes fontes desses compostos, tais como uva, açaí, morango, pitanga e manga.

No entanto, são escassos os trabalhos que avaliaram o potencial destes antioxidantes em sistemas biológicos e em diferentes condições de oxidação comparando-os com antioxidantes sintéticos.

Neste contexto o objetivo do presente trabalho foi realizar um estudo de compostos com atividade antioxidante de frutos verdes e maduros de acerola, visando não somente aplicações industriais, mas também a elucidação dos mecanismos químicos e biológicos da ação antioxidante, além de utilizar condições otimizadas de extração e técnicas que possam facilitar a futura aplicação dos extratos, como a microencapsulação.

Esta tese está dividida em capítulos. O capítulo 2 apresenta uma revisão bibliográfica sobre a acerola como fruta fonte de compostos bioativos bem como um panorama das atividades antioxidantes estudadas.

No Capítulo 3 são discutidos os resultados do estudo da extração de compostos fenólicos de frutos de acerola verde e madura em diferentes condições e com diferentes respostas além de sua composição química.

O Capítulo 4 apresenta uma série de estudos da atividade antioxidante dos extratos a nível celular em diferentes condições oxidantes além de diferentes metodologias de análise.

E por fim, o Capítulo 5 apresenta os resultados da aplicação do processo de microencapsulação nos extratos e sua influência na alteração da composição química, seguida das considerações finais.

CONCLUSÃO

O estudo dos mecanismos pelos quais os antioxidantes naturais atuam é de grande importância, não somente para identificação de compostos alternativos aos antioxidantes sintéticos, a fim de substituí-los, mas também para elucidar o comportamento destes quando expostos a diferentes sistemas oxidativos. Através do estudo das variáveis que afetam a extração de moléculas com potencial antioxidante, o processo de extração dos frutos de acerola verde e madura foi aperfeiçoado, o que possibilitou obtenção de extratos ricos em compostos com potencial para aplicação em sistemas oxidantes.

Os extratos obtidos nestas condições apresentaram uma alta concentração de compostos com atividade redutora e estabilizadora de radicais livres, além de altas concentrações de ácido ascórbico e de compostos fenólicos de interesse, que são amplamente conhecidos pela atividade antioxidante. Os extratos de acerola apresentaram uma alta atividade antioxidante nos estudos com células de *Saccharomyces cerevisiae*, em especial quando comparado aos antioxidantes sintéticos BHT e ácido ascórbico, sendo esta atividade maior quando a resposta foi a oxidação intracelular. Ainda foi demonstrado que o BHA, além de não prevenir a oxidação, mostrou-se uma substância deletéria as células, principalmente no meio intracelular, o que corrobora a necessidade da substituição desta substância amplamente utilizada pela indústria. Foi possível realizar um estudo pioneiro de química computacional e prever a atividade antioxidante de esteroides de membrana encontrados nas diferentes estirpes de *Saccharomyces cerevisiae*, dados que foram comprovados pelos experimentos práticos.

Por fim, foi possível a obtenção de um produto microencapsulado a partir dos extratos de acerola a verde que apresentou ser promissor para futuras aplicações, sendo ainda verificada a influência deste processo na composição química dos extratos.

REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, Bethesda, v. 105, n.2, p. 121-126, 1984.
- ALAM, M.N.; BRISTI, N.J.; RAFIQUZZAMAN, M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, Arabia Saudita, v.21, n.1, p. 143-152, 2013.
- AL-DUAIS, M.; MULLER L.; BOHM V.; JTSCHKE, G. Antioxidant capacity and total phenolics of *Cyphostemma digitatum* before and after processing: use of different assays. **European Food Research and Technology**, Berlin, v.228, n.1, p:813-821, 2009.
- ALVES, R.E.; BRITO, E.A.; RUFINO, M.S.M.; SAMPAIO, C.G. Antioxidant activity measurement in tropical fruits: A case study with acerola. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v.773, n.1, p. 299–305, 2008.
- ALVES, R.E.; CHITARRA, A.B.; CHITARRA, M.I.F. Postharvest physiology of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) fruits: Maturation changes, respiratory activity and refrigerated storage at ambient and modified atmospheres. **Acta Horticulturae**, The Hague, v.370, n.1, p. 223–229, 1995.
- ALVES, R. E. Características das frutas para exportação. In: GORGATTI NETTO, A. et al. Acerola para exportação: procedimento de colheita e pós-colheita. Brasília: EMBRAPASPI, 1996. p.9-1Z. (FRUPEX. Publicações Técnicas, Z1).
- ANTONIASSI, R. Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 325-380, 2001.
- AQUINO, A.C.M.S.; MOES, R.S.; LEAO, K.M.M.; FIGUEIREDO, A.V.D.; CASTRO, A.A. Avaliação físico-química e aceitação sensorial de biscoitos tipo cookies elaborados com farinha de resíduos de acerola. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, Juiz de Fora, v.69, n.3, p. 379-386, 2010.
- ARAÚJO, J.M.A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2008. 596 p.
- ARAÚJO, P. S. R de; MINAMI, K. **Acerola**. Campinas: Fundação Cargill, 1994. 81p.
- ARUOMA, O. I.; HALLIWELL, B.; HOEY, B. M.; BULTER, J. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v.6, n.6, p. 593-597, 1989.
- ARUOMA, O. I.; HALLIWELL, B.; HOEY, B. M.; BULTER, J. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide,

and hypochlorous acid. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v.6, n.6, p. 593-597, 1989.

ASENJO, C.F.; PENAZOLA, A.; MEDINA, P. Characterization of ascorbase present in the fruit of the *Malpighia puniceifolia* L. **Federation of American Societies for Experimental Biology**. Federation Proceedings, Bethesda, n.1, p.1, 1960.

BADEJO, A.A.; FUJIKAWA, Y.; ESAKA M. Gene expression of ascorbic acid biosynthesis related enzymes of the Smirnoff-Wheeler pathway in acerola (*Malpighia glabra*). **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.166, n.6, p.652-660, 2009.

BANDYOPADHYAY, M.; CHAKRABORTY, R.; RAYCHAUDHURI, U. A process for preparing a natural antioxidant enriched dairy product (Sandesh). **LWT—Food Science and Technology**, London, v. 40, n. 1, p. 842–851, 2007.

BENZIE, I.F.F., STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, Cambridge v.239, n.1, p.70–76, 1996.

BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. Ferric reducing antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. **Methods in Enzymology**, Bethesda, v.299, n.1, p. 15–27, 1999.

BERMAN, H.M.; WESTBROOK, J.; FENG, Z.; GILLILAND, G.; BHAT, T.N.; WEISSIG, H. The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.28, n.1, p. 235-242, 2000.

BOISSY, G.; O'DONOHUE, M.; GAUDEMER, O.; PEREZ, V.; PERNOLET, J.C.; BRUNIE, S. The 2.1 Å structure of an elicitor-ergosterol complex: a recent addition to the Sterol Carrier Protein family. **Protein Science**, Harbon, v.8, n.1, p.1191–1199, 1999.

BOTSTEIN, D.; CHERVITZ, S.A.; CHERRY, M. Yeast as a Model Organism. **Science**, Londres, v.277, n.5330, p. 1259-1260, 1997.

BRADESCO, N.; DELL, M.; ROCHA, A.; BEHTASH, S.; MININI, T.; GUGLIUCCI, A.; NUNES, E. Antioxidant Activity of a Botanical Extract Preparation of *Ilex paraguariensis*: Prevention of DNA Double-Strand Breaks in *Saccharomyces cerevisiae* and Human Low-Density Lipoprotein Oxidation. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, New York, v.9, n.3, p. 379-387, 2004.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, Londres, v.28, n.2, p.25-30. 1995.

BRANEN, A.L. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, New York, v. 52, n. 5, p. 59-63, 1974.

BROWN, T. L.; LEMAY, H. E.; BURSTEIN, B. E. **Química: a ciência central**. 9. ed. Toronto, CA: Pearson/Prentice Hall, 2005.

BUTT, V. S. **Direct oxidases and related enzymes**. In: Stumpf, P. K., Conn, E. E. (Ed.). *The biochemistry of plants: a comprehensive treatise*. New York: Academic, 2, p. 81-123, 1980.

CAMARGO, A.C.; VIEIRA, T.M.F.S.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; CALORI-DOMINGUES, M.A.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Gamma radiation effects on peanut skin antioxidants. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v.13, n.3, p. 3073-3084, 2012.

CANUTO, G.A.B.; XAVIER, A.A.O.; NEVES, L.C.; BENASSI, M.T.I. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz Das Almas, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, 2010.

CHAE, H.Z.; KIM, I.; KIM, K.; RHEE, S.G. Cloning, Sequencing, and Mutation of Thiol-specific Antioxidant Gene of *Saccharomyces cerevisiae*. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda v.268, n.2, p. 16815-16821, 1993.

CHANG, E.C.; CRAWFORD, B.F.; HONG, Z.; BILINSKI, T.; KOSMAN, D. Genetic and Biochemical Characterization of Cu,Zn Superoxide Dismutase Mutants in *Saccharomyces cerevisiae**. **American Society for Biochemistry and Molecular Biology**, Estados unidos, v. 266, n.7, p. 4417-4424, 1990.

CHUNG-MAN, H.J.; ZHENG, S.; COMHAIR, S.A.; FARVER, C.; ERZURUM, S.C. Differential expression of manganese superoxide dismutase and catalase in lung cancer. **Cancer Research**, Baltimore, v.61, n.1, p.8578-8585, 2001.

CORBETT, J. T. The scopoletin assay for hydrogen peroxide. A review and a better method. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, Amsterdam, v.18, n.4, p. 297-307.

COSTA, N.M.B.; ROSA, C.O.B. **Alimentos funcionais: componentes bioativos e efeitos fisiológicos**. Rio de Janeiro: Rubio, 2010. 526 p.

DA SILVA, J. M. R.; DARMON, N.; FERNANDEZ, Y.; MITJAVILAT, S. Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, V.39, n.1, p.1549-1552, 1991.

DÉGASPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedade antioxidante de compostos fenólicos, **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DELVA, L.; GOODRICH-SCHNEIDER, R. Antioxidant activity and antimicrobial properties of phenolic extracts from acerola (*Malpighia emarginata* DC) fruit. **Int Journal of Food Science and Technology**, Londres, v.48, n.5, p.1048-56, 2013.

DINIS, T.C.P.; MADEIRA, V.M.C.; ALMEIDA, L.M. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid

peroxidation and as peroxy radical scavengers. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v.315, n.1, p. 161–169, 1994.

DONADIO, L.C. **Frutíferas nativas da América tropical**. Anais do Simpósio Nacional de Recursos Genéticos de Fruteiras Nativas, EMBRAPA-CNPMF, Cruz das Almas (1993), pp. 9–12.

DOTAN, Y.; LICHTENBERG, D.; PINCHUK, I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v.43, n.3, p. 200-27, 2004.

DUARTE-ALMEIDA, J.M.; SANTOS, R.J.; GENOVASE, M.I.; LAJOLO, F.M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

DUPONT, S.; BENEY, L.; FERREIRA, T.; GERVAIS, P. Nature of sterols affects plasma membrane behavior and yeast survival during dehydration, **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.1808, n.6, p. 1520-1528, 2011.

DUPONT, S.; LEMETAIS, G.; FERREIRA, T.; CAYOT, P.; GERVAIS, P.; BENEY, L. Ergosterol biosynthesis: a fungal pathway for life on land?. **International Journal of Organic Evolution**, Lancaster, v. 69, n.9, p. 2961-2968, 2012.

DUZZIONI, A.G.; LENTON, V.M.; SILVA, D.I.S.; BARROZO, M.A.S. Effect of drying kinetics on main bioactive compounds and antioxidant activity of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) residue. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.48, n.5, p.1041-1047, 2013.

DYER, S.A.; DERBY, M.A.; COLE, G.J.; GLASER, L. Identification of subpopulations of chick neural retinal cells by monoclonal antibodies: A fluorescence activated cell sorter screening technique. **Developmental Brain Research**, Amsterdam, v.9, n.3, p.197-203, 1983.

ESCARPA, A.; GONZALEZ, M.C. Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.427, n.1, p. 119-127, 2001.

FAO/OMS. **Human Vitamin and Mineral Requirements**. In: Report 7^a Joint FAO/OMS Expert Consultation. Bangkok, Thailand, 2001. 286p

FAVARO-TRINDADE, C.S.; PINHO, S.C.; ROCHA, G.A. Review: Microencapsulation of food ingredients. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.11, n.2, p.103-112, 2008.

FENNEMA, O.R. **Food chemistry**, 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 1996. 900 p.

FORMANEC, Z.; KERRY, J.P.; HIGGINS, F.M.; BUCKLEY, D.J.; MORRISSEY, D.A.; FARKAS, J. Addition of synthetic and natural antioxidants to α -tocopheryl acetate

supplemented beef patties: effects of antioxidants and packaging on lipid oxidation. **Meat Science**, Barking, v.58, n.4, p. 337-341, 2001. ...

FOURY, F. Human genetic diseases: a cross-talk between man and yeast. **Gene**, Amsterdam, v.195, n.1, p.1-10, 1997.

FRANKEL, E.N. **Lipid oxidation**. Dundee: Oily Press, 1998. 303 p.

FRANKEL, E.N. **Lipid oxidation. Progress in Lipid Research**, Oxford, v.19, n.1-2, p.1-22, 1980.

FRASSINETTI, S.; CROCE, C.M.D.; CALTAVUTURO, L.; LONGO, V. Antimutagenic and antioxidant activity of Lisosan G in *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Chemistry**, Barking, v.135, n.12, p. 2029-2034, 2012.

FREIRE, J.M.; ABREU, C.M.P.; ROCHA, D.A.; CORRÊA, A.D.; MARQUES, N.R. Quantificação de compostos fenólicos e ácido ascórbico em frutos e polpas congeladas de acerola, caju, goiaba e morango. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 12, p. 2291-2296, 2013.

FREITAS, C.S.S. Utilização da citometria de fluxo multiparamétrica na monitorização da resposta fisiológica da levedura *Saccharomyces carlsbergensis* em presença de ácido acético na produção de bioetanol. Dissertação. **[Mestrado em Engenharia de Sistemas Bioenergéticos]** – Universidade Técnica de Lisboa; 2011.

FRIIO, M.; DE LA TORRE, R.; FARRE-ALBALADEJO, M.; KHYMENETZ, O.; MARRUGAT, J.; COVAS, M.I. Bioavailability and antioxidant effects of olive oil phenolic compounds in humans: a review. **Annali dell'Istituto Superiore di Sanità**, Roma, v.43, n.4, p.375-381, 2007.

GABAS, A.L.; TELIS, V.R.N.; SOBRAL, P.J.A.; TELIS-ROMERO, J. Effect of maltodextrin and Arabic gum in water vapor sorption thermodynamic properties of vacuum dried pineapple pulp powder. **Journal of Food Engineering**, Essex, v.82, n.2, p. 246–252, 2007.

GABIER, A. C.; GOURDONB, p.; REITZB, J.; LEVEAUA, J.; BOUIX, M. Intracellular physiological events of yeast *Rhodotorula glutinis* during storage at +4 °C. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 105, n.2, p. 97-109, 2005.

GALLAGHER, E. P.; DI GIULIO, R. T. A comparison of glutathione-dependent enzymes in liver, gills and posterior kidney of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v. 102, n. 3, p. 543-547, 1992.

GAN, C.; LATIFF, A.A. Optimisation of the solvent extraction of bioactive compounds from *Parkia speciosa* pod using response surface methodology. **Food Chemistry**, Barking, v.124, n.3, p. 1277-1283, 2011.

GARDNER, P.T.; WHITE, T.A.C.; McPHAILI, D.P.; DUTHIE, C.G., (2000). The relative contributions of Vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. **Food Chemistry**, Barking, v.68,n.4, p. 471-474, 2000.

GAUNT, I.F.; FEUER, G.; FAIRWEATHER, F.A. Liver Response Tests. IV. Application to Short-term Feeding Studies with Butylated Hydroxytoluene (BHT) and Butylated Hydroxyanisole (BHA). **Food and Cosmetics Toxicology**, Oxford, v.3, n.1, p. 433-443, 1965.

GAZDAG, Z.; MATE, G.; CETRIK.; TURMER, K.; VIRAG, E.; POCSI, I.; PESTI, M. Tert Butyl hydroperoxide-induced differing plasma membrane and oxidative stress process in yeast strains BY4741 and erg5d. **Journal of Basic Microbiology**. Weinheim, v. 54, n. 1, p. 1-13, 2014.

GEORGAKOUDI, I.; SOLBAN, N.; NOVAK, J.; RICE, W.L.; WEI, X.; HASAN, T.; LIN, C.P. *In Vivo* Flow Cytometry: A New Method for Enumerating Circulating Cancer Cells. **Cancer Research**, Baltimore, v.64, n.15, p.5044–5047, 2004.

GOMES, E.; DILERMANDO, P.; MARTINS, A.B.G.; FERRAUDO, A.S. Análise de agrupamento e de componentes principais no processo seletivo de genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* DC). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 22, n. 1, p. 36-39, 2000.

GUILLOUA, S.; BESNARD, V.; MURR, N.E.; FEDERIGHI, M. Viability of *Saccharomyces cerevisiae* cells exposed to low-amperage electrolysis as assessed by staining procedure and ATP content. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.88, n.7, p. 85-89, 2003.

GUTTERIDGE, J. M. C.; HALIWELL, B. The deoxyribose assay: an assay both for 'free' hydroxyl radical and for site-specific hydroxyl radical production, **Biochemical Journal**, Londres, v.253, n.3, p. 932-933, 1988.

HALLIWELL, B.; AESCHBACH, R.; LOLIGER, J.; AROUMA, O.I. The characterization of antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, Boston, v.33, n.7, p. 601-617, 1995.

HALLIWELL, B. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. **Biochemical Pharmacology**, New York, v.49, n.10, p. 1341-1348, 1995a.

HALLIWELL, B. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. **Biochemical Pharmacology**, New York, v.49, n.10, p. 1341-1348, 1995b.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.; CROSS, C. E. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now?. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, Saint Louis, v.119, n.6, p.598-620, 1992.

HANAMURA, T.; HAGIWARA, T.; KAWAGISHI, H. Structural and Functional Characterization of Polyphenols Isolated from Acerola (*Malpighia emarginata* DC.) Fruit. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Londres, v.69, n.2, p.280-286, 2005.

HANAMURA, T.; UCHIDA, E.; AOKI, H. Changes of the composition in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit in relation to cultivar, growing region and maturity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Londres, v.88, n.10, p. 1813-1820, 2008.

HASSAN, H.M.M. Antioxidant and Immunostimulating Activities of Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Autolysates. **World Applied Sciences Journal**, Dubai, v.15, n.8, p. 1110-1119, 2011.

HENRIQUES, J.A.P.; DAFRÉ, A.L.; PICADA, J.N.; MARIS, A.F.; SALVADOR, M. **Espécies reativas de oxigênio e avaliação de antioxidantes em sistemas biológicos**. In: SERAFINI, L.A.; Barros, N.M.; AZEVEDO, J.L. (Eds.) *Biotechnology na Agricultura e na Agroindústria*. Guaíba: Agropecuária, 2001. v.1, p. 227-252.

HERDEIRO, R.S.; PEREIRA, M.D.; PANEK, A.D.; ELEUTHERIO, E.C.A. Trehalose protects *Saccharomyces cerevisiae* from lipid peroxidation during oxidative stress. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- General subjects**, Amsterdam, v.1760, n.3, p. 340-346, 2006.

HSU, C.; CHEN, W.; WENG, Y.; TSENG, C. Chemical composition, physical properties, and antioxidant activities of yam flours as affected by different drying methods. **Food Chemistry**, Barking, v.83, n.1, p. 85–92, 2003.

HUANG, L.H.; WANG, B.G. Antioxidant capacity and lipophilic content of seaweeds collected from the Qingdao coastline. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, n.1, p. 4993-4997, 2004.

HWANG, J.; HODIS, H.N.; SEVANIAN, A. Soy and Alfalfa Phytoestrogen Extracts Become Potent Low-Density Lipoprotein Antioxidants in the Presence of Acerola Cherry Extract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.49, n.1, p. 308-314, 2001.

JACKSON, L. S.; LEE, K. Microencapsulation and Food Industry. **LWT - Food Science and Technology**, Londres, v. 24, n. 4, p. 289-297, 1991.

JAEHRIG, S.C.; ROHN, S.; KROH, K.W.; FLEISCHER, L.; KURZ, T. In Vitro Potential Antioxidant Activity of (1→3),(1→6)-β-d-Glucan and Protein Fractions from *Saccharomyces cerevisiae* Cell Walls. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.55, n.12, p. 4710-4716, 2007.

JAMNIK, P.; GORANOVIC, D.; RASPO, P. Antioxidative action of royal jelly in the yeast cell. **Experimental Gerontology**, Elmsford, v.42, n.7, p. 594-600, 2007

JAY, J.M. **Microbiologia moderna de los alimentos**. Zaragoza, Acribia, 1992. 804p.

JIANG, J.; XIONG, Y.L. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. **Meat Science**, Barking, v. 120, n.1, p. 107-117, 2016.

JOLY, A.B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. 6.ed. São Paulo: Nacional, 1983. 778p.

KAMAGUCHI, M.; TANABE, H.; NAGAMINE, K. Isolation and characterization of a novel flavonoid possessing a 4,2"-glycosidic linkage from green mature acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Londres, v.71, n.5, p.1130-1135, 2007.

KAMO, T.; SATO, K.; SEM, K.; SHIBATA, H.; HIROTA, M. Geranylgeraniol-type diterpenoids, boletinins A-J, from *Boletinus cavipes* as inhibitors of superoxide anion generation in macrophage cells. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v.67, n.6, p. 958-963, 2004.

KHURI, A.I.; CORNELL, J.A. **Response Surfaces: Design and Analyses**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 1987. 510 p.

KRISHNAIAH, D.; NITHYANANDAM, R.; SARBATLY, R. A Critical Review on the Spray Drying of Fruit Extract: Effect of Additives on Physicochemical Properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.54, n.4, p. 449-473, 2014.

KUKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; MORALES, M.T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 2006.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI FILHO J.; FETT R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.4, p. 726-732, 2005.

LABUZA, T. The effect of water activity on reaction kinetics of food deterioration. **Food Technology**, Londres, v.34, n.1, p. 36-41, 1980.

LEFFA, D.D.; REZIN, G.T.; DAUMANN, F.; LONGARETTI, L.M.; DAJORI, A.L.; GOMES, L.M.; SILVA, M.C.; STRECK, E.L.; ANDRADE, V.M. Effects of Acerola (*Malpighia emarginata* DC.) Juice Intake on Brain Energy Metabolism of Mice Fed a Cafeteria Diet. **Molecular Neurobiology**, New York, v.54, n.1, p. 954-963, 2017.

LEFFA, D.O.; SILVA, J.; DAUMANN, F.; DAJORI, A.L.F.; LONGARETTI, L.M.; DAMIANI, A.P.; LIRA, F.; CAMPOS, F.; FERRAZ, A.B.F.; CORREA, D.S.; ANDRADE, V.M. Corrective effects of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) juice intake on biochemical and genotoxic parameters in mice fed on a high-fat diet. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, Amsterdam, v.770, n.1, p. 144-152, 2014.

LIMA, A. Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (caryocar brasiliense, camb.). Tese. [**Doutorado em Bromatologia**] - Universidade de São Paulo; 2008.

LIMA, V.L.A.G.; MÉLO, E.A.; MACIEL, M.I.; PRAZERES, F.G.; MUSSER, R.S.; LIMA, D.E.S. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chemistry**, Barking, v. 90, n. 4, p. 565-568, 2005.

LIMA, V.L.A.G.; PINHEIRO, I.O.; NASCIMENTO, M.S.; GOMES, P.B.; GUERRA, N.B. Identificação de antocianinas de acerolas do banco ativo de germoplasma da Universidade Federal Rural de Pernambuco. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.4, p. 927-935, 2006.

MALINOWSKA, P.; GLISZCZYŃSKA-ŚWIGŁO, A.; SZYMUSIAK, H. Protective effect of commercial acerola, willow, and rose extracts against oxidation of cosmetic emulsions containing wheat germ oil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v.116, n.11, p. 1553-1562, 2014.

MARCOCCI, I.; MARGUIRE, J.J.; DROY-LEFAIZ, M.T.; PACKER, L. The nitric oxide scavenging properties of Ginkgo biloba extract. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v.201, n.2, p. 748-755, 1994.

MARCUSE, R.; JOHANSSON L. Studies on the TBARS test for rancidity grading: II TBARS reactivity of different aldehyde classes. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, New York, v.50, n.1 p.387-91, 1973.

MARTÍNEZ-GARAY, C.A.; LLANOS, R.; ROMERO, A.M.; MARTÍNEZ-PASTOR, M.T.; PUIGA, S. Responses of *Saccharomyces cerevisiae* Strains from Different Origins to Elevated Iron Concentrations. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.82, n.6, 1906-1916, 2016.

MASUI, T.; HIROSE, M.; IMAIDA, K.; FUKUSHIMA, S.; TAMANO, S. Sequential changes of the for stomach of rats, hamsters and mice treated with BHA. **Journal of the Japanese Cancer Research**, Tóquio, v. 77, n. 1, p. 1083-1090, 1986.

MAY, J.M., QU, Z., LI, X. Ascorbic acid blunts oxidant stress due to menadione in endothelial cells. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Amsterdam, v.411, n.1, p.136-144, 2003.

MEDINA, M.E.; IUGA, C.; TRIGOS, Á. Mechanism and kinetics of the oxidative damage to ergosterol induced by peroxy radicals in lipid media: a theoretical quantum chemistry study. **Journal of Physical Organic Chemistry**, Chichester, v.29, p. 196-203, 2016.

MELO, E.A.; GUERRA, N.B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim SBCTA**, Campinas, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; ARAÚJO, C.R. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante de polpas congeladas de frutas. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 1, p. 67-72, 2008.

MEYER, A.S.; ISAKSEN, A. Application of enzymes as food antioxidants. **Trends in Food Science & Technology**, Guildford, v.6, n.9, p. 300-304, 1995.

MEZADRI, T.; VILANO, D.; FERNANDEZ-PACHÓN, M.S.; GARCÍA-PARRILHA, M.C.; TRONCOSO, A.M. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.21, n.1, p.282-290, 2008.

MILER, H.E. Simplified method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v.48 n.2, p. 91, 1971.

MILLER, N.J.; RICE-EVANS, C.A.; DAVIES, M.J.; GOPINATHANN, V.; MILNER A.; A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, Londres, v.84, n.4, p. 407-412, 1993.

MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 247, n.10, p. 3170-3175, 1972.

MIYAMOTO, S.; MARTINEZ, G. R.; RETTORI, D.; AUGUSTO, O.; MEDEIROS, M. H. G.; DI MASCIIO, P.; Linoleic acid hydroperoxide reacts with hypochlorous acid, generating peroxy radical intermediates and singlet molecular oxygen. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v.103, n.1, p.293-298, 2006.

MOTOHASHI, N.; WAKABASHI, H.; KURIHARA, T.; FUKUSHIMA, H.; YAMADA, T.; KAWASE, M.; SOHARA, TANI, S.; SHIRATAKI, Y.; SAKAGAMI, T.; KAWASE, M.; SOHARA, Y.; TANI, S.; SHIRATAKI, Y.; SAKAGAMI, H.; SATOH, S.; NAKASHIMA, H.; MOLNAR, A.; SPENGLER, G.; GYEMANT, N.; UGOCSAI, K.; MOLNAR. Biological activity of barbados cherry (acerola fruits, fruit of *Malpighia emarginata* DC) extracts and fractions. **Phytotherapy Research**, Londres, v.18, n.3, p. 212-223, 2004.

MRUK, D.D.; SILVESTRINI, B.; MO, M.; CHENG, Y. Antioxidant superoxide dismutase - a review: its function, regulation in the testis, and role in male fertility. **Contraception**, Stoneham, v.65, n.1, p.305-311, 2002.

MUKAI, K.; MORIMOTO, H.; OKAUCHI, Y.; NAGAOKA, S. Kinetic study of reaction between tocopheroxyl radicals and fatty acids. **Lipids**, Champaign, v. 28, n. 1, p. 753-756, 1993.

MUNN, A.L.; HEESE-PECK, A.; STEVENSON, B.J.; PICHLER, H.; RIEZMAN, H. Specific sterols required for the internalization step of endocytosis in yeast. **Molecular Biology of the Cell**, Bethesda, v.10, n.11, 3943–3957, 1999.

MURCIA, M.A.; JIMÉNEZ, A.M.; MARTÍNEZ-TOMÉ, M.J. Evaluation of the antioxidant properties of Mediterranean and tropical fruits compared with common food additives. **Journal of Food Protection**, Ames, Des Moines, v. 64, n. 12, p. 2037-2046, 2001.

NAGAMINE, I.; AKIYAMA, T.; KAINUMA, M.; KUMAGAI, H.; SATOH, H.; YAMADA, K.; YANO, T.; SAKURA, H. Effect of Acerola Cherry Extract on Cell Proliferation and Activation of Ras Signal Pathway at the Promotion Stage of Lung Tumorigenesis in

Mice. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, Tóquio, v.48, n.1, p. 69-72, 2002.

NAGAMINI, I.; AKIYAMA, T.; KAINUMA, M.; KUMAGAI, H.; SATOH, H. Effect of Acerola Cherry Extract on Cell Proliferation and Activation of Ras Signal Pathway at the Promotion Stage of Lung Tumorigenesis in Mice. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, Tóquio, v. 48, n. 1, p. 69-72, 2002.

NAKASONE, H.Y.; PAULL, RE. Other American tropical fruit: acerola. In: ;____
o**Tropical** fruits. Wallingford: CABI, 1998. p.377-389.

NELSON, J.; GIBBONS, E.; PICKETT, K.R.; STREETER, M.; WARCUP, A.O.; YEUNG, C.H.; JUDD, A.M.; BELL, J.D. Relationship between membrane permeability and specificity of human secretory phospholipase A(2) isoforms during cell death - **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.1808, n.7, p. 1913-1920, 2011.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V.; BURITY, H. A.; SILVA JUNIOR, J. F. Efeito do estágio de maturação dos frutos nas características físico-químicas de acerola. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 4, p. 463-470, 2002.

NUNES, R.S.; KAHL, U.F.S.; SARMENTO, M.S.; RICHTER, M.F.; ABIN-CARRIQUIRY, J.A.; MARTINEZ, M.M.; FERRAZ, A.B.F.; SILVA, J. Genotoxic and Antigenotoxic Activity of Acerola (*Malpighia glabra* L.) Extract in Relation to the Geographic Origin. **Phytotherapy Research**, Londres, v.27, n.10, p. 1495-1501, 2013.

NUNES, R.S.; KAHL, U.F.S.; SARMENTO, M.S.; RICHTER, M.F.; COSTA-LOTUFO, L.V.; RODRIGUES, F.A.R.; ABIN-CARRIQUIRY, J.A.; MARTINEZ, M.M.; FERRONATTO, S.; FERRAZ, A.B.F.; SILVA, J. Antigenotoxicity and Antioxidant Activity of Acerola Fruit (*Malpighia glabra* L.) at Two Stages of Ripeness. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v.66, n.1, p. 129-135, 2011.

OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; SILVA, C.A.; BACHARA, E.J.H.; BARROS, M.P.; MANO, C.M.; GOULART, M.O.F. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, Barking, v.115, n.2, p. 469-475, 2009.

OLIVEIRA, L.S.; MOURA, C.F.H.; BRITO, E.S.; MAMEDE, R.V.S.; MIRANDA, M.R.A. Antioxidant Metabolism during Fruit Development of Different Acerola (*Malpighia emarginata* D.C) Clones. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.60, n.32, p. 7957-7964, 2012.

OMURA, K. Antioxidant synergism between butylated hydroxy anisole and butylated hydroxyl toluene. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, New York, v. 72, n. 12, p. 1565–1570, 1995.

OSAWA, C.C.; FELICIO, P.E.; GONÇALVES, L.A.G. Teste de tba aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, São Paulo, v.28, n.4, p. 655-663, 2005.

PADILLA, S.; JONASSEN, T.; JIMENEZ-HIDALGO, M.A.; FERNANDEZ-AYALA, D.J.M.; LOPEZ-LLUCH, G.; MARBOIS, B.; NAVAS, P.; CLARKE, C.F.; SANTOS-OCANA, C. Demethoxy-Q, An Intermediate of Coenzyme Q Biosynthesis, Fails to Support Respiration in *Saccharomyces cerevisiae* and Lacks Antioxidant Activity. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v.279, n.25, p. 25995-26004, 2005.

PAGANI, M.M. Obtenção de suco de acerola (*Malpighia emarginata*, D.C.) concentrado e pós estáveis através da integração dos processos de separação por membranas e microencapsulação por atomização. Tese. [**Doutorado em Ciências de alimentos**] - Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2010.

PAN, Y.; LEIFERT, A.; RUAU, D.; NEUSS, S.; BORNEMANN, J.; SCHMID, G.; BRANDAU, W.; SIMON, U.; JAHNEN-DECHENT, W. Gold Nanoparticles of Diameter 1.4 nm Trigger Necrosis by Oxidative Stress and Mitochondrial Damage. **Nano Micro Small**, New York, v.5, n.18, p. 2067-2076, 2009.

POMPEU, D.R.; SILVA, E.M.; ROGEZ, H. Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology. **Bioresource Technology**, Essex, v.100, n.23, p. 6076-6082, 2009.

PRIOR, R.L.; HOANG, H.; GU, L. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC (FL)) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.51, n.1, p. 3273–3279, 2003.

RASPOR, P.; PLESNICAR, S.; GAZDAG, Z.; PESTI, M.; MIKLAVCIC, M.; LAH, B.; LOGAR-MARINSEK, R.; POLJSK, B. Prevention of intracellular oxidation in yeast: the role of vitamin E analogue, Trolox (6-hydroxy-2,5,7, 8-tetramethylkroman-2-carboxyl acid). **Cell Biology International**, Londres, v.29, n.1, p. 57-63, 2005.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v.26, n.1, p.1231-1237, 1999.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, J. M.; PAGANGA G. Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v.20, n.1, p. 933-956, 1996.

RIGHETTO, A. M.; NETTO, F. M.; CARRARO, F. Chemical composition and antioxidant activity of juices from mature and immature acerola (*Malpighia emarginata* DC). **Food Science and Technology International**, Londres, v.11, n.4, p.315-321, 2005.

RIGHETTO, A.M. Caracterização físico-química e estabilidade de suco de acerola verde microencapsulado por atomização e liofilização. Tese. [**Doutorado em Engenharia de alimentos**] - Universidade de Campinas; 2003.

RITZINGER, R.; RITZINGER, C.H.S.P. Acerola. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.32, n.264, p.17-25, 2011.

ROBINSON, V.K. Peroxynitrite inhibits inducible (Type 2) nitric oxide synthase in murine lung epithelial cells in vitro. **Free Radical Biology**, New York, v.30, n.1, p. 986-91, 2001.

RODRIGO, R.; GUICHARD, C.; CHARLES, R. Clinical pharmacology and therapeutic use of antioxidant vitamins. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, Paris, v.21, n.2, p.111-127, 2007.

ROSA, J.S.; GODOY, R.L.O.; OIANO NETO, J.; CAMPOS¹, R.S.; MATTA, V.M.; FREIRE, C.A.; SILVA, A.S.; SOUZA, R.S. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.4, p. 837-846, 2007.

ROSSO, V.V.; HILLEBRAND, S.; MONTILLA, E.C.; BOBBIO, F.O.; WINTERHALTER, P.; MERCADANTE, A.Z. Determination of anthocyanins from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) and açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC–PDA–MS/MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.21, n.1, p. 291-299, 2008.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, Barking, v.121, n.4, p. 996-1002, 2010.

SAENZ, C.; TAPIA, S.; CHAVEZ, J.; ROBERT, P. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**, Barking, v.114, p.616–622, 2009.

SANTOS, A.A.C.; FLORÊNCIO, A.K.G.; ROCHA, E.M.F.F.; COSTA, J.M.C. Avaliação físico-química e comportamento higroscópico de goiaba em pó obtida por spray-dryer. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 3, p. 508-514, 2014.

SANTOS, A.R.L.; REINHARDT, D.H.; SILVEIRA, W.R.; OLIVEIRA, J.R.P.; CALDAS, R.C. Qualidade pós-colheita de acerola para processamento, em função de estádios de maturação e condição de armazenamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 365-371, 1999.

SANTOS, S.F.M.; MACEDO, G.R.; SILVA, F.L.H.; PINTO, G.A.S. Aplicação da metodologia de superfície de resposta no estudo da produção e extração da poligalacturonase. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 8, p. 1973-1978, 2008.

SARMA, A.D; SHARMA, R. Anthocyanin-DNA copigmentation complex: mutual protection against oxidative damage. **Phytochemistry**, New York, v.52, n.1, p. 1313–1318, 1999.

SEAL, P.; RILEY, P. A.; INMAN, D. R. Basal cell encroachment into the dermis caused by applications of hydroxyanisole. **Journal of Investigative Dermatology**, Baltimore, v. 52, n.3, p. 264-267, 1969.

SEBRANEK, J. G.; SEWALT, V.J.A.; ROBBINS, K.L.; HOUSER, T.A.. Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. **Meat Science**, Barking, v. 69, n. 2, p. 289-296, 2005.

SEERAM, N.P.; HENNING, S.M.; LEE, R.; NIU, Y.; SCHEULLER, H.S.; HEBER, D. 2006. Catechin and caffeine contents of green tea dietary supplements and correlation with antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.54, n.1,p.1599–1603, 2006.

SEERAM, N.P.; NAIR, M. Inhibition of lipid peroxidation and structure-activity related studies of the dietary constituents anthocyanins, anthocyanidins, and catechins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.50, n.4, p. 5308–5312, 2002.

SHABDE, V. S.; HOO, K. A. Optimum controller design for a spray drying process. **Control Engineering Practice**, Oxford, v.16, n. 5, p. 541–552, 2007.

SILVA, C.G.; HERDEIRO, R.S.; MATHIAS, C.J.; DANEK, A.D.; SILVEIRA, C.S.; RODRIGUES, V.P.; RENNO, M.N.; FALCÃO, D.Q.; CERQUEIRA, D.M.; MINTO, A.B.M.; NOGUEIRA, F.L.P.; QUARESMA, C.H.; SILVA, F.F.M.; MENEZES, J.F.M.; ELEUTHERI, E.C.A. Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants. **Pharmacological Research**, Londres, v.52, n.1, p. 229–233, 2005.

SILVA, C.G.; RAULINO, R.J.; CERQUEIRA, D.M.; MANNARINO, S.C.; PEREIRA, M.D.; PANEK, A.D.; SILVA, J.F.M.; MENEZES, F.S.; ELEUTHERIO, E.C.A. *In vitro* and *in vivo* determination of antioxidant activity and mode of action of isoquercitrin and *Hyptis fasciculata*. **Phytomedicine**, Jena, v.16, n.1, p.761–767, 2009.

SIMIÃO, A.M. **Aditivos para alimentos sob o aspecto toxicológico**. São Paulo: Nobel, 1985. 274 p.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, Bethesda, v.299, p.152-178, 1999.

ŠKORŇA, P.; LENGYEL, J.; RIMARČÍK, J.; KLEIN, E. Investigation of oxidation attack sites in sterols: Thermodynamics of hydrogen atom transfer. **Computational and Theoretical Chemistry**, Amsterdam, v.1038, n.2, p. 26-32, 2014.

SLATNAR, A.; JAKOPIC, J.; STAMPAR, F.; VEBERIC, R.; JAMNIK, P. The Effect of Bioactive Compounds on In Vitro and In Vivo Antioxidant Activity of Different Berry Juices. **Plos One**, San Francisco, v.7, n.10, p. 1-8, 2012.

SOARES, D.G.; ANDREAZZA, A.C.; SALVADOR, M. Sequestering ability of butylated hydroxytoluene, propyl gallate, resveratrol, and vitamins C and E against

ABTS, DPPH, and hydroxyl free radicals in chemical and biological systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 4, p.1077-1080, 2003.

SOARES, D.G.; ANDREAZZA, A.C.; SALVADOR. Avaliação de compostos com atividade antioxidante em células da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.41, n1, p. 95-100, 2005.

SOLER-RIVAS, C.; ESPIN, J.C.; WICHES, H.J. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. **Phytochemical Analysis**, Sussex, v.11, n.5, p. 330–338, 2000.

SOUSA, M.S.B; VIEIRA, L.M.; SILVA, M.J.M.; LIMA, A. Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpa de frutas tropicais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.3, p. 554-559, 2011.

SOUZA, F.P.; CAMPOS, G.R.; PACKER, J.F. Determinação da atividade fotoprotetora e antioxidante em emulsões contendo extrato de *Malpighia glabra* L. – Acerola. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v.34, n.1, p. 69-77, 2013.

SPADA, P.D.S.; SOUZA, G.G.N.; BORTOLINI, G.V.; HENRIQUES, J.A.P.; SALVADOR, M. Antioxidant, Mutagenic, and Antimutagenic Activity of Frozen Fruits. **Journal of Medicinal Food**, New Rochelle, v.11, n.1, p. 144-151, 2008.

SPORN, A.; DINA, I. **Revue Roumaine de Biochimie**, v.4, n.1, p.301, 1968.

STEWART, J.J.P. Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. **The Journal of Molecular Modeling**, Berlin, v.13, n.12, p. 1173-1213, 2007.

STINCO, C.M.; BARONI, M.V.; NARANJO, R.D.P.; WUNDERLIN, D.A.; HEREDIA, F.J.; MELENDEZ-MARTINEZ, A.J.; VICARIO, I.M. Hydrophilic antioxidant compounds in orange juice from different fruit cultivars: Composition and antioxidant activity evaluated by chemical and cellular based (*Saccharomyces cerevisiae*) assays. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.37, n.1, p. 1-10, 2015.

SUCUPIRA, N.R.; SILVA, A.B.; PEREIRA, G.; COSTA, J.N. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v.14, n.4, p. 263-269, 2012.

SUN, J.; CHU, Y.; WU, X.; LIU, R. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.50, n.25, p. 7449–7454, 2002.

SUNG, J.; PARK, S.; SEO, D.; LEE, J.; HONG, S.; HONG, S. Antioxidative and Skin-Whitening Effect of an Aqueous Extract of *Salicornia herbacea*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, New York, v. 73, n.3, p. 552-556, 2009.

TANG, H.; WANG, A.; SALLEY, S.O.; SIMON, K.Y. The Effect of Natural and Synthetic Antioxidants on the Oxidative Stability of Biodiesel. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, New York, v.85, n.4, p. 373-382, 2008.

THAIPONG, K.; BOONPAKOB, V.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALHOS, L.; BYRNE, D.H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, Easton, v. 19, n.1, p. 668-675, 2006.

TOMASI, J.; MENNUCCI, B.; CAMMI, R. Quantum mechanical continuum solvation models. **Chemical Review**, New York, v.105, n.10, p. 2999-3093, 2005.

TONON, R.V.; BRABET, C.; HUBINGER, M.D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, Barking, v.43, n.3, p. 907-914, 2010.

TROLLER, J.A. Influence of water activity on microorganisms found in foods, **Food Technology**, London, v.35, n.5, p. 76-82, 1980.

VAZQUEZ, A.G.; FERNANDEZ-AGULLÓ, C.; GÓMEZ-CASTRO, C.; FREIRE, M.S.; ANTORRENA, G.; GONZÁLEZ-ALVAREZ, J. Response surface optimization of antioxidants extraction from chestnut (*Castanea sativa*) bur. **Industrial Crops and Products**, Murcia, v.35, n.1, p. 126-134, 2012.

VENDRAMINI, A.L.; TRUGO, L.C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, Barking, v. 71, n.28, p. 195-198, 2000.

VENDRAMINI, A.L.A.; TRUGO, L.C. Phenolic Compounds in Acerola Fruit (*Malpighia puniceifolia*, L.). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v.15, n.5, p. 664-668, 2004.

VIRÁG, L.E. Peroxynitrite-induced cytotoxicity: mechanism and opportunities for intervention. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v.141, n.1, p. 113-124, 2003.

VON GADEW A.; JOUBERT, E.; HANSMANN, C. F. Comparison of the Antioxidant Activity of Aspalathin with That of Other Plant Phenols of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*), α -Tocopherol, BHT, and BHA. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 632-638, 1997.

WAKABASHI, H.; FUKUSHIMA, H.; YAMADA, T.; KAWASE, M.; SHIRATAKE, Y.; SATOH, K.; TOBE, T.; HASHIMOTO, K.; KURIHARA, T.; MOTOHASI, N.; SAKAGAMI, A. Inhibition of LPS-stimulated NO production in mouse macrophage-like cells by Barbados cherry, a fruit of *Malpighia emarginata* DC. **Anticancer research**, Baltimore, v. 23, n.4, p. 3237-3241, 2003.

WANG, H.; CAO, G.H.; PRIOR, R.L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.45, n.2, p.304–309, 1997.

WANG, S. Y.; JIAO, H. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.48, n.11, p. 5677-5684, 2000.

WASIL, M.; HALLIWELL, B.; HUTCHISON, D. C. S.; BAUM, H. The antioxidant action of human extracellular fluids. Effect of human serum and its protein components on the inactivation of α 1-antiproteinase by hypochlorous acid and by hydrogen peroxide. **Biochemical Journal**, Londres, v.243, n.1, p. 219-223, 1987.

WIESE, L.P.L. **Avaliação de atividade antioxidante e antiinflamatória de extrato e frações de *Alternanthera tenella* Colla**. Dissertação (Mestrado em Farmácia). Universidade Federal de Santa Catarina. 78p. Florianópolis-SC. 2008.

WILLS, R.B.H. et al. **Postharvest**: an introduction to the physiology and handling of fruit and vegetables. 3.ed. rev. Oxford: BSP Professional Books, 1989. 174p.

WOODS, D.A.; SMITH, C.J. Ultrastructure of the dermal-epidermal junction in experimentally induced tumors and human oral lesions. **Journal of Investigative Dermatology**, Baltimore, v. 52, n. 3, p. 259–263, 1969.

WU, X.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; GEBHARDT, S.E.; PRIOR, R.L. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.52, n.12, p. 4026-4037, 2004.

XU, H.S.; ROBERT, N.; SINGLETON, F.L.; ATTWEL, R.W.; GRIMES, D.J.; COLWELL, R.R. Survival and viability of non-culturable *E. coli* and *V. cholerae* in the estuarine and marine environment. **Microbiological Ecology**, Londres, v.8, n.1, p.313- 323, 1982.

YILDIRIM, A.; MAVI, A.; KARA, A.A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 8, p. 4083-4089, 2001.

ZADZILISKI, R.; FORTUNIAK, A.Z.; BILIFISKI, T.; GREY, M.; BARTOSZ, G. Menadione toxicity in *Saccharomyces cerevisiae* cells: activation by conjugation with glutathione. **Biochemistry and Molecular Biology International**, Marrickville, v.44, n.4, p. 747-759, 1998.

ZHENG, W.; WANG, S.Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 11, p. 5165–5170, 2001.