

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

Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais

Adna Prado

Dissertação apresentada para a obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência e
Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2009**

Adna Prado
Engenheira de Alimentos

Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais

Orientador:
Prof. Dr. **SEVERINO MATIAS DE ALENCAR**

Dissertação apresentada para a obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência e
Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2009**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Prado, Adna

Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais / Adna Prado. - -
Piracicaba, 2009.

106 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2009.
Bibliografia.

1. Antioxidantes 2. Cromatografia a gás 3. Espectrometria de massas 4. Frutas tropicais -
Composição - Análise química I. Título

CDD 664.8046
P896c

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte - O autor"

***Dedico este trabalho à minha amiga Tatiana Novaes,
exemplo de trabalho, força,
coragem, persistência
e superação.***

AGRADECIMENTOS

À Deus, toda honra e glória.

Aos meus pais, Helio e Sandra e à minha irmã, Arodi, família que Deus me presenteou.

Ao meu namorado, Flávio, que ao mesmo tempo é amigo, irmão e companheiro. Eu o amo muito.

Ao meu cunhado e professor de inglês, João Marcos. God bless you.

Aos queridos irmãos da Igreja de Cristo, pelas constantes orações. Como é bom viverem unidos os irmãos.

Às amigas e professoras Rose Meire Vidotti e Ana Lúcia Gabas, por me iniciarem na carreira científica.

Ao meu orientador, prof. Severino Matias de Alencar, pela experiência e oportunidades oferecidas, com as quais muito aprendi.

Aos amigos e mestres Rodrigo Souza, Tatiane Oldoni e Ingridy Cabral. Aprendi com as primeiras experiências.

Aos amigos no laboratório de Bioquímica: Priscilla, Ana Paula, Aline, Rodrigo Buissa, Juliana, Keityane, Ivani Moreno, Rosângela, Lucimara, Luciana Ferracini, Luciana Mourão e Solange (agora no Sul). Sucesso para todos.

Aos colegas de turma do mestrado, Carla Matsuoka, Carla Ceballos, Luciana Kimie, Paula, Milla, Luciana Biscaro, Alessandra, Fernanda, Denise, Manoel, Luis Fernando e Luis Henrique. Chegou a nossa vez.

6

Aos do Laboratório de Frutas e de Micotoxinas, especialmente às técnicas Silvana Albertini e Ivani Zambello, por cederem o espaço e equipamentos para realização das análises.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, especialmente às professoras Solange G. C. Brazaca, Marisa A. B. R. d'Arce e Thaís M. F. S. Vieira, pela ajuda nas análises do projeto.

À amiga Aline Bortoletto, por me acompanhar e ajudar nas análises no Rancimat. Sucesso na França.

Ao Sr. Ludmar Bachim, pela ajuda no transporte das frutas de São Paulo e Campinas até Piracicaba.

Ao amigo Pedro Cruz, pelas análises estatísticas dos resultados.

À FAPESP, pela concessão da bolsa de mestrado e do auxílio.

“E disse Deus: Produza a terra relva, ervas que dêem semente e árvores frutíferas que dêem fruto segundo a sua espécie, cuja semente esteja nele, sobre a terra.

E assim se fez”.

Gênesis 1:11

(Bíblia Sagrada)

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	13
LISTA DE FIGURAS.....	15
LISTA DE TABELAS.....	17
1 INTRODUÇÃO	19
2 DESENVOLVIMENTO.....	22
2.1 Revisão bibliográfica.....	22
2.1.1 O Brasil e as frutas	22
2.1.2 Definição, características e composição química das frutas	24
2.1.3 Antioxidantes	27
2.1.4 Compostos fenólicos	30
2.1.4.1 Compostos fenólicos em frutas.....	35
2.1.5 Métodos de avaliação da atividade antioxidante	38
2.1.5.1 Atividade sequestrante do radical livre DPPH (DPPH*).....	41
2.1.5.2 Atividade antioxidante pelo método do ABTS ⁺	42
2.1.5.3 Auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico	44
2.1.5.4 Estabilidade oxidativa – Rancimat.....	45
2.2 Material e métodos	47
2.2.1 Aquisição da matéria-prima	47
2.2.2 Tratamento e obtenção da polpa das frutas	47
2.2.3 Caracterização da matéria-prima.....	48
2.2.3.1 Umidade	48
2.2.3.2 Cor.....	48
2.2.3.3 Sólidos solúveis totais (SST)	48
2.2.3.4 Acidez titulável (AT).....	48
2.2.3.5 Relação SST/AT (R).....	48
2.2.3.6 pH.....	49
2.2.4 Preparo do extrato das frutas	49
2.2.5 Espectrofotometria da região ultravioleta-visível (UV-Vis).....	51
2.2.6 Compostos fenólicos totais.....	51

2.2.7 Determinação da atividade antioxidante	52
2.2.7.1 Atividade sequestrante do radical livre DPPH.....	52
2.2.7.2 Atividade antioxidante pelo método do ABTS ⁺	53
2.2.7.3 Auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico	54
2.2.7.4 Estabilidade oxidativa – Rancimat	55
2.2.8 Identificação química dos extratos das frutas	55
2.2.8.1 Purificação dos extratos em resina hidrofóbica.....	55
2.2.8.2 Derivatização – formação de derivados do trimetilsilil (TMS).....	56
2.2.8.3 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)	57
2.2.9 Análise estatística	57
2.3 Resultados e discussão	58
2.3.1 Aquisição da matéria-prima e processamento das polpas	58
2.3.2 Caracterização da matéria-prima	61
2.3.3 Espectrofotometria da região ultravioleta-visível (UV-Visível).....	63
2.3.4 Compostos fenólicos totais	65
2.3.5 Determinação da atividade antioxidante	66
2.3.5.1 Atividade sequestrante do radical livre DPPH.....	66
2.3.5.2 Atividade antioxidante pelo método ABTS ⁺	72
2.3.5.3 Auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico	74
2.3.5.4 Estabilidade oxidativa – Rancimat	76
2.3.6 Identificação química dos extratos das frutas por CG-EM	80
3 CONCLUSÕES	89
APÊNDICES	103

RESUMO

Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais

As frutas são conhecidas por serem fontes naturais de antioxidantes dentre os quais estão as vitaminas C e E, carotenóides e compostos fenólicos, responsáveis pela prevenção de várias doenças no homem quando consumidas. Os compostos fenólicos apresentam forte relação com a atividade antioxidante em frutas e o estudo dessa atividade biológica tem sido alvo de muitas pesquisas. O objetivo desse trabalho foi avaliar a composição fenólica e a atividade antioxidante de frutas tropicais. O extrato etanólico de sete frutas foi utilizado para a quantificação dos compostos fenólicos, avaliação da atividade antioxidante, medida por meio dos métodos do radical livre DPPH, do ABTS⁺, da auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico e da estabilidade oxidativa em Rancimat, e identificação química por meio da técnica de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas. O teor de compostos fenólicos expressos em miligramas equivalentes ao ácido gálico das frutas variou na faixa de 0,128 – 15,8 mg AG/mL extrato. A acerola, pitanga, goiaba e manga apresentaram as maiores quantidades destes compostos, enquanto que o melão foi a fruta que apresentou o menor teor. Quanto a atividade antioxidante, a pitanga e goiaba foram as frutas que apresentaram os melhores resultados em todos os métodos utilizados. Os valores da atividade antioxidante para a pitanga e a goiaba foram maiores que 70% pelo método do radical livre DPPH; 6,3 e 5,14 μ M Trolox/g polpa (base seca), respectivamente, pelo método do ABTS⁺, atividade antioxidante próxima a 60% no método da auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico e fatores de proteção de 1,07 e 1,13, respectivamente, pelo Rancimat. Os compostos fenólicos identificados nos extratos foram os ésteres trimetilsilil do ácido benzóico nos extratos do abacaxi, manga, maracujá e pitanga e quercetina no extrato de acerola. O ácido ascórbico foi identificado nos extratos de acerola e goiaba, além de açúcares e outros ácidos orgânicos em todos os extratos das frutas. O estudo confirmou a boa atividade antioxidante de frutas tropicais, fontes naturais de antioxidantes.

Palavras-chave: Frutas tropicais; Antioxidantes; Compostos fenólicos; CG-EM

ABSTRACT

Phenolic composition and antioxidant activity of tropical fruits

The fruits are known to be natural sources of antioxidants such as vitamins C and E, carotenoids and phenolic compounds. When they are consumed, the fruits are responsible to prevent many diseases in humans beings. The phenolic compounds are strongly correlated with the antioxidant activity in fruits and the biological activity study has been the aim of many researches. The purpose of the present study was to determine the phenolic content and the antioxidant activity in tropical fruits. The ethanolic extract of seven fruits was used to determine the phenolic content, to measure the antioxidant activity by DPPH free radical scavenging, ABTS^{•+}, β -carotene/linoleic acid system oxidation and oxidative stability in Rancimat assays and, chemical identification by gas chromatography with mass spectrometry technique. The phenolic content expressed as milligram gallic acid equivalents of fruits ranged from 0.128 to 15.8 mg GA/mL extract. Acerola, pitanga, guava and mango had higher phenolic contents. Melon had the smallest phenolic content among seven fruits. About the antioxidant activity study, pitanga and guava showed good activity all the used assays. The two fruits presented antioxidant activity higher up 70% in DPPH free radical scavenging; 6.3 and 5.14 μ M Trolox/g pulp (dry basis), respectively, in ABTS^{•+} assay; antioxidant activity about 60% in β -carotene/linoleic acid system oxidation; protection factors values of 1.07 and 1.13, respectively, in Rancimat. The identified phenolic compounds in fruits extracts were benzoic acid trimethylsilyl ester in pineapple, mango, passion fruit and pitanga extracts and quercetin in acerola. The ascorbic acid was identified in acerola and guava extracts besides sugars and others organic acids in all fruits extracts. This study confirmed the good antioxidant activity of tropical fruits, natural sources of antioxidants.

Keywords: Tropical fruits; Antioxidants; Phenolic compounds; GC-MS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Principais regiões produtoras de frutas tropicais.....	24
Figura 2 - Estrutura química de antioxidantes naturais e sintéticos.....	29
Figura 3 - Estrutura geral de um flavonoide com os anéis A, B e C e sistema de numeração para diferenciação das posições dos carbonos	31
Figura 4 - Estruturas dos ácidos fenólicos que ocorrem naturalmente	33
Figura 5 - Estruturas químicas dos ácidos fenólicos: A – ácidos benzóicos; B – ácidos cinâmicos; C – cumarinas.....	34
Figura 6 - Estrutura química do DPPH• e reação com um antioxidante	41
Figura 7 - Redução do ABTS ⁺ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio	44
Figura 8 - Distribuição dos antioxidantes hidrofílicos e hidrofóbicos nas interfaces dos sistemas contendo óleo (à esquerda) e uma emulsão de óleo em água (à direita).....	45
Figura 9 - Esquema do funcionamento do Rancimat.....	46
Figura 10 - Esquema da obtenção do extrato das frutas e análises realizadas.....	51
Figura 11 - Frutas: abacaxi (A), acerola (B), manga (C), maracujá (D), melão (E), goiaba (F) e pitanga (G)	59
Figura 12 - Polpas: abacaxi (A), acerola (B), manga (C), maracujá (D), melão (E), goiaba (F) e pitanga (G)	59
Figura 13 - Espectros de absorção na região ultravioleta-visível dos extratos de frutas	64
Figura 14 - Atividade antioxidante (%) dos extratos das frutas e das substâncias de referência pelo método do sequestro do radical livre DPPH	67
Figura 15 - Cinética de redução do radical livre DPPH dos extratos de frutas	69
Figura 16 - Redução da porcentagem da absorbância inicial da emulsão contendo β-caroteno/ácido linoléico adicionada dos extratos de frutas e padrões durante 120 minutos	75
Figura 17 - Fator de proteção obtido a partir da análise de estabilidade oxidativa (Rancimat) do óleo de soja adicionado dos extratos das frutas	78
Figura 18 - Período de indução em função da concentração dos extratos de acerola, pitanga e goiaba	79
Figura 19 - Perfil cromatográfico da fração recuperada do extrato de abacaxi	82

Figura 20 - Perfil cromatográfico da fração recuperada do extrato de acerola	83
Figura 21 - Perfil cromatográfico da fração recuperada do extrato de manga	84
Figura 22 - Perfil cromatográfico da fração recuperada do extrato de maracujá	85
Figura 23 - Perfil cromatográfico da fração recuperada do extrato de melão	86
Figura 24 - Perfil cromatográfico da fração recuperada do extrato de goiaba	87
Figura 25 - Perfil cromatográfico da fração recuperada do extrato de pitanga	88
Figura 26 - Curva de calibração do ácido gálico para o cálculo do teor de compostos fenólicos totais	104
Figura 27 - Diluições e ajuste das curvas dos extratos de frutas pelo método ABTS ⁺	105
Figura 28 - Curva de calibração do Trolox	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Porcentagem da parte comestível de algumas frutas tropicais	25
Tabela 2 - Valores nutricionais por 100 g da parte comestível da fruta	26
Tabela 3 - Algumas classes e fontes de flavonoides.....	32
Tabela 4 - Grupos e fontes de ácidos fenólicos.....	35
Tabela 5 - Ocorrência de compostos fenólicos em algumas frutas	36
Tabela 6 - Período de aquisição das frutas tropicais.....	47
Tabela 7 - Rendimento das polpas das frutas após a liofilização	60
Tabela 8 – Características físico-químicas das frutas tropicais analisadas.....	61
Tabela 9 - Teor de compostos fenólicos equivalentes ao ácido gálico nos extratos (mg AG/mL extrato) e nas polpas das frutas (mg AG/g polpa), em base seca	65
Tabela 10 - Valor do EC ₅₀ (mg/mL) dos extratos das frutas	71
Tabela 11 - Atividade antioxidante equivalente ao trolox dos extratos das polpas das frutas.....	72
Tabela 12 - Atividade antioxidante (%) dos extratos das frutas e substâncias de referência pelo método da autoxidação do sistema β-caroteno/ácido linoléico	74
Tabela 13 - Período de indução das amostras analisadas no Rancimat (controle, óleo adicionado de BHT e extrato de frutas)	77
Tabela 14 - Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %) da fração recuperada do extrato de abacaxi	82
Tabela 15 - Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %) da fração recuperada do extrato de acerola	83
Tabela 16 - Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %) da fração recuperada do extrato de manga.....	84
Tabela 17 - Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %) da fração recuperada do extrato de maracujá.....	85
Tabela 18 - Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %) da fração recuperada do extrato de melão.....	86
Tabela 19 - Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %) da fração recuperada do extrato de goiaba.....	87

Tabela 20 - Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %) da fração recuperada do extrato de pitanga 88

1 INTRODUÇÃO

O Brasil, especialmente após o século XVI, iniciou sua participação no comércio internacional de frutas. Desde então, o cacau foi introduzido na Guiné, o maracujá na Índia, o abacaxi no Caribe e a jabuticaba na Austrália. Por outro lado, muitas frutas novas adaptaram-se aqui: uva, morango, ameixa, nectarina, pêsego, maçã, pêra, laranja, tangerina, limão, banana, carambola, lechia, papaia, kiwi, figo, manga, melancia, melão, dentre outras (CTENAS; CTENAS; QUAST, 2000).

A diversidade de climas e microclimas fizeram do Brasil um país perfeito para a produção de frutas. Atualmente, é um dos três maiores produtores mundiais, com uma produção que supera os 34 milhões de toneladas ao ano (IBRAF, 2005).

O consumo de fruta fresca é crescente em todo o mundo devido a vários fatores que levam a modificações nos hábitos alimentares, como o maior cuidado com a saúde e aspectos nutritivos dos alimentos; às campanhas publicitárias sobre os benefícios de consumo de frutas e hortaliças; à tendência a desprendimento dos horários e costumes; à procura por ganho de tempo e por alimentos individualizados de fácil preparo (SIMARELLI, 2006).

A acerola é conhecida por ser uma fruta rica em vitamina C, sendo uma das principais fontes naturais dessa vitamina. A cor vermelha atrativa da fruta é devido às antocianinas presentes na casca. Também é fonte de carotenóides e compostos fenólicos (LIMA et al., 2005; VENDRAMINI; TRUGO, 2004) que participam como antioxidantes no sistema biológico.

O abacaxi é uma fruta que apresenta excelente qualidade sensorial decorrente do sabor e aroma característicos que lhe são atribuídos por diversos constituintes químicos e vitamínicos (BOTREL; PATTO DE ABREU, 1994 apud ANTONIOLLI et al., 2005). A fruta assim também como o suco possuem compostos fenólicos, importantes para a saúde (WEN; WROLSTAD, 2002).

A manga, uma das frutas mais populares do mundo, destaca-se como uma fruta de alto valor comercial, pois além de excelentes qualidades de sabor e textura, possui valor nutricional reconhecido, como fontes de vitaminas A e C e rica em ácidos fenólicos (SINGH et al., 2004; THARANATHAN; YASHODA; PRABHA, 2006).

O maracujá é uma fruta tropical, difundida pelo mundo todo, cujo aroma faz do mesmo um popular e importante aditivo na composição de “blends” de sucos tropicais. Flavonoides, glicosídeos, alcalóides, compostos fenólicos e compostos voláteis são considerados como fitoconstituintes majoritários em espécies de maracujá (DHAWAN; DHAWAN; SHARMA, 2004).

O Brasil é o terceiro maior produtor de melão da América Latina, sendo a Região Nordeste responsável por 97,7% da produção nacional. O país passou de importador a grande produtor e, posteriormente, a exportador para os mercados europeus e norte-americano, sendo cerca de 20% da produção nacional destinada à exportação (Anuário Estatístico do Brasil, 2000 apud CASTILHO PIZARRO; BENEDETT; HAJ-ISA, 2006). Aproximadamente 98% do melão produzido no Brasil pertence ao grupo “amarelo” (*Inodorus*) (GRANGEIRO et al., 1999 apud GOMES JUNIOR et al., 2001), no entanto, a variedade *Cantaloupensis* possui boa qualidade comercial, alto valor nutritivo sendo uma excelente fonte de vitamina A (MILLA, 1995 apud GOMES JÚNIOR et al., 2001).

A goiaba é uma importante fruta tropical, geralmente consumida *in natura*, no entanto, as indústrias têm investido em produtos processados como bebidas, xaropes, sorvetes, geléias, sucos e desidratados. A fruta é conhecida por ser uma ótima fonte de antioxidantes naturais (JIMÉNEZ-ESCRIG et al., 2001a).

A pitanga, muito utilizada pela indústria brasileira para a produção de suco, possui potencial econômico elevado por atrair o consumidor pela sua elevada concentração de compostos como antocianinas, flavonóis e carotenóides, que fazem desse fruto uma fonte promissora de compostos antioxidantes (LIMA et al., 1993 apud OLIVEIRA et al., 2006).

Os antioxidantes naturais presentes na dieta aumentam a resistência aos danos provocados pela oxidação, apresentando assim um impacto significativo para a saúde humana. Além disso, o interesse na administração de antioxidantes naturais nos produtos pelas indústrias de alimentos está aumentando, principalmente com relação aos alimentos ricos em gordura, já que a segurança dos antioxidantes sintéticos vem sendo questionada (HUDSON, 1990 apud TERMENTZI; KEFALAS; KOKKALOU, 2006). No entanto, frutas e hortaliças não foram completamente estudadas devido à complexidade das estruturas químicas dos compostos naturais e à grande variedade

desses compostos presentes nesses produtos (DIMITRIOS, 2006). Dentre os estudos já realizados e relacionados com a atividade antioxidante, a maior parte deles compreende as frutas de clima temperado como maçãs, uvas, cerejas, (EBERHARDT; LEE; LIU, 2000; ZHENG; WANG, 2003; CHUN, et al., 2005; LIYANA-PATHIRANA; SHAHIDI; ALASALVAR, 2006; HAMAUZU et al., 2006; HUKKANEN et al., 2006), sendo portanto, que poucos são os trabalhos relacionados com frutas tropicais (KONDO; KITTIKORN; KANLAYANARAT, 2005). Assim, existe a necessidade de estudos sobre as propriedades biológicas e a composição química de frutas tropicais devido à sua crescente comercialização e consumo, tanto no mercado brasileiro quanto no internacional, e também à sua constante indicação como uma boa fonte de antioxidantes naturais (KUSKOSKI et al., 2006).

Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade antioxidante de frutas tropicais produzidas no Brasil e comercializadas no mercado nacional e internacional, por meio de quatro métodos distintos bem como identificar os compostos presentes nas frutas pela técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM).

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão bibliográfica

2.1.1 O Brasil e as frutas

O homem, desde os tempos pré históricos, sempre teve as frutas como o seu alimento, as quais são cultivadas desde 6000 a.C. Além de terem papel importante na alimentação do homem pré histórico, as frutas, além de outros fatores, foram responsáveis pelo caráter nômade das comunidades deste período devido à sazonalidade. A descoberta de técnicas de cultivo de grãos e processos de conservação das frutas contribuiu para o surgimento dos primeiros grupos sedentários (CTENAS; CTENAS; QUAST, 2000)

O Brasil é o país das frutas. A terra antiga desse país continental é naturalmente pródiga de delícias que nascem com facilidade em árvores, arbustos, trepadeiras, palmeiras, bromélias e cactos de toda variedade. São milhares de plantas endêmicas que geram frutos tão variados como o buriti, mandacaru, a pitanga, o caju, a sapucaia, o açaí, o ingá, o guaraná, o cupuaçu, o pequi, a jabuticaba, entre outras. Encontram-se ainda, por aqui muitos outros frutos originários da quente e úmida floresta tropical amazônica e das ilhas caribenhas, que se espalharam naturalmente pelo continente americano por meio da ação conjunta de animais e comunidades nativas humanas. Nessa categoria estão o abacate, o cacau, a pupunha, a goiaba, o mamão, a pinha, o maracujá e a graviola, entre outros (SILVA; TASSARA, 2005).

Os europeus quando chegaram ao continente americano, e antes mesmo de conhecerem as potencialidades econômicas e se alimentarem dos frutos nativos, começaram a plantar os frutos conhecidos e consumidos há séculos no velho continente. É o caso, por exemplo, das frutas cítricas, como as laranjas, as tangerinas, as limas e os limões, que, rapidamente, encontraram boas condições para se dispersar. Algumas delas, inclusive, tornaram-se espécies selvagens (SILVA; TASSARA, 2005).

A história relata que o português Pero Vaz de Caminha, membro da expedição de Pedro Álvares Cabral, em 1500 quando aportou em Porto Seguro na costa brasileira da Bahia, em sua carta com informações ao Rei de Portugal, declarou que na terra descoberta em se plantando tudo dá (LORENZI et al., 2006).

Essa, portanto, é uma terra que sabe receber e acolher frutos variados vindos de muito longe. Muitos deles, assim como os cítricos, adaptaram-se tão bem que quase ninguém mais lembra que são nativos de outra parte do planeta. São frutas tão conhecidas e utilizadas em todo o Brasil como o coco-da-baía, a jaca, a manga, o tamarindo, o dendê, a fruta-pão, o melão e a melancia, todas elas introduzidas a partir da colonização européia ou com a chegada dos africanos. No início do século 21, o Brasil já é um dos maiores países produtores de frutas do mundo, com vantagens sobre os demais pela sua própria natureza, condições climáticas, sol forte e constante e abundância de água. O Brasil produz frutas doces e de altíssima qualidade ao longo de quase todo o ano. Inclusive aquelas de climas temperados, como a maçã e a uva. Essa condição natural, aliado ao desenvolvimento da pesquisa e de modernas tecnologias de produção, que envolvem a seleção e o aprimoramento de cultivares, o controle de pragas, a aceleração de ciclo produtivo, entre outras, permitirá que o país se torne, em breve, no maior pomar comercial do planeta (SILVA; TASSARA, 2005).

Em números absolutos, o Brasil é o terceiro maior país produtor de fruta, ficando atrás apenas da China e Índia. A Figura 1 apresenta as principais regiões produtoras de algumas frutas tropicais no Brasil.

O comércio de fruta fresca no mundo foi estimado em 20 bilhões de dólares no ano de 1999, sendo que a participação do Brasil nesse valor foi menos de 1%. É difícil acreditar nesse resultado, considerando que o Brasil é um grande produtor, e fica ainda pior quando se leva em consideração que metade das exportações é representada por apenas duas frutas: manga e melão. Até mesmo a laranja que, apesar da grande importância na exportação do suco, não é uma fruta que está frequentemente presente nas mesas dos estrangeiros (CTENAS; CTENAS; QUAST, 2000).

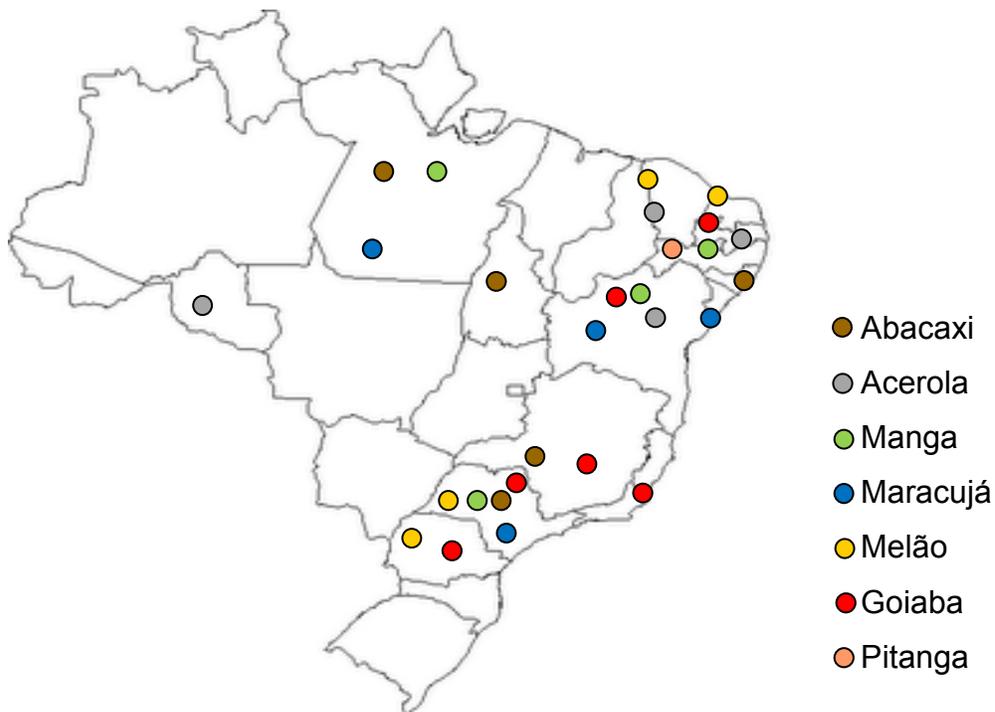


Figura 1 - Principais regiões produtoras de frutas tropicais

Fonte: Ctenas; Ctenas; Quast (2000)

2.1.2 Definição, características e composição química das frutas

Do ponto de vista botânico, fruta é definida como sendo a parte da planta que se origina a partir do ovário fertilizado da flor onde as sementes estão localizadas. Entretanto, a definição comum considera como fruta somente o que é geralmente doce e que pode ser utilizada para o consumo *in natura* (CTENAS; CTENAS; QUAST, 2000). Segundo a ANVISA (1978), fruta é o produto procedente da frutificação de uma planta, destinada ao consumo *in natura*.

Para a maioria das pessoas, a melhor forma de consumir uma fruta é no estado *in natura* cujas características de cor, textura, aroma, grau de maturação e tamanho são muito importantes no momento da escolha. No entanto, existem outras maneiras de se consumir uma fruta como, por exemplo, na forma de sucos, néctares, congeladas, desidratadas, em conserva, cristalizadas, em xaropes e sobremesas, entre outras (CTENAS; CTENAS; QUAST, 2000).

A Tabela 1 a seguir apresenta a porcentagem da parte comestível de algumas frutas tropicais.

Tabela 1 - Porcentagem da parte comestível de algumas frutas tropicais

	Abacaxi	Acerola	Manga	Maracujá	Melão	Goiaba	Pitanga
Polpa	65%	60%	70%	48%	70%	77%	66%
Casca e/ou Semente	35%	40%	30%	52%	30%	23%	34%

Fonte: Ctenas; Ctenas; Quast (2000)

Compreendendo de 75 a 95%, a água é o principal componente das frutas. Além disto, também apresentam grande quantidade de carboidratos, geralmente na forma de sacarose, glicose e frutose, com teores variando de 5 a 25%. Em uma dieta, frutas, legumes e hortaliças contribuem com 15% da recomendação total de carboidratos e menos que 10% do total de calorias, sendo insignificante a participação desse grupo de alimentos no suprimento de gorduras e proteínas. Por outro lado, suprem 90% da quantidade de vitamina C, 50% de vitamina A, 35% de vitamina B₆ e de 10 a 20% de outras vitaminas e minerais. As frutas também são importantes fontes de potássio. Assim, pode-se afirmar que é difícil obter uma dieta saudável sem a ingestão de uma quantidade significativa de frutas (200 a 400 g/dia) (CTENAS; CTENAS; QUAST, 2000).

As frutas devem fazer parte das refeições diárias. Para que se tenha uma vida longa e saudável, e também para se dar vida aos anos e não mais anos à vida, deve-se ingerir, por dia, no mínimo meio quilo delas, associadas ou não a legumes e verduras. Recomenda-se o maior número possível, de cores diferentes entre si, com composições e valores nutricionais relacionados a fibras, proteínas, carboidratos, vitaminas e sais minerais (LORENZI et al., 2006).

A tabela brasileira de composição de alimentos (UNIVERSIDADE DE CAMPINAS-UNICAMP, 2006) exemplificada na Tabela 2, apresenta as respectivas composições centesimais, minerais e de vitaminas por 100 g, de várias frutas tropicais.

Tabela 2 - Valores nutricionais por 100 g da parte comestível da fruta

	Abacaxi <i>Arábic comosus</i> (L.) Merril	Acerola <i>Malpighia glabra</i> L.	Manga <i>Mangífera indica</i> L.	Maracujá <i>Passiflora edulisf. flavicarpa</i>	Melão <i>Cucumis melo</i> L.	Goiaba <i>Psidium guajava</i> L.	Pitanga <i>Eugenia uniflora</i> L.
Umidade (g)	86,3	90,5	85,8	82,9	91,3	85,0	88,3
Proteína (g)	0,9	0,9	0,9	2,0	0,7	1,1	0,9
Lipídeos (g)	0,1	0,2	0,2	2,1	Tr	0,4	0,2
Carboidrato (g)	12,3	8,0	12,8	12,3	7,5	13,0	10,2
Fibra alimentar (g)	1,0	1,5	2,1	1,1	0,3	6,2	3,2
Cinzas (g)	0,4	0,4	0,3	0,8	0,5	0,5	0,4
Cálcio (mg)	22	13	8	5	*	*	18
Magnésio (mg)	18	13	7	28	6	7	12
Manganês (mg)	1,62	0,07	0,34	0,12	0,05	0,09	0,36
Fósforo (mg)	13	9	14	51	10	15	13
Ferro (mg)	0,3	0,2	0,1	0,6	0,2	0,2	0,4
Sódio (mg)	Tr	Tr	Tr	2	11	Tr	2
Potássio (mg)	131	165	138	338	216	198	113
Cobre (mg)	0,11	0,07	0,06	0,19	0,04	0,04	0,08
Zinco (mg)	0,1	0,1	0,1	0,4	0,1	0,1	0,4
Riboflavina (mg)	0,02	0,04	0,04	0,05	Tr	Tr	0,10
Piridoxina (mg)	Tr	Tr	0,03	0,05	0,02	0,03	Tr
Vitamina C (mg)	*	941,4	*	19,8	*	*	24,9

Fonte: Tabela brasileira de composição de alimentos (UNICAMP, 2006)

* as análises estão sendo revalidadas

Tr: traço

Além da mudança dos hábitos alimentares, o consumo de frutas e hortaliças tem aumentado principalmente em decorrência do seu valor nutritivo e efeitos biológicos (KUSKOSKI et al., 2006). Estes alimentos contêm muitos compostos que apresentam propriedades antioxidantes, incluindo as vitaminas C e E, carotenóides, clorofilas e fitoquímicos tais como compostos fenólicos, flavonoides glicosídeos e, em alguns alimentos, taninos poliméricos complexos (WANG; CAO; PRIOR, 1996; PELLEGRINI et al., 2007), que estão relacionados com o retardo do envelhecimento (BEHL;

MOOSMANN, 2002; AMES et al, 1993 apud BIANCHI; ANTUNES, 1999), com a prevenção de certas doenças como o câncer (RAMESH et al., 1999; WANG; MAZZA, 2002) e enfermidades cardiovasculares e circulatórias (STOCLET et al., 2004). Estas últimas são causadas pelo estresse oxidativo, o que promove danos às biomoléculas como proteínas e DNA.

Feskanish et al. (2000) concluíram que o consumo regular de frutas e hortaliças foram associados com o baixo risco de se contrair câncer de pulmão em mulheres.

Frutas provenientes de climas tropicais e subtropicais são conhecidas por estarem associadas às muitas propriedades medicinais. Muitas dessas frutas são matérias-primas para a produção de remédios contra tosses, sangramentos intestinais, diarreias e outros (MORTON, 1987 apud LEONG; SHUI, 2002).

Algumas frutas, por possuírem altos teores de compostos fenólicos e expressiva atividade de sequestro de radicais livres, ganham importância não somente pelos benefícios proporcionados à saúde, mas também pelo potencial de utilização em indústrias processadoras de alimentos (NETZEL et al., 2007).

2.1.3 Antioxidantes

Uma definição ampla para compostos com atividade antioxidante é a seguinte: “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação desse substrato de maneira eficaz” (SIES; STAHL, 1995). As indústrias de alimentos utilizam os antioxidantes para evitar a deterioração dos produtos e manter o valor nutricional. Os antioxidantes também são de grande interesse para os bioquímicos e profissionais da saúde, pois podem ajudar na proteção do organismo contra os danos causados pelas espécies reativas do oxigênio (ERO's) e doenças degenerativas (SHAHIDI, 1996).

Os antioxidantes são conhecidos pela ação em diferentes níveis do processo de oxidação envolvendo moléculas de lipídeos. Podem agir diminuindo a concentração de oxigênio, interceptando o oxigênio singlete; evitando a fase de iniciação da oxidação pelo sequestro de radicais hidroxil; quelando íons metálicos; decompondo produtos primários a compostos que não são radicais (SHAHIDI, 1996).

Uma das principais causas da deterioração de alimentos é a oxidação de óleos e gorduras que ocorre durante o processamento, distribuição, armazenamento e preparo final dos alimentos. Quando esses alimentos entram em contato com o ar, inicia-se a reação de oxidação que leva à produção de sabores indesejáveis, odores de ranço, descoloração e outros produtos de degradação, além de outras alterações que irão afetar a qualidade nutricional, a integridade e a segurança dos alimentos por meio da formação de compostos potencialmente tóxicos (KUBOW,1993). O estudo realizado por Kubow (1993) mostra que embora o consumo de ácidos graxos insaturados traga benefícios para saúde, muitos deles podem não estar devidamente protegidos por antioxidantes e quando consumidos, essas substâncias podem favorecer o desenvolvimento de procesos aterogênicos.

Assim, para prevenir ou retardar a deterioração oxidativa em alimentos, várias atitudes tem sido tomadas, entre elas, a utilização de antioxidantes em óleos, gorduras e alimentos processados. Entre os antioxidantes mais comumente utilizados estão os naturais, principalmente os tocoferóis e o ácido ascórbico. Entre os compostos fenólicos sintéticos pode-se citar o butil-hidroxi-anisol (BHA), o butil-hidroxi-tolueno (BHT) e o butil-hidroquinona-terciária (TBHQ), os quais estão ilustrados na Figura 2 (NAKATANI, 1996; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996).

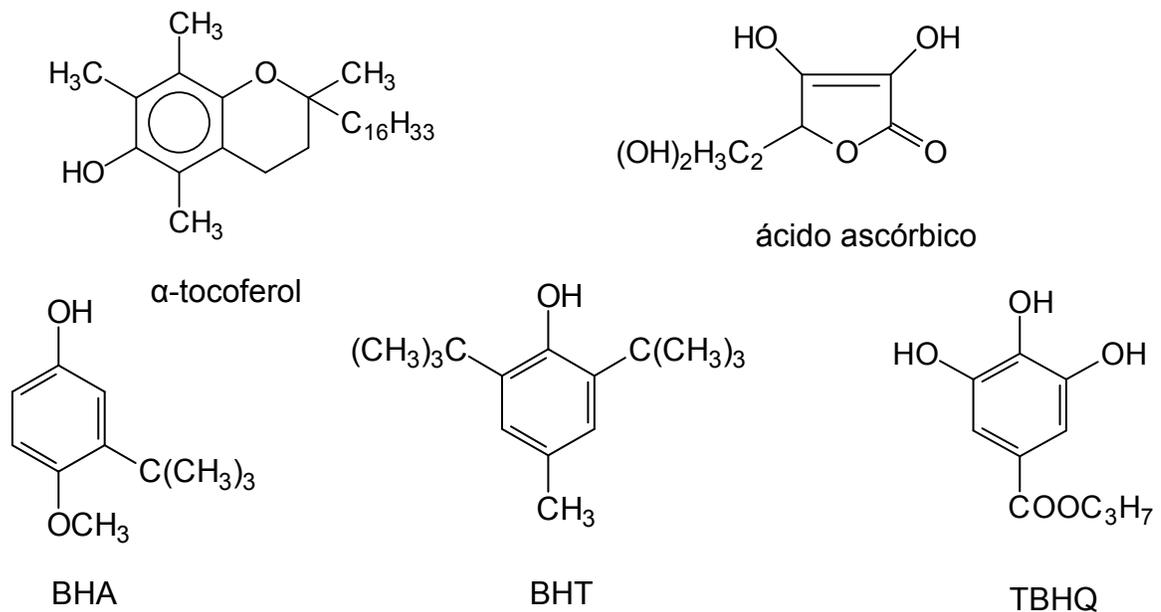


Figura 2 - Estrutura química de antioxidantes naturais e sintéticos

A oxidação nos sistemas biológicos ocorre devido à ação dos radicais livres no organismo. Os radicais livres são moléculas muito reativas devido ao elétron isolado, livre para se ligar a qualquer outro elétron e por isso, causam danos aos tecidos pela reação com lipídios das membranas celulares, nucleotídeos do DNA e ligações sulfidril em proteínas (MACHLIN; BENDICH, 1987). Os antioxidantes são capazes de neutralizar esses radicais livres, contribuindo para a prevenção de doenças como o câncer, cataratas, reumatismos e as que estão relacionadas ao cérebro (CLIFFORD, 1995 apud GARCÍA-ALONSO et al., 2004).

Os antioxidantes sintéticos são muito efetivos e muito estáveis, entretanto, o uso deles como aditivos é restrito em muitos países devido à possibilidade de causarem efeitos indesejáveis em enzimas dos órgãos humanos. Como resultado, há um grande interesse de se encontrar novos antioxidantes que sejam seguros e provenientes de fontes naturais (NAKATANI, 1996).

Na maioria dos alimentos não processados os antioxidantes estão presentes naturalmente, conferindo a eles proteção contra o ataque oxidativo. Entre os antioxidantes presentes nos vegetais, os mais ativos e frequentemente encontrados são os compostos fenólicos, tais como os flavonoides. As propriedades benéficas desses compostos podem ser atribuídas à sua capacidade de sequestrar os radicais livres

(DECKER, 1997). Os compostos mais estudados são: o ácido caféico, o ácido gálico e o ácido elágico. Esses compostos, de considerável importância na dieta, podem inibir o processo de peroxidação lipídica (HALLIWELL et al., 1995 apud BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Os antioxidantes naturais incluem os tocoferóis, vitamina C, carotenóides e compostos fenólicos. Os compostos fenólicos provenientes de plantas atuam protegendo-as contra injúrias em seus tecidos, contra a ação de subprodutos provenientes da fotossíntese que podem causar danos e também contra a herbivoria. Muitos desses compostos possuem similaridades quanto à estrutura molecular básica, em que todos possuem pelo menos um anel aromático com um grupo hidroxila ligado a ele. Incluem, portanto, principalmente os ácidos fenólicos e flavonoides. Juntos, representam os antioxidantes que agem por diversos mecanismos de maneira a conferir defesa contra o ataque de radicais livres (SHAHIDI, 1996).

2.1.4 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos podem ser definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilas e têm sido muito estudados devido a sua influência na qualidade dos alimentos. Englobam uma gama enorme de substâncias, entre elas os ácidos fenólicos, os quais, por sua composição química, possuem propriedades antioxidantes (SOARES, 2002).

O composto fenólico mais comum é o fenol simples, que possui apenas uma hidroxila diretamente ligada ao anel aromático.

Quanto à existência dos compostos fenólicos na natureza, esses podem ser classificados em: pouco e largamente distribuídos na natureza. No grupo dos pouco distribuídos na natureza, estão um número reduzido deles. Já no grupo dos que são largamente distribuídos na natureza, estão os fenólicos encontrados geralmente em todo o reino vegetal. Esses compreendem os chamados flavonoides e derivados e os ácidos fenólicos (ácidos benzóico, cinâmico e seus derivados e cumarinas) (SOARES, 2002).

Os flavonoides compreendem um notável grupo dentre os componentes de uma planta na qual possuem funções no crescimento e desenvolvimento. Muitas dessas

funções são essenciais para a sobrevivência tais como a atração de animais polinizadores e dispersores de sementes, estimulação da bactéria *Rhizobium* para a fixação do nitrogênio e assimilação de minerais provenientes das folhas. Os flavonoides também são conhecidos por aumentarem a tolerância das plantas frente a fatores abióticos e são empregados como agentes de defesa contra herbívoros e patógenos (GOULD; LISTER, 2005).

Os flavonoides possuem uma estrutura básica formada por $C_6-C_3-C_6$, o difenil propano (Figura 3), sendo os compostos mais diversificados do reino vegetal. Consistem de dois anéis aromáticos interligados por três carbonos que geralmente forma uma estrutura heterocíclica oxigenada (BRAVO, 1998).

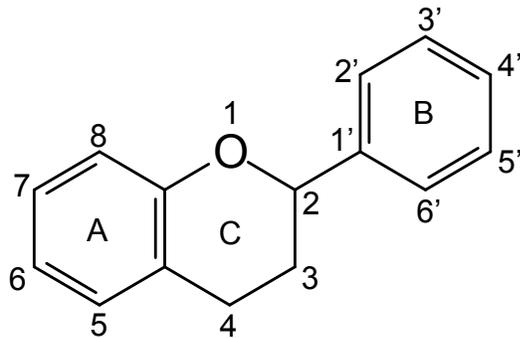


Figura 3 - Estrutura geral de um flavonoide com os anéis A, B e C e sistema de numeração para diferenciação das posições dos carbonos

No grupo dos flavonoides encontram-se as classes dos flavanóis, flavanonas, flavonóis, flavonas e antocianidinas e ocorrem em gêneros alimentícios como os apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Algumas classes e fontes de flavonoides

CLASSES	NOME	FONTE
Flavanóis	Epicatequina Catequina Epigallocatequina Epicatequina galato Epigallocatequina galato	Chás verde e preto, uvas, vinho tinto
Flavanonas	Naringina Taxofolina	Casca de frutas cítricas Frutas cítricas
Flavonóis	Canferol Quercetina Mirecetina	Brócolis, chá preto, alho-poró, rabanete Cebola, alface, casca de maçã, cerejas, brócolis, vinho tinto Uvas, vinho
Flavonas	Crisina Apigenina	Casca de frutas Aipo, salsa
Antocianidinas	Malvidina Cianidina Apigenidina	Uvas roxas, vinho tinto Morangos, uvas, cerejas Frutas e casca de frutas coloridas

Fonte: Rice-Evans, Miller, Paganda (1996)

Os ácidos fenólicos são metabólitos aromáticos secundários de plantas, uma subclasse de um grande grupo de metabólitos denominado “fenólicos” e estão distribuídos em todo o reino vegetal. O termo “fenólicos” abrange um grande número de compostos em que todos possuem uma característica em comum: um anel aromático com pelo menos uma hidroxila como substituinte. O termo “ácidos fenólicos”, em geral, descreve os fenóis que possuem um ácido carboxílico funcional. Entretanto, quando se trata de metabólitos de plantas, refere-se a um grupo distinto de ácidos orgânicos, os quais são subdivididos em outros dois grupos devido à característica das estruturas carbônicas: os hidroxicinâmicos (Xa) e os hidroxibenzóicos (Xb) (Figura 4). Embora o esqueleto básico seja o mesmo, os números e posições das hidroxilas no anel aromático favorecem a variedade desses compostos (Figura 5). Em muitos casos, os

análogos de aldeídos (Xc) também são agrupados dentro dos chamados ácidos fenólicos (ROBBINS, 2003).

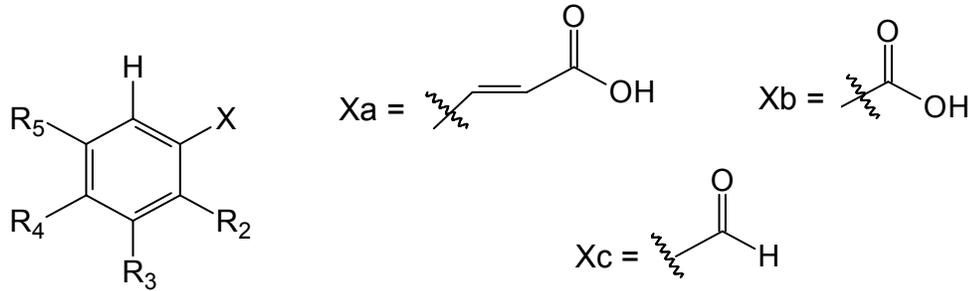
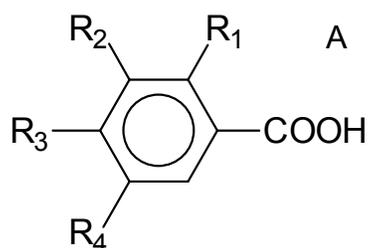


Figura 4 - Estruturas dos ácidos fenólicos que ocorrem naturalmente
 Fonte: Robbins (2003)

Os ácidos fenólicos podem ser divididos em três grupos (Figura 5). O primeiro é composto pelos ácidos benzóicos, que possuem estrutura com sete átomos de carbono (C₆-C₁). O segundo grupo é formado pelos ácidos cinâmicos, que possuem nove átomos de carbono (C₆-C₃). As cumarinas compõem o terceiro grupo e são derivadas do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral do ácido *o*-cumárico (SOARES, 2002).



A

R₁=OH: ácido salicílico;
 R₁=R₄=OH: ácido gentístico;
 R₃=OH: ácido *p*-hidroxibenzoico;
 R₂=R₃=OH: ácido protocatequínico;
 R₂=OCH₃ R₃=OH: ácido vanílico;
 R₂=R₃=R₄=OH: ácido gálico;
 R₂=R₄=OCH₃ R₃= OH: ácido siringico.

R₁=R₂=R₃=R₄=H: Ácido cinâmico;
 R₁=OH: Ácido *o*-cumárico;
 R₂=OH: ácido *m*-cumárico;
 R₃=OH: ácido *p*-cumárico;
 R₂=R₃=OH: ácido caféico;
 R₂=OCH₃ R₃=OH: ácido ferúlico;
 R₂=R₄=OCH₃ R₃= OH: ácido sinápico.

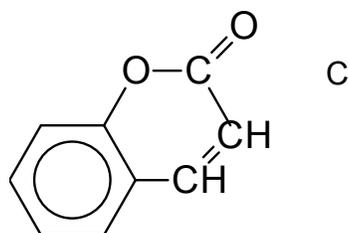
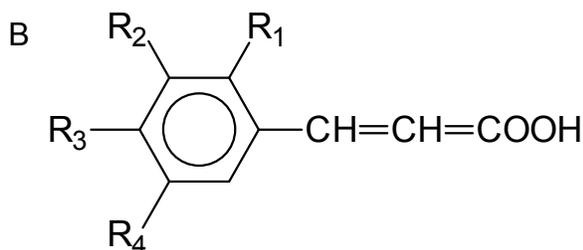


Figura 5 - Estruturas químicas dos ácidos fenólicos: A – ácidos benzóicos; B – ácidos cinâmicos;
 C – cumarinas
 Fonte: Soares (2002)

A concentração dos ácidos hidroxibenzoicos em plantas utilizadas para o consumo é muito baixa, exceto para algumas frutas vermelhas, rabanetes e cebolas. O chá é considerado uma importante fonte de ácido gálico. Devido à baixa concentração dessas substâncias em plantas de interesse na alimentação humana, não são alvo de muito estudo e não são consideradas de grande interesse nutricional como os ácidos hidroxicinâmicos. Esses, raramente são encontrados na forma livre, exceto em alimentos processados que são submetidos ao congelamento, esterilização ou fermentação. O ácido clorogênico pode ser encontrado em variados tipos de frutas e em grande concentração no café (MANACH et al., 2004).

O ácido caféico, tanto na forma livre quanto na forma esterificada, é em geral o ácido fenólico mais abundante e representa entre 75 e 100% do total do conteúdo dos

ácidos hidroxicinâmicos da maioria das frutas. Os ácidos hidroxicinâmicos podem ser encontrados em todas as partes da fruta embora a maior concentração esteja na parte externa de frutas maduras. A concentração desses ácidos geralmente diminui com o avanço da maturação. O ácido ferúlico é o ácido fenólico mais abundante encontrado em cereais e grãos (MANACH et al., 2004).

Outros ácidos fenólicos que ocorrem em outros alimentos estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Grupos e fontes de ácidos fenólicos

GRUPOS	NOME	FONTE
Ácidos hidroxibenzóicos	Ácido gálico Ácido protocatequínico Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico	Morango, framboesa, amora
Ácidos hidroxicinâmicos	Ácido caféico Ácido clorogênico Ácido cumárico Ácido ferúlico Ácido sinápico	Kiwi, cereja, ameixa, berinjela, maçã, pêra, chicória, alcachofra, batata, farinha de milho, trigo, arroz, aveia, cidra, café, aspargo, uva, vinho branco, espinafre, couve, óleo de oliva

Fonte: Manach et al. (2004); Rice-Evans, Miller, Paganda (1996)

2.1.4.1 Compostos fenólicos em frutas

Os compostos fenólicos são importantes constituintes de muitas frutas e hortaliças sendo que a quantificação dessas substâncias revela informações a respeito da atividade antioxidante, qualidade do alimento e dos potenciais benefícios à saúde (TALCOTT et al., 2003).

Muitos são os estudos realizados com o objetivo de se determinar a composição fenólica em frutas e derivados, como sucos e bebidas (MOYER et al., 2002; WEN; WROLSTAD, 2002; KIM; JEONG; LEE, 2003; MÉNDEZ et al., 2003; LIMA et al., 2005; ARABBI; GENOVESE; LAJOLO, 2004; HARNLY et al., 2006; MULLEN; MARKS; CROZIER, 2007; KIM; BRECHT; TALCOTT, 2007; VASCO; RUALES; KAMAL-ELDIN, 2008; LIU et al., 2008; FANG et al., 2009; ALOTHMAN; BHAT; KARIM, 2009) já que esses compostos têm sido responsabilizados pela atividade antioxidante presente

nessas frutas, além da vitamina C. A atividade antioxidante também é dada pelas vitaminas A, B e E e carotenóides. Os compostos fenólicos, a maioria flavonoides, apresentam-se na forma de ésteres ou glicosídeos (FLEURIET; MACHEIX, 2003 apud LIM; LIM; TEE, 2007) e, dentre os flavonoides, os mais abundantes são os glicosídeos da quercetina (ARABBI; GENOVESE; LAJOLO, 2004). Na Tabela 5 pode ser observada a ocorrência de compostos fenólicos em algumas frutas.

No estudo realizado por Vinson et al. (2001), 86% dos compostos fenólicos consumidos diariamente pela população americana provém de oito frutas: banana, maçã, uva, melancia, pêra, melão, pêssego e morango.

As moléculas típicas de antioxidantes são derivadas das formas isoméricas dos polifenóis e flavonas, isoflavonas, flavonóis, catequinas, cumarinas, ácidos fenólicos e outras substâncias encontradas nos vegetais (MARINOVA; YANISHILIEVA, 1994).

Tabela 5 - Ocorrência de compostos fenólicos em algumas frutas

(continua)

FRUTA	FONTE	COMPOSTOS FENÓLICOS	REFERÊNCIA
Goiaba (<i>Psidium guajava</i>)	Polpa	Ácido protocatecuico, guavina B, quercetina, leucocianidina, canferol, quercetina 3- α -L-arabinofuranosídeo, quercetina 3- β -galactosídeo, quercetina 3- β -D-glucosídeo, canferol-3-glucosídeo, mecocianidina, quercetrina.	Gutiérrez; Mitchell; Solis (2008)
Abacaxi (<i>Ananas comosus</i> L.)	Polpa e/ou suco	Ácido <i>p</i> -cumárico, ácido ferúlico, ácido sinápico, ácido caféico, ácido siríngico, ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico.	Wen; Wrolstad (2002)
Maracujá (<i>Passiflora edulis</i>)	Suco	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico, ácido caféico, ácido <i>p</i> -cumárico, ácido <i>o</i> -cumárico, ácido siríngico, ácido ferúlico, quercetina glicosilada, ácido sinápico.	Talcott et al. (2003)

Tabela 5 – Ocorrência de compostos fenólicos em algumas frutas

(conclusão)			
FRUTA	FONTE	COMPOSTOS FENÓLICOS	REFERÊNCIA
Acerola (<i>Malpighia punicifolia</i> , L.)	Polpa	Malvidina 3,5-diglucosídeo, cianidina 3-glucosídeo, pelargonidina, ácido clorogênico, ácido caféico, ácido <i>p</i> -cumárico, ácido ferúlico, quercetina, canferol.	Vendramini; Trugo (2004)
Manga (<i>Mangifera indica</i> L.) Tommy Atkins	Polpa e/ou casca	Mangiferina, isomangiferina, quercetina diglicosídeo, quercetina 3-O-galactosídeo, quercetina 3-O-glucosídeo, canferol 3-O-glucosídeo.	Berardini et al. (2005); Ribeiro et al. (2008)
Laranja	Polpa	Ácido caféico, ácido ferúlico, ácido <i>p</i> -cumárico, narirutina, hesperidina, conjugados de quercetina, conjugados de antocianinas.	Pellegrini et al. (2007)
Banana	Polpa	Ácido gálico, catequina.	Méndez et al. (2003)
Uvas (<i>Vitis rotundifolia</i>)	Polpa	Cianidina-3,5-diglucosídeo, malvidina-3,5-diglicosídeo.	Huang et al. (2009)

Estudos vêm demonstrando que outros antioxidantes, além dos compostos fenólicos tradicionais contribuem para a capacidade antioxidante total dos vegetais (WANG, CAO, PRIOR, 1996; RICE-EVANS, MILLER, PAGANGA, 1996, KUSKOSKI et al., 2006).

No estudo realizado por Lim, Lim e Tee (2007), relacionado às propriedades antioxidantes de várias frutas tropicais, foi demonstrado que a goiaba e papaia possuem maior conteúdo de antioxidantes primários, comparado com a da laranja. Jiménez-Escrig et al. (2001a) concluíram que a casca e a polpa de goiaba apresentaram altos níveis de fibra dietética e compostos fenólicos e, estes foram responsáveis pela alta capacidade antioxidante da fruta. Este último estudo também

está de acordo com os trabalhos de avaliação da atividade antioxidante feitos por MEZADRI et al. (2008) para acerola e RIBEIRO et al. (2007) para mangas.

O conteúdo de componentes que respondem por uma atividade biológica em alimentos está diretamente influenciada pelo estágio de maturação, da região de cultivo e da variedade como observado por Menezes e Alves (1995). Gao et al. (2000) que concluíram que a capacidade de sequestro de radicais do extrato da fruta estudada por eles diminuiu, devido à diminuição do conteúdo de fenólicos como consequência do avanço da maturação. A redução dos compostos fenólicos no amadurecimento é devido aos processos de complexação e polimerização (MENEZES; ALVES, 1995). No estudo realizado por Schwartz et al. (2009) foi observado que, durante o amadurecimento, os níveis de compostos fenólicos, taninos hidrolisáveis e atividade antioxidante foram reduzidos, enquanto que, o nível de antocianinas aumentou em cascas de romã.

2.1.5 Métodos de avaliação da atividade antioxidante

É de grande interesse para o público em geral, especialistas da área médica e nutricional e pesquisadores da área da saúde, ciência, tecnologia e engenharia dos alimentos, conhecer os constituintes e a ação antioxidante dos alimentos que são consumidos. Devido à complexidade da composição desses alimentos, a separação e o estudo individual de cada substância antioxidante são praticamente inviáveis além de custosos. Por isso, espera-se dos pesquisadores que venham a ter métodos rápidos para a determinação da eficiência dos antioxidantes na prevenção de doenças. Entretanto, muitos métodos ainda precisam ser aperfeiçoados. Um teste de atividade antioxidante com base em reações químicas parece não ser condizente com situações reais, ainda que existam muitas publicações com medida de atividade antioxidante *in vitro* (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

A atividade antioxidante não pode se diretamente medida, mas sim por meio dos efeitos que os antioxidantes proporcionam no controle da extensão da oxidação. Os métodos utilizados para a medida dessa atividade são bastante diversificados. Alguns procedimentos baseiam-se numa determinada etapa da oxidação seguida pela medida do resultado, como por exemplo, a oxidação do ácido linoléico seguida da determinação

de dienos conjugados. Em outros casos, não há uma clara distinção entre as várias etapas no procedimento (BECKER; NISSEN; SKIBSTED, 2004).

A determinação da atividade antioxidante em alimentos torna-se cada vez mais importante nas áreas de tecnologia e de nutrição. Embora exista uma grande diversidade de métodos, estes não são validados ou padronizados (GIADA; MANCINI-FILHO, 2004). Esta grande gama de metodologias empregadas proporciona resultados numéricos distintos e difíceis de serem comparados (MARTÍNEZ-VALVERDE; PERIAGO; ROS, 2000).

Diversas técnicas têm sido utilizadas para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, de forma a permitir rápida seleção de substâncias e/ou misturas potencialmente interessantes, na prevenção de doenças crônico-degenerativas. Dentre os métodos para se estimar a capacidade antioxidante em frutas e hortaliças incluem o ABTS (2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolína-6-ácido sulfônico)) (LEONG; SHUI, 2002; NETZEL et al., 2007; CHEN; YEN, 2007; CHUN et al., 2005; VASCO; RUALES; KAMAL-ELDIN, 2008), DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) (HUKKANEN et al., 2006; LIYANA-PATHIRANA; SHAHIDI; ALASALVAR, 2006; TERMENTZI; KEFALAS; KOKKALOU, 2006; VASCO; RUALES; KAMAL-ELDIN, 2008), FRAP (Poder antioxidante de redução do ferro) (HUKKANEN et al., 2006; JIMÉNEZ- ESCRIG et al., 2001a,b; JIANG et al., 2006; VASCO; RUALES; KAMAL-ELDIN, 2008), autoxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico (HASSIMOTTO; GENOVESE; LAJOLO, 2007; JAYAPRAKASHA; SINGH; SAKARIAH, 2001; DUARTE-ALMEIDA et al., 2006), Rancimat (MURCIA; JIMÉNEZ; MARTÍNEZ-TOMÉ, 2001; PESCHEL et al., 2006; BROINIZI et al., 2007), ORAC (Capacidade de absorção de radicais oxigênio) (WANG; CAO; PRIOR, 1996; MEZADRI et al., 2008), entre outros.

Segundo Frankel e Mayer (2000), para uma escolha prudente dos testes de atividade antioxidante é importante tomar como base a resposta de algumas questões que se referem às propriedades de proteção dos antioxidantes, tais como onde vão se localizar no sistema de ação, os produtos que serão inibidos, a interação com outros componentes e os seus efeitos. Dessa forma, medidas da capacidade antioxidante para frutas e outros produtos naturais requerem uma seleção rigorosa na escolha dos

métodos de avaliação, o que vai depender dos tipos de compostos antioxidantes a serem testados.

Segundo Leong e Shui (2002), os modelos ABTS e DPPH são práticos e recomendados para a avaliação da capacidade antioxidante total de frutas. Entre os métodos químicos aplicados para determinar a capacidade antioxidante de um composto em capturar radicais livres, o método DPPH é um dos mais utilizados por ser considerado prático, rápido e estável (ESPIN et al., 2000).

Ozgen et al. (2006), no estudo de métodos apropriados para se determinar a capacidade antioxidante total em frutas, concluem que o ABTS apresenta-se como um método estável e adequado quando associado aos métodos FRAP ou DPPH. O DPPH apresenta vantagens quando os antioxidantes analisados são mais solúveis em solventes orgânicos e, portanto, os três testes mencionados representam uma boa seleção de métodos de medidas de atividade antioxidante em frutas e sucos de frutas.

Grandes esforços estão sendo despendidos em testes de compostos naturais antioxidantes com a ênfase em se melhorar os testes já existentes. Vários testes e modelos de sistemas não correspondem à realidade, ou seja, o verdadeiro efeito protetor dos antioxidantes e os dados obtidos podem ser confundidos por muitos fatores, incluindo a composição do sistema do teste, o substrato alvo da proteção e o modo da indução da oxidação. Como já descrito, há uma grande necessidade de padronização dos testes para minimizar as divergências nas metodologias utilizadas para avaliar os antioxidantes. Métodos que são mais específicos podem ser utilizados para obtenção de informações químicas que podem estar diretamente relacionadas com a deterioração de alimentos e de sistema biológicos (FRANKEL; MEYER, 2000).

A medida da atividade antioxidante, especialmente de antioxidantes que compõem misturas ou agem de uma forma mais complexa, não pode ser avaliada satisfatoriamente por um simples teste sem a consideração das muitas variáveis que influenciam os resultados (ANTOLOVICH et al., 2002).

A comparação de dados a partir de diferentes estudos é também difícil. É preferível a realização de uma bateria de ensaios com a medida de diferentes aspectos químicos dos antioxidantes e compará-los com compostos sintéticos consagrados como antioxidantes. Isto gera, assim, um perfil antioxidante completo, sem perder de vista a

relação com a potencial aplicação do produto. Devem-se escolher métodos comumente aceitos, e se possível validados, com informações acumuladas na literatura (OLIVEIRA et al., 2009).

2.1.5.1 Atividade sequestrante do radical livre DPPH (DPPH[•])

O DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) é um radical de nitrogênio orgânico, estável, de cor violeta e possui absorção máxima na faixa de 515-520 nm. A redução do radical DPPH é monitorada pelo decréscimo da absorbância durante a reação (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSSET, 1995).

O sequestro de radicais livres é um dos mecanismos reconhecidos pelo qual ocorre a ação dos antioxidantes. O método de sequestro do radical livre DPPH pode ser utilizado para avaliar a atividade antioxidante de compostos específicos ou de um extrato em curto período de tempo. Segundo Leong e Shui (2002), esse método tem sido uma ferramenta útil para se avaliar a capacidade antioxidante de frutas.

Na presença de um doador de hidrogênio ou elétron a intensidade de absorção diminui e a solução com o radical perde cor, tornando-se amarela, de acordo com o número de elétrons capturados, ou seja, quando o elétron desemparelhado do átomo de nitrogênio no DPPH recebe um átomo de hidrogênio proveniente de compostos antioxidantes, ocorre a mudança de cor (Figura 6).

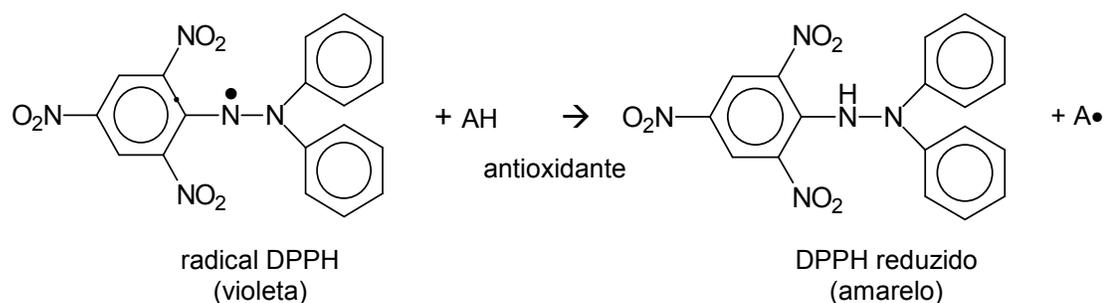


Figura 6 - Estrutura química do DPPH[•] e reação com um antioxidante
Fonte: Molyneux (2004)

O método do DPPH[•] é considerado um método fácil e rápido para se avaliar a atividade antirradical de antioxidantes. Assim, pela facilidade e rapidez é muito utilizado em diversos estudos, o que resulta na diversidade de protocolos seguidos e

divergências de resultados interlaboratoriais (SHARMA; BHAT, 2009). Os resultados dos testes realizados com o radical livre DPPH são apresentados de várias maneiras entre os quais estão o EC_{50} , um dos mais utilizados, cujo valor representa a quantidade de um antioxidante necessária para levar a 50% a concentração do DPPH* inicial (SIDDHURAJU; MANIAN, 2007; LIM; LIM; TEE, 2007; ATMANI et al., 2009 RUMBAOA; CORNAGO; GERONIMO, 2009; LIU et al., 2008); porcentagem de descoloração = $(1 - (\text{absorbância do composto ou extrato} / \text{absorbância do branco}) * 100)$ (CHEEL et al., 2007, AK; GULÇIN, 2008); eficiência antiradical ($AE = 1/EC_{50} * T_{EC50}$) (JIMÉNEZ-ESCRIG et al., 2001a); atividade de sequestro de radical (%) = $((\text{absorbância do controle} - \text{absorbância da amostra} / \text{absorbância do controle}) * 100)$ (JAYAPRAKASHA; PATIL, 2007; BROINIZI et al., 2007; ATMANI et al., 2009); atividade antioxidante equivalente ao ácido ascórbico = $(EC_{50(AA)} / EC_{50(\text{amostra})}) * 10^5$ (LIM; LIM; TEE, 2007), entre outros. O método do DPPH* também já é utilizado em métodos on-line de cromatografia líquida de alta eficiência (NIEDERLANDER et al., 2008) a fim de discriminar as substâncias com atividade antioxidante.

Com o objetivo de diminuir essas divergências, alguns estudos objetivam a padronização de métodos ou tentam estabelecer uma forma universal de apresentação dos resultados, como por exemplo, as pesquisas realizadas por Sharma e Bhat (2009), Locatelli et al. (2009) e Sherer e Godoy (2009).

Alguns cuidados devem ser tomados com o método e com a interpretação dos dados. Segundo Brand-Willians, Cuvelier e Berset, (1995), a interação do antioxidante com o DPPH* depende de suas conformações estruturais. Para o melhor entendimento dos mecanismos de reação dos substratos é interessante caracterizar os intermediários e os produtos da reação, sendo também necessária a separação dos compostos por cromatografia e posterior identificação.

2.1.5.2 Atividade antioxidante pelo método do ABTS⁺

Além do método do DPPH*, outro método que é muito utilizado para a determinação da atividade antioxidante é o método do ABTS⁺ (2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolína-6-ácido sulfônico). Ambos apresentam excelente estabilidade em certas condições de análise, mas também mostram diferenças importantes frente aos

antioxidantes e quanto à manipulação. O DPPH• é um radical livre que é adquirido dessa forma, sem a necessidade de preparo; já o radical ABTS^{•+} deve ser gerado por reações enzimáticas ou químicas. Outra diferença é que o ABTS^{•+} pode ser solubilizado em meios orgânicos e aquosos nos quais a atividade antioxidante pode ser determinada, dependendo da natureza dos compostos antioxidantes, enquanto que o DPPH• somente pode ser solubilizado em meios orgânicos (meios alcoólicos, especificamente) (ARNAO, 2000).

O método ABTS^{•+} é um dos testes de atividade antioxidante mais rápidos e que oferece resultados reprodutíveis, além de outras vantagens como: oferecer vários máximos de absorção e uma boa solubilidade, permitindo análises de compostos tanto de natureza lipofílica como hidrofílica (KUSKOSKI et al., 2005).

Originalmente proposto por Miller et al. (1993), o procedimento baseava-se na ativação da metamioglobina com peróxido de hidrogênio na presença do ABTS para gerar o ABTS^{•+}, com ou sem antioxidantes no meio. Mas, devido algumas críticas, o método foi aperfeiçoado sendo que o radical agora é gerado sem a presença de antioxidantes.

O método, segundo Re et al. (1999), baseia-se na geração do ABTS^{•+}, de cor azul esverdeado, por meio da reação do ABTS com persulfato de potássio que possui absorção máxima em 645, 734 e 815 nm. Com a adição de um antioxidante ocorre a redução do ABTS^{•+} a ABTS promovendo a perda da coloração do meio reacional (Figura 7). Com a extensão da perda de cor, a porcentagem de inibição do ABTS^{•+} é determinada em função do Trolox, um padrão submetido às mesmas condições de análise do antioxidante. O método é aplicável ao estudo de antioxidantes hidrossolúveis e lipossolúveis, compostos puros e extratos vegetais.

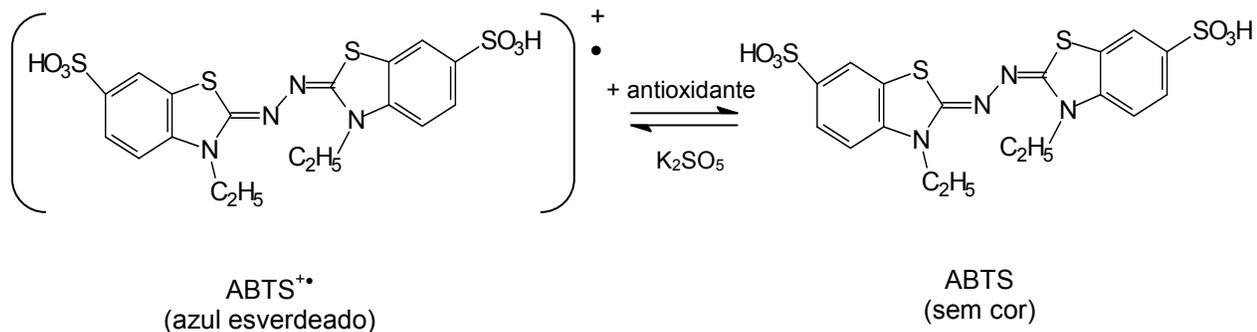


Figura 7 - Redução do ABTS^{•+} por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio
 Fonte: Moon; Shibamoto (2009)

2.1.5.3 Auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico

O método de auto-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoléico. O método está fundamentado em medidas espectrofotométricas da descoloração (oxidação) do β -caroteno induzida pelos produtos de degradação oxidativa do ácido linoléico (MARCO, 1968). Por o sistema ser constituído de uma emulsão (sistema aquoso-lipídico), a atividade antioxidante é avaliada pela capacidade do extrato ou antioxidante isolado inibir o processo de oxidação do sistema, avaliado durante certo tempo em que os antioxidantes deverão apresentar maior estabilidade para garantir maior atividade antioxidante (SALDANHA, 2005). A habilidade em inibir a oxidação de substratos lipídicos em testes *in vitro* é resultado da combinação de vários fatores como temperatura, presença de oxigênio em condições que aceleram a reação de oxidação.

A atividade de diferentes tipos de antioxidantes pode variar dependendo dos lipídeos, ou seja, se são triacilgliceróis, ésteres metílicos, ácidos graxos livres entre outros. Se os antioxidantes são ativos em sistemas aquosos, lipídicos ou em sistemas de fases heterogêneas, isto deve ser considerado. A atividade antioxidante é bastante afetada pela composição física do sistema e a atividade relativa dos antioxidantes de diferentes polaridades varia de acordo com diferentes fases de um sistema. Em sistemas contendo apenas óleo foi observado que os antioxidantes polares são mais efetivos que os não polares por estarem concentrados na interface óleo-ar, onde atuam eficientemente contra a oxidação. Em sistemas formados por emulsões óleo em água, os antioxidantes hidrofóbicos estão localizados no óleo e na interface óleo-água, onde

atuam protegendo o sistema contra a oxidação muito mais que os antioxidantes hidrofílicos, que neste caso, estão solubilizados na água, onde não podem oferecer alguma proteção (FRANKEL; MEYER, 2000) (Figura 8).

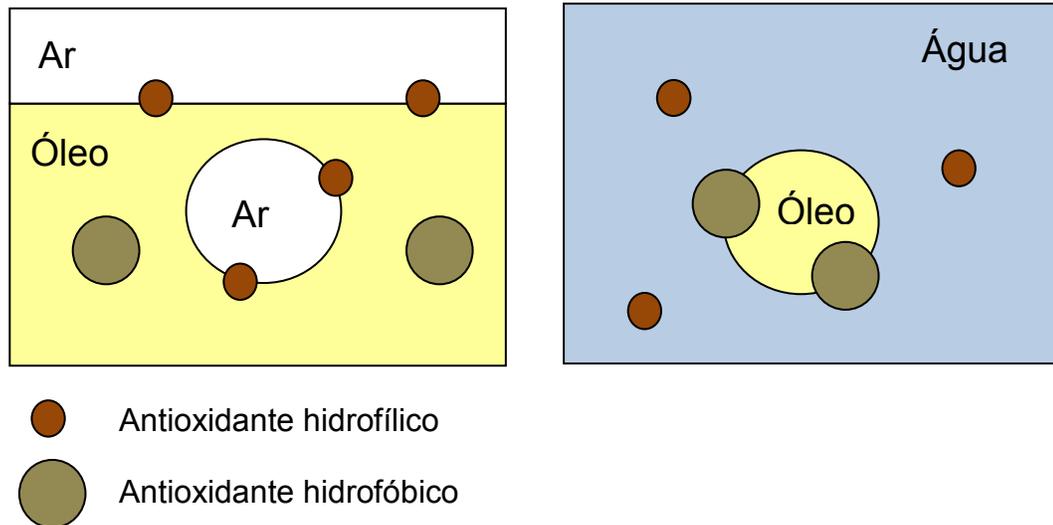


Figura 8 - Distribuição dos antioxidantes hidrofílicos e hidrofóbicos nas interfaces dos sistemas contendo óleo (à esquerda) e uma emulsão de óleo em água (à direita)
Fonte: Frankel; Meyer (2000)

2.1.5.4 Estabilidade oxidativa – Rancimat

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo e inevitável que tem implicação direta no valor comercial quer dos corpos graxos, quer de todos os produtos a partir deles formulados. Assim, a avaliação do estado de oxidação de óleos e gorduras é uma determinação importante em nível industrial, seja para controle da qualidade da matéria-prima ou dos produtos comercializados (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

Os testes acelerados, recorrendo a condições padronizadas de oxidação acelerada (oxigenação intensiva, tratamento térmico e/ou catálise metálica), permitem estimar de forma rápida a estabilidade oxidativa de uma matéria graxa ou a eficácia teórica de um antioxidante, isolado ou em associação, assumindo importância na rotina analítica (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999). Os testes de Swift ou Método do Oxigênio Ativo, de estufa de Schaal e o Rancimat são testes acelerados de deterioração que avaliam a estabilidade de óleos e gorduras.

O método do Rancimat baseia-se na determinação automática do tempo decorrido para se atingir a taxa máxima de oxidação de um óleo. Esse tempo, também chamado de tempo de indução ou índice de estabilidade do óleo, é determinado pela medida do aumento da condutividade da água deionizada, devido aos compostos finais de oxidação que nela são borbulhados (FARHOOSH, 2007) (Figura 9).

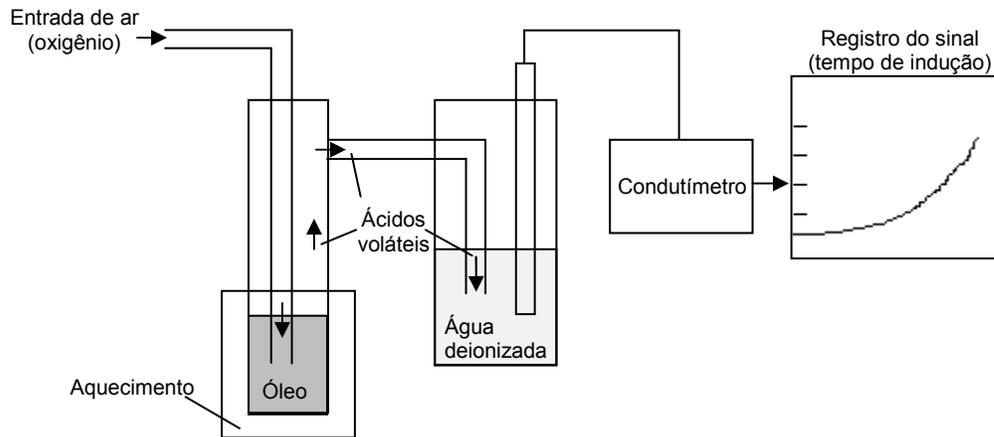


Figura 9 - Esquema do funcionamento do Rancimat
Fonte: Silva; Borges; Ferreira (1999)

2.2 Material e métodos

2.2.1 Aquisição da matéria-prima

As frutas foram adquiridas da Companhia de Entrepósitos de Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP) e da Central de Abastecimento de Campinas S.A. (CEASA), a saber: abacaxi (*Ananas comosus* L.), acerola (*Malpighia glabra* L.), manga (*Mangifera indica* L.), maracujá (*Passiflora edulis* Sims), melão (*Cucumis melo* L.), goiaba (*Psidium guajava* L.) e pitanga (*Eugenia uniflora* L.). A escolha dos cultivares se deu conforme a disponibilidade no mercado de cada uma das frutas, na época da aquisição das mesmas, como mostra a Tabela 6.

Tabela 6 - Período de aquisição das frutas tropicais

Fruta	Período (mês/ano)
Abacaxi (<i>Ananas comosus</i> L.)	Março/2008
Acerola (<i>Malpighia glabra</i> L.)	Novembro/2007
Manga (<i>Mangifera indica</i> L.)	Janeiro/2008
Maracujá (<i>Passiflora edulis</i> Sims)	Julho/2008
Melão (<i>Cucumis melo</i> L.)	Fevereiro/2008
Goiaba (<i>Psidium guajava</i> L.)	Abril/2008
Pitanga (<i>Eugenia uniflora</i> L.)	Agosto/2008

2.2.2 Tratamento e obtenção da polpa das frutas

Após a lavagem das frutas em água corrente, procedeu-se a retirada das cascas e sementes. A polpa de acerola foi obtida por meio da despulpadeira, enquanto que as demais frutas foram cortadas em pedaços e trituradas em liquidificador. Aproximadamente 5,0 litros de polpa foram obtidos de cada uma das frutas, sendo em seguida dispostas em bandejas, submetidas ao congelamento à temperatura de -20°C e à liofilização com vácuo na faixa de 60-100 µHg e temperatura de -45°C. As polpas liofilizadas foram acondicionadas em embalagens feitas com folha de alumínio e plásticas, para a proteção contra umidade e luz, e armazenadas à -20°C até o momento das análises.

Para o cálculo de rendimento foram utilizados os valores das pesagens das bandejas, contendo a polpa das frutas, antes e após o processo de liofilização.

2.2.3 Caracterização da matéria-prima

2.2.3.1 Umidade

A umidade da polpa das frutas foi medida em determinador de umidade por infravermelho, marca Tecnal, em temperaturas de 85°C para o melão, 80°C para acerola, manga, maracujá e pitanga e 75°C para goiaba e abacaxi cujos valores foram estabelecidos quando não houve caramelização das amostras. Todas as medidas foram realizadas em triplicata.

2.2.3.2 Cor

A cor da casca foi determinada por meio de duas leituras na superfície das frutas, em lados opostos da região equatorial utilizando-se o colorímetro Minolta, modelo Chroma-Meter-200b. Os resultados foram expressos em ângulo de cor ($^{\circ}h$), de acordo com McGUIRRE (1992).

A cor da polpa foi determinada após a obtenção da mesma (item 2.2.2) por meio de duas leituras. Os resultados foram expressos em cromaticidade (C).

2.2.3.3 Sólidos solúveis totais (SST)

O teor de sólidos solúveis totais das polpas das frutas foi obtido por meio da leitura direta em refratômetro marca Atago n.1 (0~32 Brix) e, os resultados expressos em Brix.

2.2.3.4 Acidez titulável (AT)

A acidez titulável foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Pregolato e Pregolato (1985). Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido cítrico na polpa (% ácido cítrico).

2.2.3.5 Relação SST/AT (R)

A relação SST/AT foi determinada por meio da eq. (1):

$$R = \frac{SST}{AT} \quad (1)$$

Onde:

SST = Sólidos solúveis totais (Brix)

AT = Acidez titulável (% Ácido Cítrico)

2.2.3.6 pH

O pH das polpas liquefeitas das frutas foi determinado por meio de duas leituras das amostras, segundo metodologia indicada pela AOAC (2005). O equipamento utilizado foi o potenciômetro da marca Tecnopon.

2.2.4 Preparo do extrato das frutas

Vários métodos e solventes são utilizados em estudos de composição fenólica e atividade antioxidante de frutas e plantas em geral. Muitos fatores influenciam a eficiência de extração como: tipo de solvente, pH, temperatura, número de etapas da extração, volume do solvente e tamanho das partículas da amostra.

A maior parte dos ácidos fenólicos em plantas está localizada nos vacúolos e é extraída utilizando-se solventes alcoólicos ou orgânicos. Os mais comumente utilizados são o metanol ou metanol/água (MEZADRI et al., 2008; QUEIROZ et al., 2009; RUMBAOA et al., 2009; STANGELAND; REMBERG; LYE, 2009; MANIAN et al., 2008; VASCO; RUALES; KAMAL-ELDIN, 2008; HUANG et al., 2004), acetato de etila (ARNAO; CANO; ACOSTA, 2001;), etanol ou etanol/água (BAE; SUH, 2007; LIM; LIM; TEE, 2007; LIMA et al., 2005; JIANG et al., 2006; MÉNDEZ et al., 2003; LEONG; SHUI, 2002), acetona ou acetona/água (MANIAN et al., 2008; VASCO; RUALES; KAMAL-ELDIN, 2008; JIMÉNEZ-ESCRIG et al., 2001b) e acetona/água/ácido acético (KEVERS et al., 2007).

A etapa de extração é uma etapa muito importante no estudo de compostos fenólicos, pois os resultados das análises que são realizadas posteriormente a extração, seja de quantificação ou medida de atividade, são obtidos em função do conteúdo de substâncias presentes nos extratos, seja de qual natureza forem as substâncias. Devido a essa importância, alguns estudos têm sido voltados somente na investigação da

eficiência de solventes de extração, como por exemplo, os realizados por Pellegrini et al. (2007) e Rockenbach et al. (2008).

Neste estudo foi utilizado a mistura de solventes etanol:água (80:20 v/v) para a extração, por ser um bom solvente de extração, apresentar facilidade de manipulação e a toxicidade.

Os extratos das frutas foram obtidos em triplicata, como descrito por RIBEIRO et al. (2007), com algumas modificações. 3,0 g da fruta liofilizada foram transferidas para erlenmeyers onde foram adicionados 30 mL da mistura etanol:água (80:20 v/v). Os erlenmeyers contendo a fruta liofilizada e o solvente foram submetidos à agitação a 200 rpm, durante 50 minutos, a temperatura ambiente. Em seguida, os extratos foram transferidos para tubos tipo Falcon e centrifugados a 5000xg durante 15 minutos. Na sequência os extratos foram filtrados e armazenados em frascos escuros, sob atmosfera de nitrogênio e à temperatura de 8°C, até o momento das análises, e por um período não superior a uma semana.

A Figura 10 apresenta as análises que foram realizadas nas frutas *in natura* e nos seus respectivos extratos.

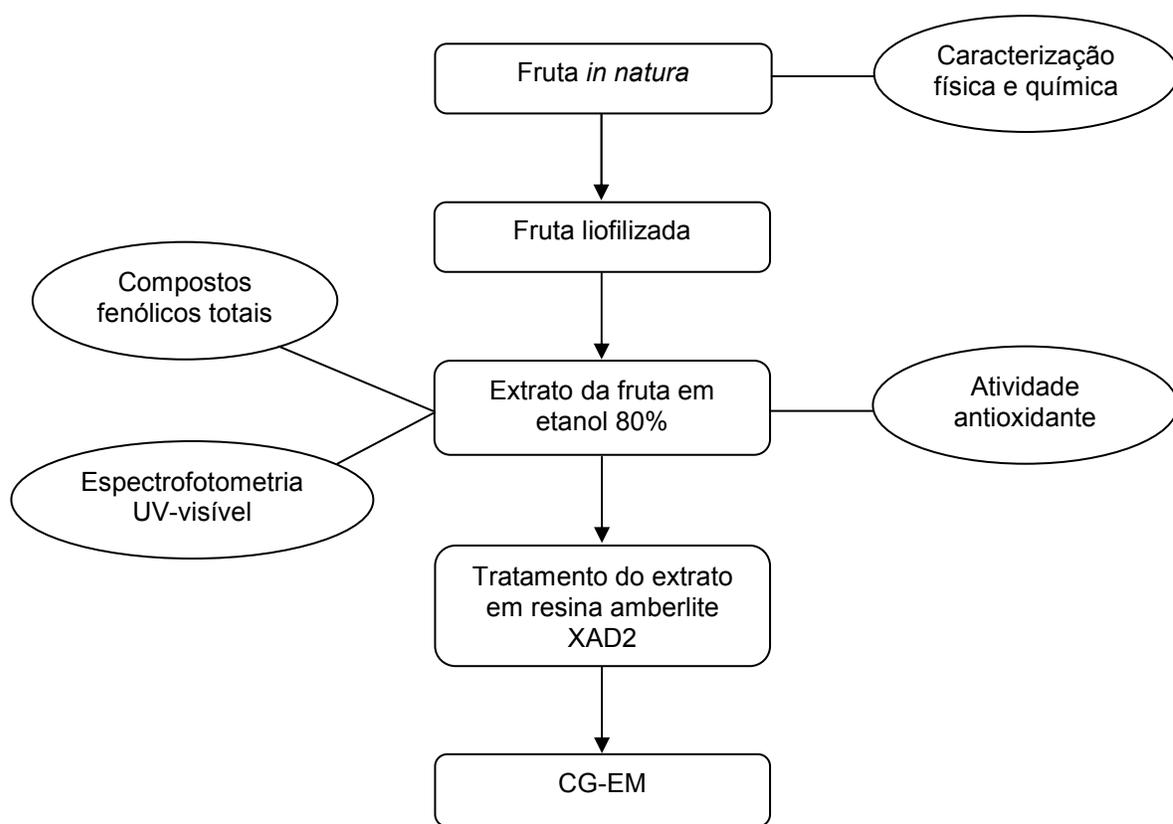


Figura 10 - Esquema da obtenção do extrato das frutas e análises realizadas

2.2.5 Espectrofotometria da região ultravioleta-visível (UV-Vis)

Os espectros de absorção foram obtidos de acordo com o método descrito por ALENCAR et al. (2005) com algumas modificações. Os extratos das polpas das frutas, obtidos de acordo com o item 2.2.4, foram diluídos em etanol:água (80:20 v/v) na razão de 1:10 para os extratos de abacaxi, manga e melão, 1:20 para os extratos de goiaba e maracujá, 1:50 para o extrato de pitanga e 1:400 para o extrato de acerola, e os espectros de absorção na região UV-Visível foram determinados na faixa de comprimento de onda de 200 a 500 nm, porém foi considerada a faixa de 220 a 350 nm, na qual as substâncias de interesse absorvem luz.

2.2.6 Compostos fenólicos totais

A análise do teor de compostos fenólicos totais dos extratos das frutas foi realizada de acordo com o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton, Orthofer e Lamuela (1999), utilizando o ácido gálico como padrão. O

reagente de Folin-Ciocalteu é uma solução complexa de íons poliméricos formados a partir de heteropoliácidos fosfomolibdicos e fosfotungsticos. Esse reagente oxida os fenolatos, reduzindo os ácidos a um complexo azul Mo-W.

Os extratos obtidos foram diluídos e uma alíquota de 0,5 mL da amostra foi transferida para um tubo de vidro e adicionado 2,5 mL da solução Folin-Ciocalteu:água (10:90 v/v). A mistura permaneceu em repouso durante 5 minutos. Em seguida, foram adicionados 2,0 mL da solução carbonato de sódio:água (4:96 m/v) e os tubos deixados em repouso por 2 horas, ao abrigo da luz. A absorbância foi medida em espectrofotômetro UV-mini 1240 (Shimadzu-Co) a 740 nm. Uma amostra em branco foi conduzida nas mesmas condições e os resultados dos compostos fenólicos totais foram expressos em equivalente de ácido gálico (mg AG/g polpa) calculados por meio do ajuste da curva de calibração do ácido gálico com concentrações que variaram de 5 a 80 $\mu\text{g/mL}$ (apêndice 1).

2.2.7 Determinação da atividade antioxidante

2.2.7.1 Atividade sequestrante do radical livre DPPH

A medida da capacidade sequestrante foi determinada pelo método DPPH*, o qual se baseia no princípio de que o DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil), sendo um radical estável de coloração violeta, aceita um elétron ou um radical hidrogênio para tornar-se uma molécula estável, sendo reduzido na presença de um antioxidante e adquirindo coloração amarela. Na forma de radical, o DPPH possui uma absorção característica a 517nm, que desaparece à medida que ele vai sendo reduzido pelo hidrogênio doado por um composto antioxidante (MENSOR et al., 2001).

Foram utilizados os padrões de α -tocoferol, BHT (Butil hidroxitolueno) e Trolox ((+/-)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-acido carboxílico) nas concentrações de 100, 200 e 50 ppm, respectivamente. A mistura de reação em tubos de vidro foi constituída pela adição de 0,5 mL dos padrões ou extratos diluídos das frutas, 3,0 mL de etanol 99% e 0,3 mL do radical DPPH 0,5 mM em solução de etanol e incubada por 45 minutos, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após esse tempo as absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro a 517 nm. A atividade anti-radical foi determinada na forma de atividade antioxidante (AA), pela eq.(2):

$$AA(\%) = 100 - \left(\frac{((Aa - Ab) \times 100)}{Ac} \right) \quad (2)$$

Onde:

Aa = absorbância da amostra

Ab = absorbância do branco

Ac = absorbância do controle negativo

O controle negativo foi feito substituindo-se o volume do extrato por igual volume do solvente utilizado na extração. O branco foi preparado substituindo o volume da solução de DPPH por igual volume de solvente.

Uma das maneiras de se expressar a atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre DPPH, também muito utilizada em pesquisas que envolve o estudo da atividade antioxidante de algum material, é por meio do EC₅₀, ou seja, a concentração mínima necessária para o antioxidante reduzir em 50% o radical DPPH inicial da reação.

Os valores do EC₅₀ foram calculados por regressão linear dos gráficos em que o eixo das abscissas representou a concentração dos extratos e o eixo das ordenadas a atividade antioxidante (%) calculada segundo a eq. 2.

A cinética dos extratos de frutas foi determinada por meio do monitoramento, a cada 20 minutos durante 120 minutos, do declínio da absorbância da solução de DPPH a 517nm. As concentrações utilizadas na reação foram calculadas a partir do extrato bruto 10% (3,0 g fruta/30 mL de solvente) e submetidas à reação.

2.2.7.2 Atividade antioxidante pelo método do ABTS^{•+}

A atividade antioxidante pelo método do ABTS [2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfônico)] foi realizada conforme a metodologia descrita por RE et al. (1999), com algumas modificações. O radical ABTS^{•+} foi formado pela reação de 140 mM de persulfato de potássio com 7 mM de ABTS e, armazenado no escuro e a temperatura ambiente, por 16 horas. Uma vez formado, o radical foi diluído com etanol até a obtenção do valor de absorbância de 0,700 ± 0,020 em comprimento de onda 734 nm.

A partir do extrato de cada fruta, obtido no item 2.2.4, foram preparadas três diluições diferentes (apêndice 2). Em ambiente escuro transferiu-se uma alíquota de 30 μL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio e adicionou-se 3,0 mL do radical ABTS^{•+}. As absorbâncias foram lidas a 734 nm, após 6 minutos da reação, utilizando o etanol como branco. Como referência utilizou-se o Trolox, um antioxidante sintético análogo à vitamina E, nas concentrações de 100 a 2000 μM (apêndice 3). Os resultados da atividade antioxidante foram expressos em μM trolox/g polpa (atividade antioxidante equivalente ao Trolox).

2.2.7.3 Auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico

A medida da atividade antioxidante pela oxidação acoplada do β -caroteno e do ácido linoléico foi realizada de acordo com o método descrito por Emmons, Peterson e Paul (1999), com algumas modificações. Foram pesados 10 mg de β -caroteno, os quais foram dissolvidos em 100 mL de clorofórmio. Após isto, foi retirada uma alíquota de 3,0 mL da solução clorofórmio/beta-caroteno e adicionado 40 mg de ácido linoléico e 400 mg de Tween 40. Em seguida, o clorofórmio foi removido com a utilização de uma corrente de gás nitrogênio e o resíduo obtido redissolvido em 100 mL de água aerada por 30 minutos. Alíquotas de 3,0 mL da emulsão β -caroteno/ácido linoléico foram misturadas com 50 μL dos extratos das frutas, devidamente diluídos, e incubadas em banho-maria a 50°C. A oxidação da emulsão foi monitorada em espectrofotômetro a 470 nm, no tempo inicial e em intervalos de 20 minutos durante 2 horas. Para a amostra controle foi utilizado o solvente de extração no lugar do extrato da fruta. Foram utilizados os padrões α -tocoferol, BHT e Trolox em concentrações de 100, 200 e 100 ppm, respectivamente. A atividade antioxidante (AA) foi expressa como porcentagem de inibição relativa comparada ao controle, após 120 minutos, usando a eq. (3):

$$AA(\%) = \frac{(DRc - DRs)}{DRc} \times 100 \quad (3)$$

Onde:

DRc = taxa de degradação do controle (= $\ln(a/b)/120$)

DRs = taxa de degradação na presença do padrão ou extrato (= $\ln(a/b)/120$)

“a” e “b” são as absorbâncias no tempo inicial (0 min) e no tempo final (120min), respectivamente.

2.2.7.4 Estabilidade oxidativa – Rancimat

Amostras de 5 g de óleo de soja (fornecido pela empresa Cargill sem adição de antioxidantes) foram misturados com extratos das frutas na concentração de 100 ppm, com base no teor de compostos fenólicos. Em seguida a mistura foi submetida a uma temperatura de $110 \pm 1^\circ\text{C}$ sob fluxo de ar seco a taxa de 9 L/h, conforme o método cd 12b-92 (AOCS, 2003), em equipamento Rancimat 743 (Metrohm AG, CH-9100 Herisau Switzerland). As leituras de condutividade crescente em função do acúmulo de compostos de oxidação compuseram a curva que traçada em função do tempo de reação, permitiu o cálculo do período de indução (PI). Um controle preparado com óleo de soja sem antioxidante e amostras contendo antioxidante sintético BHT na concentração de 100 ppm também foram submetidas a essa análise. O Fator de Proteção (PF) foi calculado usando a eq.(4):

$$PF = \frac{PIa}{PIc} \quad (4)$$

Onde:

PIa = Período de indução do óleo de soja com adição das amostras ou padrões

PIc = Período de indução do controle (óleo de soja sem adição das amostras ou padrões)

Os extratos das frutas que exibiram maiores fatores de proteção foram submetidos ao teste do Rancimat em mais três concentrações diferentes (25, 50 e 75 ppm) e os resultados foram comparados por meio do ajuste dos dados de uma regressão polinomial de segunda ordem.

2.2.8 Identificação química dos extratos das frutas

2.2.8.1 Purificação dos extratos em resina hidrofóbica

Inicialmente os extratos alcoólicos das frutas foram submetidos à vácuo e temperatura de 40°C para a evaporação da maior parte do etanol, em rotaevaporador.

Em seguida, cada um dos extratos alcoólicos de frutas foi levado ao volume de 100 mL com água destilada, acidificado a pH 2 e misturado com 100 g de resina Amberlite XAD2 (Supelco, Bellefonte, PA – poros de 9nm e partícula de 0,3-1,2mm). Na sequência, os extratos junto com a resina foram homogeneizados durante 10 minutos e uma coluna de vidro foi empacotada com esta mistura. A coluna foi eluída com 400 mL de água acidificada (pH 2), 400 mL de água destilada (pH 7) e com metanol P.A até o momento em que este solvente foi recolhido sem alguma coloração. Todo o metanol recolhido foi parcialmente evaporado sob vácuo a temperatura de 40°C. A fração aquosa resultante foi congelada e em seguida liofilizada.

2.2.8.2 Derivatização – formação de derivados do trimetilsilil (TMS)

Aproximadamente 20 mg da fração liofilizada de cada um das frutas foi rediluída com 1,0 mL de metanol P.A e transferida para um “vial”, previamente seco em estufa durante 10 horas à temperatura de 120°C. O solvente foi evaporado sob fluxo de nitrogênio e o “vial”, contendo a massa da fração recuperada da coluna foi colocado em estufa a 70°C durante 5 minutos, para remoção de toda água residual. Em seguida, foram adicionados 100 µL do reagente derivatizante (N-metil-N-(trimetilsilil)-trifluoroacetamida) e a mistura homogeneizada. O “vial” foi devidamente fechado, e colocado em estufa a 70°C, durante 30 minutos, período em que ocorreu a derivatização da amostra. Após esse tempo, o reagente derivatizante foi evaporado sob fluxo de nitrogênio e o produto da derivatização (derivados do trimetilsilil –TMS) foram rediluídos em hexano (400 a 1600 µL). A amostra silanizada foi homogeneizada e utilizada para a injeção em um cromatógrafo gasoso com espectrometria de massas (CG-EM). O mesmo procedimento foi realizado para padrões autênticos, entretanto utilizando a quantidade de 1,0 mg. Os padrões utilizados foram: os ácidos ferúlico, caféico, vanílico, sinápico, *o*-cumárico, *p*-cumárico, *m*-cumárico, (-)-epicatequina e quercetina.

O processo de derivatização foi realizado sob condições anidras devido a alta sensibilidade dos derivados TMS quando em contato com a umidade, conforme descrito por Zuo, Wang e Zhan (2002).

2.2.8.3 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)

As análises em CG-EM foram conduzidas em cromatógrafo gasoso Shimadzu, modelo GC 2010 acoplado ao espectrômetro de massas Shimadzu, modelo QP 2010 Plus. As amostras foram separadas em uma coluna capilar (RTX5MS 30m x 0,25mm x 0,25 μ m). A temperatura inicial da coluna foi de 80°C, durante 1 minuto; e atingiu 250°C a taxa de 20°C/min permanecendo nesta temperatura por 1 minuto, de 250 a 300°C a taxa de 6°C/min, durante 5 minutos; de 300 a 310°C a taxa de 15°C/min durante 5 minutos; de 310 a 320°C a taxa de 20°C/min durante 10 minutos, somando 40 minutos de análise. O gás hélio foi utilizado como gás de arraste. A temperatura do injetor foi de 280°C e o volume de injeção foi de 0,2 μ L no modo “splitless”. A interface foi mantida à temperatura de 280°C. O detector de massas operou no modo “scanning” m/z de 40 a 800.

A integração foi feita no “software” LabSolutions-GCMS solution e a identificação dos compostos detectados foi realizada por comparação com os dados dos espectros de massas das bibliotecas Wiley⁸ e “fenólicos”, a qual foi elaborada, no Laboratório de Bioquímica do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (LAN/ESALQ), a partir de padrões autênticos injetados. Os compostos que não foram identificados, caracterizaram-se os íons moleculares principais, de acordo com a relação massa-carga (m/z).

2.2.9 Análise estatística

As análises estatísticas dos resultados foram realizadas por meio do software SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 2002), com a análise de variância por meio do procedimento “GLM”. Para a comparação das médias, utilizou-se o teste de *Tukey* a 5% de probabilidade.

2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Aquisição da matéria-prima e processamento das polpas

O aspecto das frutas adquiridas no CEAGESP e no CEASA pode ser visualizado na Figura 11. As frutas foram adquiridas em caixas de papelão ou madeira, onde permaneceram até serem transportadas ao laboratório para a lavagem, caracterização e processamento.

Segundo a ANVISA (1978), a polpa de fruta é definida como um produto não fermentado, não concentrado e não diluído, obtida pelo esmagamento das partes comestíveis de frutas polposas, através de um processo adequado. As polpas devem ser preparadas com frutas completamente maduras, sem injúrias mecânicas e isentas de material estranho. Não deverão conter fragmentos das partes não comestíveis da fruta, nem substâncias diferentes à sua composição normal. Tais características foram observadas nas frutas adquiridas nos entrepostos, o que permitiu obter polpas de boa qualidade visual (Figura 12).

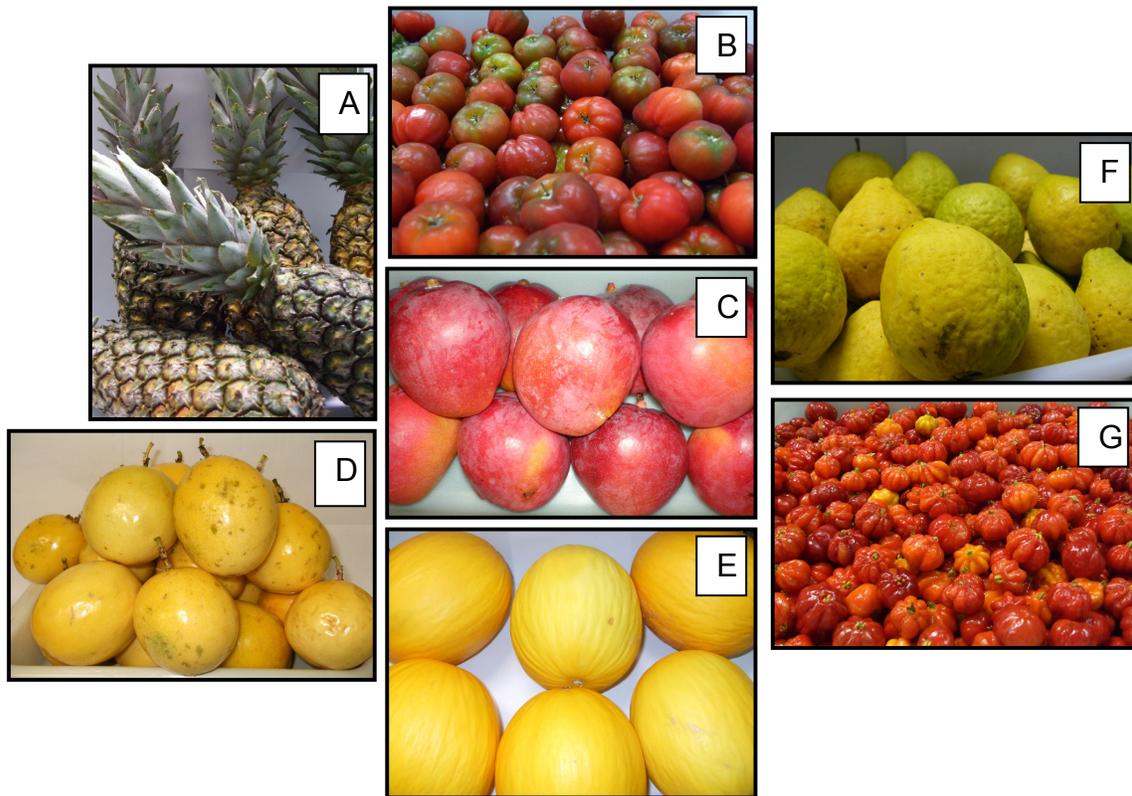


Figura 11 - Frutas: abacaxi (A), acerola (B), manga (C), maracujá (D), melão (E), goiaba (F) e pitanga (G)

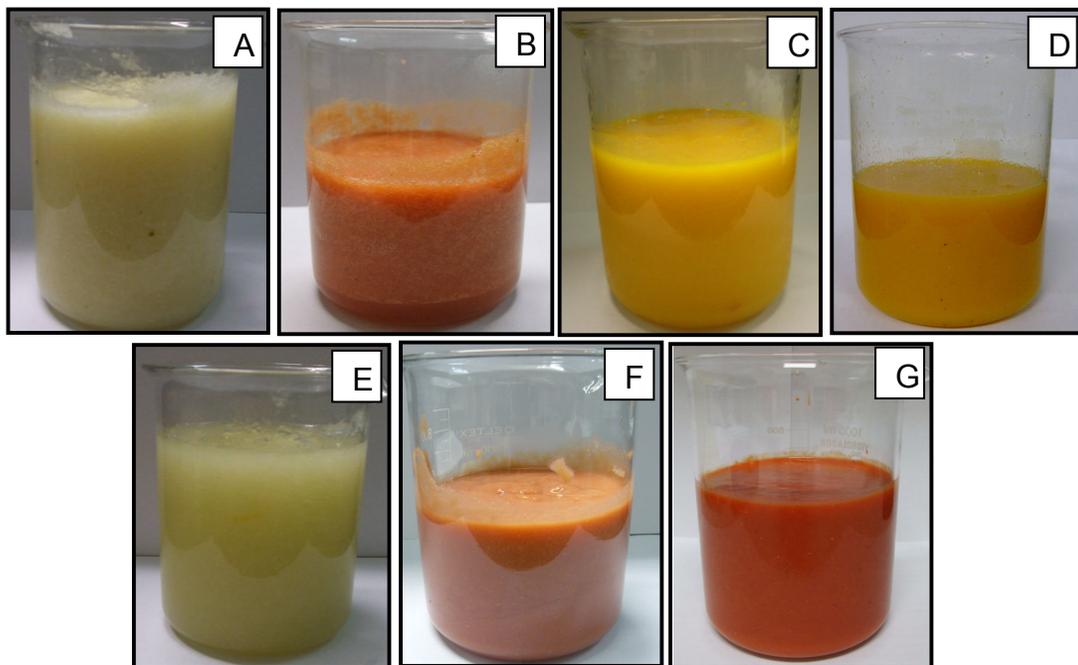


Figura 12 - Polpas: abacaxi (A), acerola (B), manga (C), maracujá (D), melão (E), goiaba (F) e pitanga (G)

Após a obtenção da polpa, esta foi liofilizada, com o intuito de conservá-la para viabilizar as extrações e análises, conforme descrito no item 2.2.2. A liofilização é uma técnica em que a água é removida de materiais congelados pela sublimação do gelo, que resulta em produtos desidratados de alta qualidade (conservação de nutrientes como as vitaminas), devido à baixa temperatura utilizada no processo (RATTI, 2001). Muitos autores também tem utilizado o processo de liofilização no tratamento de amostras (RIBEIRO et al., 2007; NETZEL et al., 2006; HARNLY et al., 2006; KIM; JEONG; LEE, 2003; VASCO; RUALES; KAMAL-ELDIN, 2008; WOJDYLO; OSZMIANSKI; CZEMERYS, 2007; RIBEIRO et al., 2008; RUMBAAO; CORNAGO; GERONIMO, 2009; GARCÍA-ALONSO et al., 2004).

Após a liofilização calculou-se o rendimento do processo de cada uma das polpas de fruta. As polpas que tiveram os maiores rendimentos foram as polpas de abacaxi e maracujá, as quais apresentaram valores de 15,4 e 13,7%, respectivamente. A polpa que teve o menor rendimento, a acerola (6,74%), foi a que apresentou a maior umidade (Tabela 8), o que explica em parte o baixo rendimento. As demais polpas de frutas apresentaram valores intermediários de rendimento, conforme descrito na Tabela 7.

Tabela 7 - Rendimento das polpas das frutas após a liofilização

Polpa de Frutas	Rendimento (%)
Abacaxi	15,4
Acerola	6,74
Manga	11,7
Maracujá	13,7
Melão	9,08
Goiaba	9,94
Pitanga	10,9

A umidade de um alimento está relacionada com sua estabilidade, qualidade e composição. A água está presente em três formas diferentes nos alimentos: água livre, água absorvida e água ligada. A determinação da umidade ou a água que será

efetivamente medida depende do método analítico, sendo que em todos os métodos a água livre é medida (CECCHI, 2003). A umidade teve relação direta com o rendimento no processo de liofilização. A polpa de abacaxi, cuja umidade foi a menor dentre as polpas de frutas analisadas ($85,9 \pm 0,8\%$), conforme apresentado na Tabela 8, foi a que apresentou o maior rendimento ($15,4\%$).

2.3.2 Caracterização da matéria-prima

A caracterização físico-química, que está relacionada com os estádios de maturação, deve ser baseada em um conjunto de valores que permitam expressar a fase do desenvolvimento da fruta, remetendo cada estágio à uma qualidade sensorial. Assim, é importante caracterizar o material analisado cujo conteúdo das substâncias nele presentes são influenciadas pelo estágio de maturação, tempo e região de cultivo e variedade.

A Tabela 8 apresenta as características físico-químicas das frutas analisadas.

Tabela 8 – Características físico-químicas das frutas tropicais analisadas

Variáveis	(continua)			
	Abacaxi	Acerola	Manga	Maracujá
Umidade (%)	$85,9 \pm 0,8$	$94,6 \pm 0,3$	$86,1 \pm 0,8$	$87,2 \pm 0,3$
Cor da casca (°h)	$88,3 \pm 0,4$	35 ± 3	51 ± 3	97 ± 3
Cor da polpa (C)	$10,6 \pm 0,6$	$27,5 \pm 0,3$	$47,824 \pm 0,008$	$19,6 \pm 0,1$
SST (Brix)	$13,1 \pm 0,1$	$5,1 \pm 0,1$	$13,7 \pm 0,6$	$11,1 \pm 0,1$
ATT (% ácido cítrico)	$1,651 \pm 0,007$	$2,4 \pm 0,1$	$0,594 \pm 0,004$	$4,806 \pm 0,004$
Relação SST/ATT	$8,3 \pm 0,3$	$2,11 \pm 0,08$	23 ± 1	$2,32 \pm 0,02$
pH da polpa	3,65	3,51	3,92	2,86
	Melão		Goiaba	Pitanga
Umidade (%)	$93,1 \pm 0,1$		$88,2 \pm 0,1$	92 ± 1
Cor da casca (°h)	$92,0 \pm 0,4$		101 ± 2	$24,1 \pm 0,3$
Cor da polpa (C)	$3,0 \pm 0,1$		$18,8 \pm 0,3$	$26,51 \pm 0,07$

Tabela 8 – Características físico-químicas das frutas tropicais analisadas

Variáveis	(conclusão)		
	Melão	Goiaba	Pitanga
SST (Brix)	7,07±0,06	8,1±0,2	8,2±0,2
ATT (% ácido cítrico)	0,135±0,003	0,81±0,01	1,239±0,004
Relação SST/ATT	52±1	9,9±0,2	6,6±0,2
pH da polpa	5,79	4,16	3,39

* Os resultados expressam a média das triplicatas ± desvio padrão, exceto para os valores do pH

O ângulo de cor ($^{\circ}h$) pode variar de 0 a 360° , sendo que 0° corresponde a cor vermelha, 90° corresponde ao amarelo, 180° ao verde e 270° ao azul. As cores da casca do melão, do abacaxi, da goiaba e do maracujá ficaram próximas do amarelo, enquanto que as da acerola, manga e pitanga ficaram entre as cores vermelho e amarelo.

A cromaticidade ou croma (C), a qual mede a intensidade da cor da polpa, demonstrou que a cor da polpa mais intensa foi a da polpa de manga, com o valor de $47,824 \pm 0,008$ e a menos intensa foi a cor da polpa de melão, com o valor de $3,0 \pm 0,1$.

Os sólidos solúveis totais representam os compostos solúveis em água presentes nas frutas, como açúcares, vitaminas, ácidos, aminoácidos e algumas pectinas. Geralmente, o teor de sólidos solúveis aumenta durante a maturação pela biossíntese ou degradação de polissacarídeos (CHITARRA; CHITARRA, 1990). As polpas das frutas que apresentaram maior teor de sólidos solúveis foram as polpas de manga e abacaxi com valores de $13,7 \pm 0,6$ e $13,1 \pm 0,1$ Brix, respectivamente. O menor valor foi encontrado na polpa de acerola ($5,1 \pm 0,1$ Brix).

A acidez titulável de uma fruta é dada pela presença de ácidos orgânicos que decresce em função do avanço da maturação devido à oxidação no ciclo dos ácidos tricarbóxicos, sendo fundamentais na síntese de compostos fenólicos, lipídeos e aromas voláteis (CHITARRA; CHITARRA, 1990). O maior e o menor valor da porcentagem de ácido cítrico ($4,806 \pm 0,004$ e $0,135 \pm 0,003\%$) foram encontrados nas polpas de maracujá e melão, respectivamente.

A relação entre sólidos solúveis totais e acidez titulável fornece um indicativo do sabor da fruta, pois relaciona a quantidade de açúcares e ácidos presentes. Esta

relação tende a aumentar durante a maturação, devido ao aumento nos teores de açúcares e à diminuição no dos ácidos. O maior valor da relação SST/AT foi atribuído à polpa de melão (52 ± 1), no entanto, trata-se de uma fruta com baixo teor de sólidos solúveis e acidez titulável o que confere alto valor da relação SST/AT. O menor valor foi atribuído à polpa de acerola ($2,11 \pm 0,08$).

O pH é inversamente proporcional à atividade dos íons hidrogênio, sendo que a atividade é o teor de íons H^+ efetivamente dissociados. Porém, em alimentos, pode-se considerar a atividade igual à concentração de H^+ . O maior e o menor valores de pH (5,79 e 2,86) foram encontrados nas polpas de melão e maracujá, respectivamente.

2.3.3 Espectrofotometria da região ultravioleta-visível (UV-Visível)

Os espectros de absorção na região ultravioleta-visível dos extratos das frutas estão ilustrados na Figura 13. A absorção máxima dos espectros variou de 245,5 a 271,5 nm. De acordo com Mabry, Markham e Thomas (1970) apud Oldoni (2007), a faixa de comprimento de onda (λ) entre 220 e 350 nm corresponde à região do ultravioleta visível em cuja faixa os flavonoides e compostos fenólicos absorvem luz.

Os fatores de diluição utilizados para gerar os espectros de absorção foram: 1:10 para os extratos de abacaxi, manga, melão, 1:20 para os extratos de goiaba e maracujá, 1:50 para o extrato de pitanga e 1:400 para o extrato de acerola, sendo esse último espectro o que apresentou maior pico de absorção na região de interesse (220 a 350 nm). Isto sugere uma maior concentração de compostos fenólicos nesse extrato, seguido pelo extrato de pitanga. O espectro do extrato do melão sugere que essa fruta contém a menor concentração de compostos fenólicos dentre as demais, pois além do espectro ter sido obtido com um extrato menos diluído, apresentou um menor pico de absorção na região UV de 220 a 350 nm.

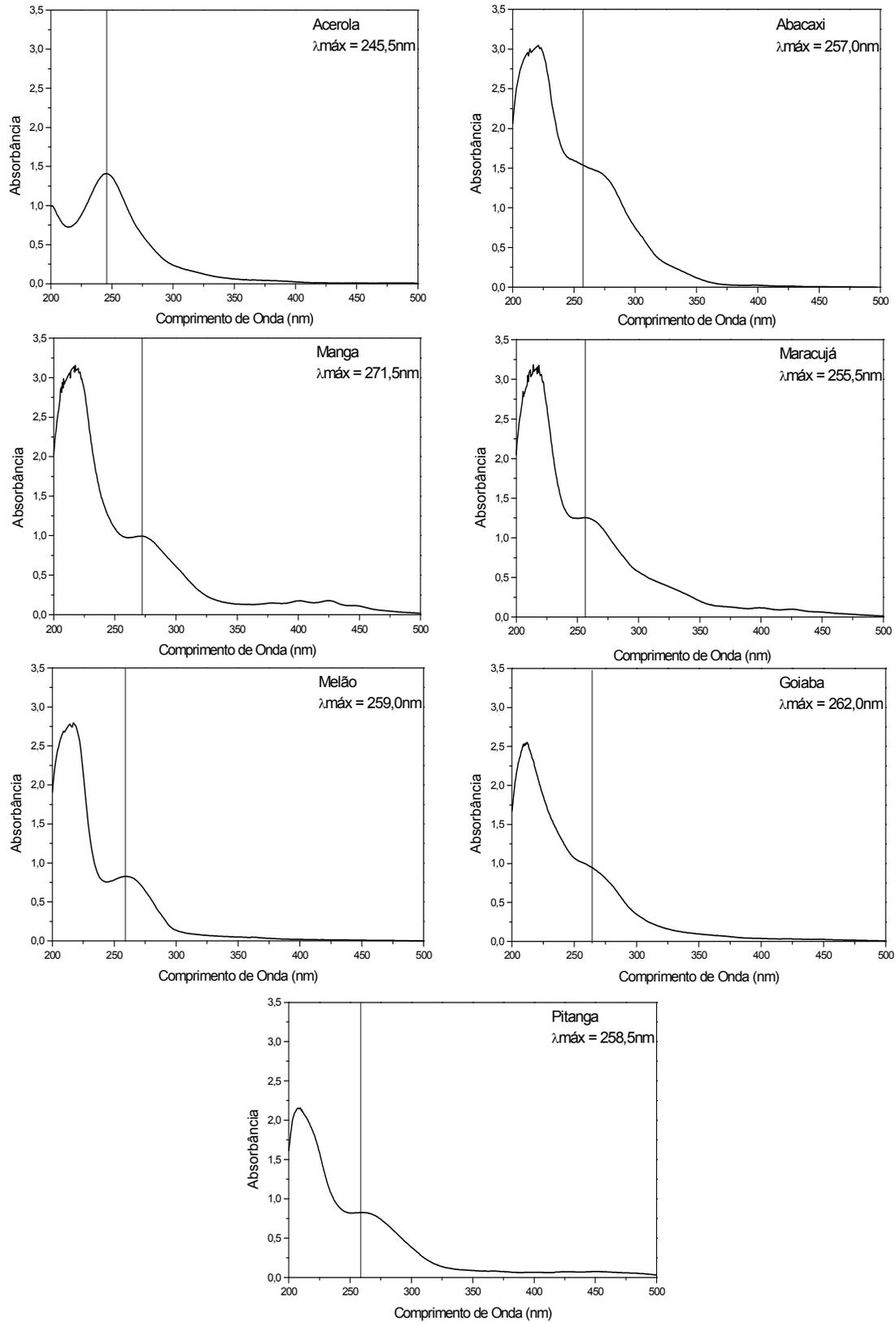


Figura 13 - Espectros de absorção na região ultravioleta-visível dos extratos de frutas

2.3.4 Compostos fenólicos totais

A atividade antioxidante de plantas está correlacionada à quantidade de compostos fenólicos (CHEUNG; CHEUNG; OOI, 2003). Assim, a importância de se quantificar esses compostos. A Tabela 9 apresenta os valores dos compostos fenólicos totais equivalentes ao ácido gálico no extrato etanólico das frutas e na polpa, com base no volume do solvente e na quantidade de fruta liofilizada utilizada na extração. Os valores foram expressos em base seca.

Com base nos resultados obtidos, foi observada diferença significativa na quantidade de compostos fenólicos na maioria das frutas. Somente não foi observada diferença entre a manga e a goiaba que apresentaram valores de $5,57 \pm 0,06$ e $5,60 \pm 0,01$ mg AG/g polpa, respectivamente, e também entre o abacaxi ($3,62 \pm 0,05$) e o maracujá ($3,67 \pm 0,05$). A maior concentração de compostos fenólicos foi da acerola cujo valor foi de 156 ± 1 mg AG/g polpa, seguida pela pitanga ($11,5$ mg AG/g polpa). A polpa de melão apresentou menor concentração de compostos fenólicos ($1,26 \pm 0,05$ mg AG/g). Esses resultados estão de acordo com os espectros de absorção na região ultravioleta-visível dos extratos (Figura 13). Isso confirma que a região onde houve pico de absorção, maior ou menor, pertence à região de absorção dos compostos fenólicos.

Tabela 9 - Teor de compostos fenólicos equivalentes ao ácido gálico nos extratos (mg AG/mL extrato) e nas polpas das frutas (mg AG/g polpa), em base seca

Fruta	Fenólicos totais (mgAG/mL extrato)*	Fenólicos totais (mgAG/g polpa) * ξ
Abacaxi	$0,370 \pm 0,006$	$3,62 \pm 0,05^d$
Acerola	$15,8 \pm 0,1$	156 ± 1^a
Manga	$0,564 \pm 0,003$	$5,57 \pm 0,06^c$
Maracujá	$0,372 \pm 0,004$	$3,67 \pm 0,05^d$
Melão	$0,128 \pm 0,002$	$1,26 \pm 0,05^e$
Goiaba	$0,564 \pm 0,002$	$5,60 \pm 0,01^c$
Pitanga	$1,16 \pm 0,01$	$11,5 \pm 0,1^b$

*Valores das médias das triplicatas \pm desvio padrão/ Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey

ξ Base seca

No estudo sobre atividade antioxidante em acerola e derivados, Mezadri et al. (2008) encontraram valores de compostos fenólicos totais que variaram de 8,05 a 11,50 mg AG/g para a polpa de acerola, em base úmida. Esses autores consideraram essa fruta como sendo de alto conteúdo de fitoquímicos, os quais são responsáveis pela atividade antioxidante.

O método para medir o conteúdo total de fenólicos utilizando o reagente Folin-Ciocalteu, apesar de muito utilizado, possui algumas limitações, segundo Oliveira et al. (2009) relacionadas à superestimação do conteúdo fenólico em larga extensão. A vitamina C é considerada como um dos interferentes não fenólico. Em pesquisa realizada por Oliveira et al. (2009) foi verificado que a adição de ácido ascórbico a ácido gálico em diferentes proporções provocou aumento de absorbância, uma interferência de 20% quando a razão ascorbato/gálico foi maior ou igual a 1. Esta é uma importante observação a ser considerada, principalmente se tratando do estudo de frutas com alto teor de vitamina C, como a acerola.

Ribeiro et al. (2007) estudaram a atividade antioxidante em mangas e encontraram para quatro variedades diferentes dessa fruta valores de fenólicos totais que variaram de 0,5 a 20,00 mg AG/g polpa, em base úmida. A variedade T. Atkins foi a que apresentou o menor teor de compostos fenólicos, próximo ao valor encontrado nesse estudo ($0,74 \pm 0,01$ mg AG/g polpa, em base úmida), em que foi utilizada a mesma variedade de manga.

Sun et al. (2002), no estudo da atividade antioxidante de algumas frutas, encontraram o valor de 0,40mg AG/g polpa para o abacaxi, valor semelhante ao encontrado nesse estudo com a mesma fruta ($0,41 \pm 0,01$ mg AG/g polpa, em base úmida).

2.3.5 Determinação da atividade antioxidante

2.3.5.1 Atividade sequestrante do radical livre DPPH

Os resultados da atividade antioxidante, obtidos por meio da análise dos extratos das frutas e das substâncias de referência (α -tocoferol, BHT e Trolox), estão apresentados na Figura 14. Para tornar possível a comparação dos resultados entre os valores da atividade antioxidante obtidos dos extratos das frutas, todos foram diluídos à

mesma concentração de 0,0250 mg AG/mL extrato, com base no teor de compostos fenólicos determinados em cada uma das frutas. As concentrações utilizadas para as substâncias de referência foram 100, 200 e 50 ppm para o α -tocoferol, BHT e Trolox, respectivamente.

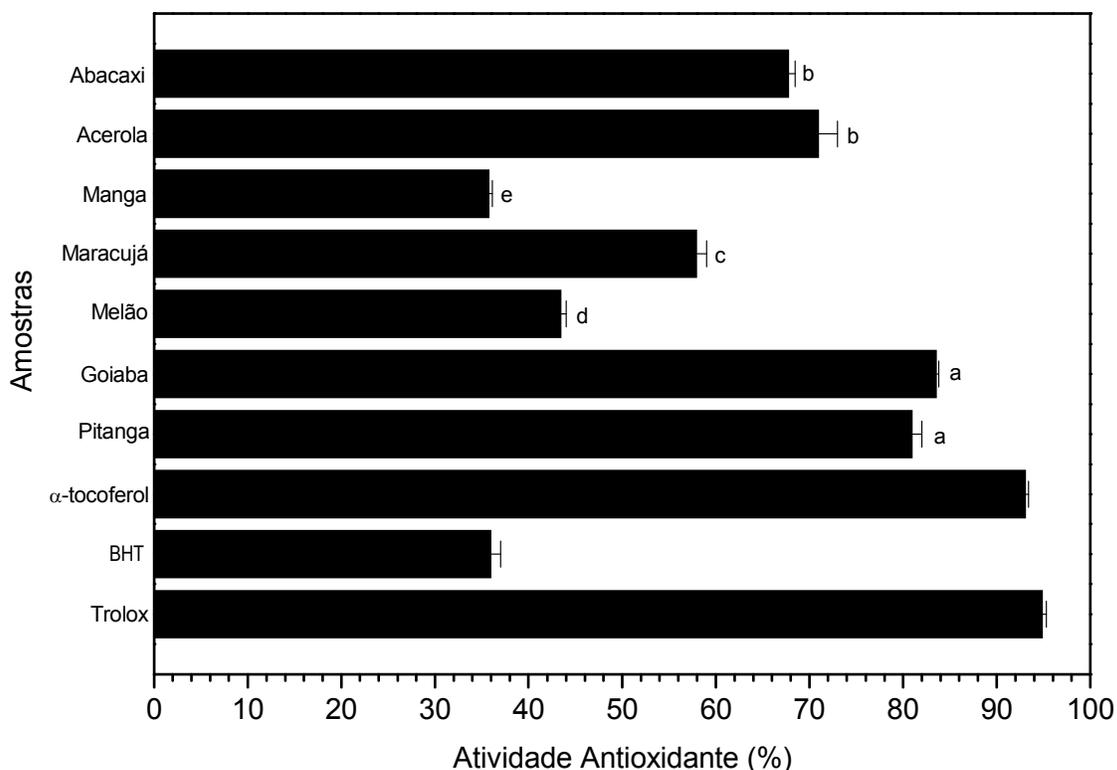


Figura 14 - Atividade antioxidante (%) dos extratos das frutas e das substâncias de referência pelo método do sequestro do radical livre DPPH. Médias das triplicatas e o desvio padrão estão indicados. Letras diferentes indicadas nas barras diferem estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste de *Tukey*.

Conforme apresentado na Figura 14, quatro dos sete extratos de frutas analisados apresentaram atividade de sequestro do radical livre DPPH acima de 60%. Um estudo semelhante foi realizado por Melo et al. (2006) com hortaliças e, os extratos que apresentaram atividade de sequestro do radical DPPH superior a 70% foram considerados eficazes. Os extratos que exibiram atividade entre 60-70% apresentaram ação moderada e aqueles que apresentaram atividade inferior a 60% foram considerados com fraca ação antioxidante.

O extrato de goiaba foi o que apresentou maior atividade ($83,6 \pm 0,2\%$), no entanto, não diferiu estatisticamente da atividade do extrato da pitanga ($81 \pm 1\%$). Os extratos de acerola e abacaxi também não diferiram estatisticamente entre si e apresentaram valores de atividade de $71 \pm 2\%$ e $67,8 \pm 0,7$, respectivamente. Os extratos de maracujá, melão e manga apresentaram resultados de atividade menor que 60% os quais foram 58 ± 1 , $43,5 \pm 0,5\%$ e $35,8 \pm 0,3\%$, respectivamente. Dentre as substâncias de referência, o Trolox e o α -tocoferol apresentaram os maiores valores de atividade, maiores que os encontrados para os extratos das frutas. Nas condições que a análise foi conduzida, o BHT apresentou uma atividade de $36 \pm 2\%$, assemelhando-se com o resultado obtido do extrato de manga.

Segundo Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), apesar da praticidade do método, alguns cuidados devem ser tomados na interpretação dos resultados obtidos devido ao mecanismo de reação do DPPH^{*} com outras substâncias, mecanismo esse dependente da conformação estrutural dos compostos envolvidos na reação. Alguns reagem rapidamente com o DPPH^{*}, enquanto que outros, a maioria, a reação é mais complexa, devido a isso, é importante construir uma cinética de reação das substâncias.

Com a observação dos gráficos da cinética (Figura 15), percebe-se que em baixas concentrações dos extratos, a estabilidade da reação com o radical livre DPPH começa a ser estabelecida a partir dos 80 minutos do início da reação, exceto para o extrato da acerola cuja reação parece estar estabilizada desde os 30 minutos da reação, ou seja, a característica do extrato foi reduzir rapidamente o radical livre DPPH antes dos 10 minutos do início da reação.

O ácido ascórbico, isoascórbico e isoeugenol reagem rapidamente com o DPPH^{*}, fazendo a reação atingir a estabilidade imediatamente após o seu início (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). Sendo a acerola uma fruta cujo conteúdo de vitamina C é elevado, o comportamento da reação pode ser explicado pela presença dessa vitamina no extrato.

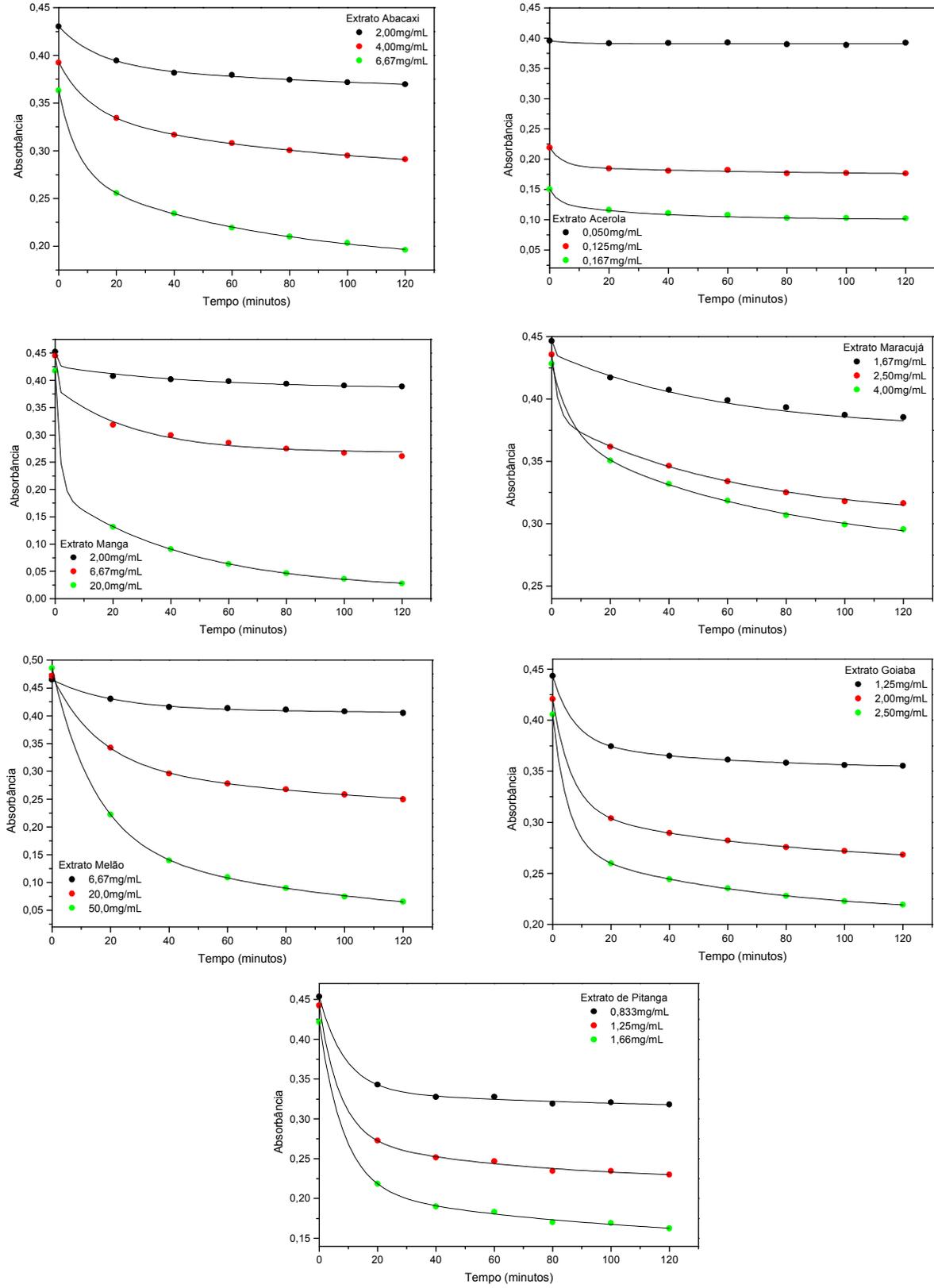


Figura 15 - Cinética de redução do radical livre DPPH dos extratos de frutas

Outra observação, a partir dos gráficos da cinética, refere-se às baixas concentrações dos extratos de pitanga (1,66 mg/mL) e goiaba (2,50 mg/mL) que reduziram a absorvância inicial até uma faixa de 0,15-0,21 ao final dos 120 minutos. Os demais extratos, ao final desse tempo, mesmo em concentrações maiores, reduziram a absorvância até um valor próximo ou maior dos valores atingidos pelos extratos de pitanga e goiaba. Por exemplo, o extrato de abacaxi na concentração de 6,67 mg/mL atingiu o valor de absorvância de 0,20 ao final de 120 minutos. Os extratos de manga e melão, em maiores concentrações, atingiram valores um pouco menores comparados aos extratos de pitanga e goiaba. No entanto, as concentrações dos extratos daqueles estavam, no mínimo, oito vezes mais elevadas que os extratos destes. Isso pode ser explicado pelo fato dos compostos com atividade presentes na pitanga e goiaba interagirem melhor com o radical livre DPPH. Os compostos das demais frutas interagem com o DPPH[•] mas numa reação mais lenta devido à baixa interação com o radical livre DPPH ou pelo baixo teor dos compostos fenólicos, principalmente no melão, de acordo com a Tabela 9.

Em geral, após 100 minutos, a estabilidade da reação dos extratos com o radical livre DPPH foi estabelecida ou a taxa da reação diminuiu lentamente. Desta forma, este tempo foi escolhido para o cálculo da concentração mínima necessária do extrato para as substâncias nele presentes reduzir em 50% o radical DPPH inicial da reação. Os resultados do EC₅₀ foram expressos em mg/mL, e estão mostrados na Tabela 10.

Tabela 10 - Valor do EC₅₀ (mg/mL) dos extratos das frutas

Frutas	EC ₅₀ (mg/mL)*
Abacaxi	7 _± 2
Acerola	0,106 _± 0,002
Manga	8,0 _± 0,7
Maracujá	1,62 _± 0,04
Melão	6,14 _± 0,04
Goiaba	2,36 _± 0,09
Pitanga	1,19 _± 0,06

*Média das duplicatas_±desvio padrão

Os menores valores das concentrações dos extratos necessárias para reduzir em 50% o radical DPPH foram referentes aos extratos de acerola, pitanga, maracujá e goiaba e os maiores foram exibidos pelos extratos de manga, abacaxi e melão, ou seja, foi necessária uma menor diluição daqueles extratos para reduzir a mesma quantidade do radical livre DPPH em comparação com estes. Assim, os extratos que apresentaram os menores valores do EC₅₀ podem ser considerados os melhores. Não há relação do EC₅₀ com a porcentagem de inibição apresentada na Figura 14, em que o resultado foi obtido a partir de concentrações iguais dos extratos no tempo de 45 minutos.

Algumas frutas já são muito conhecidas pelas suas propriedades antioxidantes e por serem fontes de substâncias que exercem essa atividade. Como exemplo tem-se a goiaba cuja polpa, além da casca, possui altos teores de compostos fenólicos, conforme observado por Jiménez-Escrig et al. (2001a), e que estes compostos contribuem significativamente com a alta atividade antioxidante da goiaba.

A pitanga, apresenta consideráveis teores de fenólicos e carotenóides totais que fazem dessa fruta uma fonte promissora de compostos antioxidantes (LIMA; MÉLO; LIMA, 2002).

Mezadri et al. (2008) verificaram, com base em estudos de atividade antioxidante em acerola e seus derivados, que estes produtos contém elevado potencial antioxidante e podem ser considerados como ingredientes funcionais.

Kuskoski et al. (2005), no trabalho sobre atividade antioxidante em polpas de frutas, concluíram que as polpas de frutas tropicais congeladas e comercializadas no Brasil possuem elevados valores de atividade antioxidante, especialmente as polpas de acerola e manga.

2.3.5.2 Atividade antioxidante pelo método ABTS⁺

Na Tabela 11 estão apresentados os resultados obtidos pelo método ABTS⁺ dos extratos das polpas das frutas, apresentados em atividade antioxidante equivalente ao Trolox ($\mu\text{M Trolox/g polpa}$) em base úmida e seca.

Tabela 11 - Atividade antioxidante equivalente ao trolox dos extratos das polpas das frutas

Frutas	Atividade antioxidante	Atividade antioxidante
	($\mu\text{M Trolox/g polpa}$) (base úmida)*	($\mu\text{M Trolox/g polpa}$) (base seca)*
Abacaxi	2,62 \pm 0,03	18,7 \pm 0,2 ^e
Acerola	39 \pm 3	788 \pm 55 ^a
Manga	2,7 \pm 0,1	18,7 \pm 0,8 ^e
Maracujá	3,34 \pm 0,08	25 \pm 1 ^d
Melão	0,46 \pm 0,04	6,7 \pm 0,7 ^f
Goiaba	5,14 \pm 0,06	46 \pm 1 ^c
Pitanga	6,3 \pm 0,1	82 \pm 2 ^b

*Valores das médias das triplicatas \pm desvio padrão/ Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey

A maior atividade antioxidante, dentre as frutas analisadas foi, da acerola (788 \pm 55), cujo valor foi muito maior em comparação com os demais, quase cento e vinte vezes maior em comparação com o menor valor, exibido pelo melão (6,7 \pm 0,7 $\mu\text{M trolox/g polpa}$).

O valor da atividade antioxidante obtido do extrato da acerola apresentou-se menor quando comparado com o estudo realizado por Mezdari et al. (2008). Os valores encontrados pelos autores para a polpa de acerola variou de 74,30-94,28 $\mu\text{M Trolox/g polpa}$, em base úmida, e a porcentagem da contribuição da vitamina C no resultado foi acima de 60% para a maior parte das polpas analisadas. No entanto, houve também a

contribuição da fração constituída por ácidos fenólicos, antocianinas, flavanóis e flavonóis que variou de 10 a 40%. A acerola foi considerada uma excelente fonte de fitoquímicos e a contribuição da atividade antioxidante pelos antioxidantes hidrofílicos situou-se entre 40-83%, com base em nos testes de atividade antioxidante realizados. O restante da atividade foi devido à ação dos polifenóis, principalmente a dos ácidos fenólicos.

A Tabela 11 mostra que a fruta que exibiu o melhor resultado da atividade antioxidante após a acerola foi a pitanga com 82 ± 2 μM trolox/g polpa, seguida pela polpa de goiaba (46 ± 1 μM trolox/g polpa), maracujá (25 μM trolox/g polpa) abacaxi e manga (18,7 μM trolox/g polpa) e melão, com o menor valor de atividade de $6,7 \pm 0,7$ μM trolox/g polpa.

Os resultados obtidos neste trabalho para algumas frutas estão de acordo com os encontrados no estudo realizado por Kuskoski et al. (2005) com polpas de frutas tropicais. Para as frutas goiaba e maracujá os valores da atividade antioxidante foram 8,2 e 2,7 μM trolox/g polpa, em base úmida e os das mesmas frutas, pela Tabela 9, foram 5,14 e 3,34, respectivamente.

Em ordem decrescente, as frutas que apresentaram melhor atividade antioxidante pelo método ABTS foram: acerola > pitanga > goiaba > maracujá > abacaxi = manga > melão e, goiaba > pitanga > acerola > abacaxi > maracujá > manga > melão pelo método do sequestro do radical livre DPPH. Percebe-se que as frutas que apresentaram melhor atividade antioxidante, em ambos os métodos, foram as mesmas, indicando a semelhança do mecanismo de reação quanto ao sequestro de radicais livres. No entanto, as poucas diferenças podem estar relacionadas com a natureza dos compostos e com a quantidade desses compostos presentes nas frutas.

Segundo Du et al. (2009), a atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH teve forte correlação com o conteúdo de polifenóis e vitamina C em kiwi. Assim, pode-se dizer que a presença da vitamina C no extrato da acerola também contribuiu com os resultados da atividade antioxidante.

2.3.5.3 Auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico

Os valores obtidos para a atividade antioxidante, em porcentagem, utilizando o método da auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico, estão apresentados na Tabela 12. Para a comparação entre os resultados, os extratos das frutas, submetidos à análise, foram levados a mesma concentração de 0,125 mg AG/mL de extrato, com base no teor de compostos fenólicos totais. As substâncias de referência, BHT e α -tocoferol foram analisadas na concentração de 200 ppm e o Trolox, na concentração de 100 ppm. Como mostrado na Tabela 12, nenhum dos extratos exibiu 70% de atividade antioxidante, valor considerado muito bom por Melo et al. (2006). Apenas quatro dos sete extratos de frutas exibiram valores de atividade antioxidante próximo aos 60% que foram, em ordem decrescente de atividade, a pitanga, maracujá, melão e goiaba (59 ± 7 , 58 ± 4 , 58 ± 2 e $55\pm 9\%$, respectivamente). As frutas abacaxi e manga apresentaram atividade de $34,3\pm 0,6$ e $24\pm 3\%$, respectivamente e a acerola não exibiu atividade antioxidante, ao contrário, contribuiu com a oxidação ou com o rápido declínio da absorvância da emulsão ao longo do tempo, como pode ser observado na Figura 16.

Tabela 12 - Atividade antioxidante (%) dos extratos das frutas e substâncias de referência pelo método da autooxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico

Frutas	Atividade antioxidante (%)
Abacaxi	$34,3\pm 0,6^b$
Acerola	***
Manga	24 ± 3^c
Maracujá	58 ± 4^a
Melão	58 ± 2^a
Goiaba	55 ± 9^a
Pitanga	59 ± 7^a
BHT	$93,9\pm 0,2$
α -tocoferol	88 ± 1
Trolox	85 ± 4

*** Não exibiu atividade antioxidante.

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey

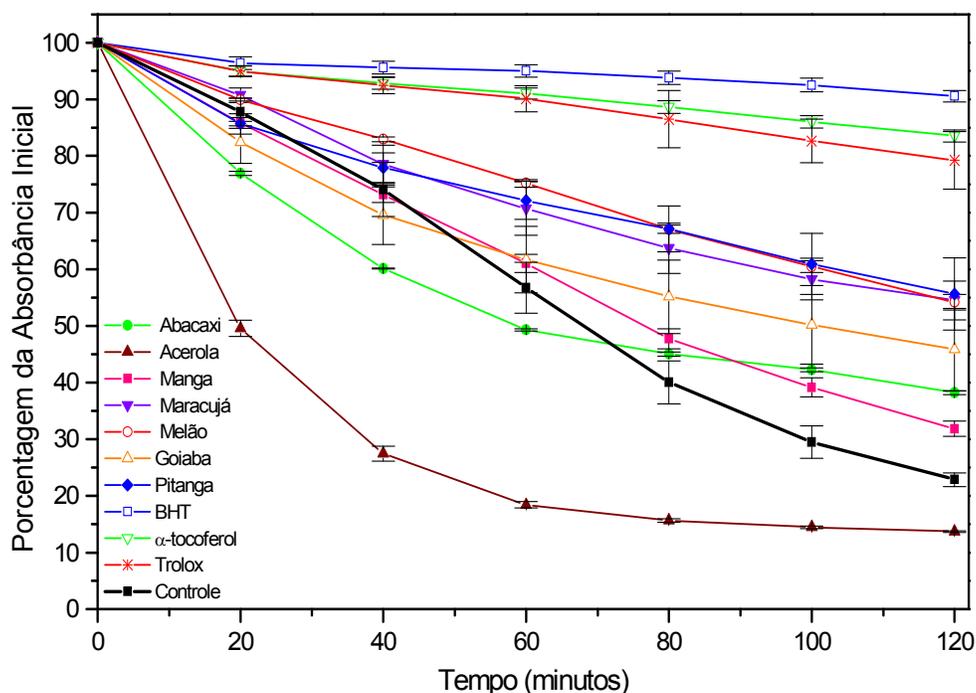


Figura 16 - Redução da porcentagem da absorbância inicial da emulsão contendo β -caroteno/ácido linoléico adicionada dos extratos de frutas e padrões durante 120 minutos

Observa-se na Figura 16 o comportamento dos extratos das frutas e das substâncias de referência quanto à proteção contra oxidação da emulsão. Percebe-se que a partir dos 80 minutos, todos os extratos das frutas, exceto o extrato de acerola, agiram a favor da proteção da emulsão, ou seja, não favoreceram o decréscimo da absorbância como aconteceu com o controle.

Dentre os extratos, o que melhor contribuiu para a preservação da emulsão contra a oxidação foi o extrato de pitanga, seguido do extrato de maracujá. O extrato de manga foi o que menos contribuiu contra a oxidação do sistema, seguido pelo extrato de abacaxi cujo comportamento, até aproximadamente 70 minutos, foi de oxidação da emulsão, mas que ao final dos 120 minutos comportou-se como antioxidante.

O mesmo comportamento não foi observado com o extrato de acerola, que ao contrário da ação dos demais extratos, não atuou protegendo a emulsão e sim favorecendo a oxidação, confirmada pelo rápido declínio da absorbância ao longo dos 120 minutos.

Duarte-Almeida et al. (2006) também observaram o comportamento pró-oxidante do extrato de acerola quando submetido ao método de autooxidação do β -caroteno/ácido

linoléico, comportamento esse relacionado ao conteúdo de ácido ascórbico na fruta. O ácido ascórbico, após doar seus hidrogênios redutores, ficou passível de receber elétrons, devido ao radical ascorbila formado, que é um agente oxidante.

A análise da atividade antioxidante pelo sistema de auto-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico recebe influência de uma série de fatores, dentre os quais, o mais importante deve-se a polaridade das substâncias presentes nos extratos das frutas, já que o meio de reação é caracterizado por ser uma emulsão, apresentando simultaneamente, regiões polares e apolares. Os extratos das frutas que apresentaram melhor atividade antioxidante foram as que contêm substâncias capazes de interagir com a emulsão, que agem nas interfaces água/lipídeo, onde se inicia o processo oxidativo.

Maiores valores de atividade antioxidante poderiam ser conseguidos se maiores concentrações dos extratos fossem utilizados na análise.

2.3.5.4 Estabilidade oxidativa – Rancimat

O tempo necessário para a ocorrência da taxa máxima de oxidação do óleo de soja, sem adição de fontes de antioxidantes (controle), foi de 7,04 h, como mostra a Tabela 13. O tempo requerido para a formação de radicais livres, moléculas altamente reativas, que desencadeiam o processo de oxidação (fase de iniciação), foi maior no óleo de soja adicionado dos extratos das frutas, o que atrasou o início da fase de propagação e conseqüentemente, a fase de terminação da oxidação.

Tabela 13 - Período de indução das amostras analisadas no Rancimat (controle, óleo adicionado de BHT e extrato de frutas)

Amostras *	Período de Indução (h) **
Controle	7,04±0,02
BHT	7,58±0,09
Abacaxi	7,55±0,08
Acerola	7,94±0,04
Manga	7,45±0,04
Maracujá	7,15±0,07
Melão	7,17±0,20
Goiaba	7,82±0,05
Pitanga	7,57±0,09

* Óleo de soja adicionado do BHT e extratos das frutas citados, na concentração de 100 ppm, exceto o controle, livre de antioxidantes.

** Médias das triplicatas±desvio padrão

Sendo assim, os extratos protegeram o óleo e cada um deles exibiu um fator de proteção, apresentados na Figura 17.

O extrato da fruta que exibiu maior fator de proteção no óleo de soja foi o da acerola cujo valor foi de 1,13; no entanto, não diferiu estatisticamente com o fator de proteção do extrato de goiaba (1,11), este, por sua vez, não apresentou diferença estatística quando comparado com os valores do fator de proteção do extrato de pitanga e do óleo acrescido de 100 ppm do BHT que foram iguais a 1,08. Os extratos de abacaxi e manga apresentaram fatores de proteção iguais a 1,07, os quais não exibiram diferença significativa com os valores do extrato de pitanga a do óleo com BHT. Os menores valores do fator de proteção foram dos extratos de maracujá e melão, ambos iguais a 1,02.

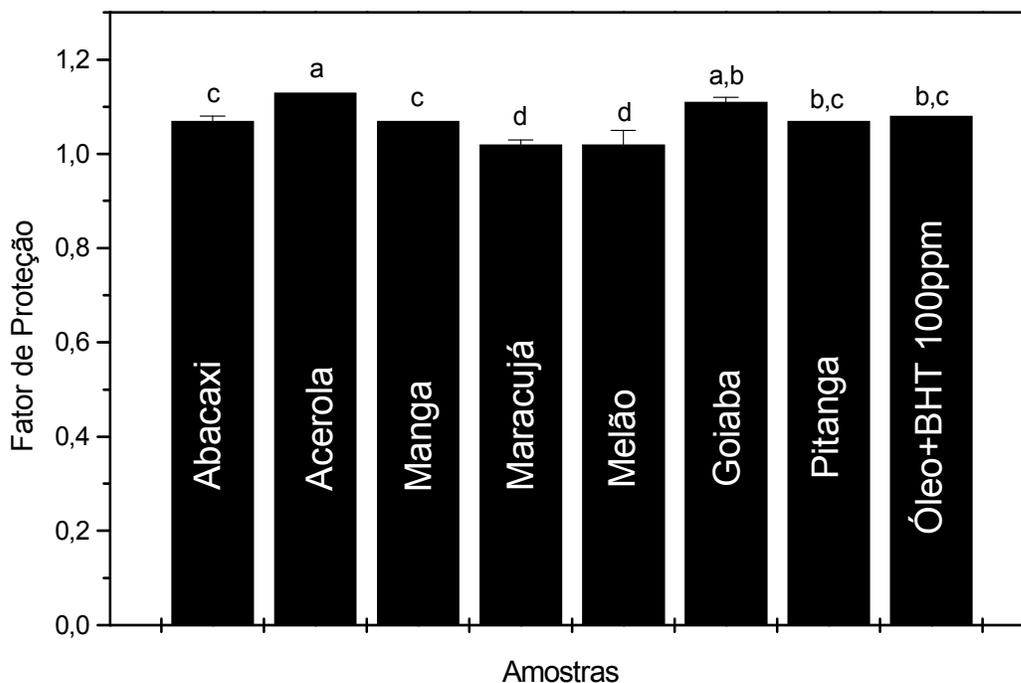


Figura 17 - Fator de proteção obtido a partir da análise de estabilidade oxidativa (Rancimat) do óleo de soja adicionado dos extratos das frutas
Médias das triplicatas e o desvio padrão estão indicados. Letras diferentes indicadas nas colunas diferem estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste de *Tukey*

No estudo com frutas tropicais realizado por Murcia, Jiménez e Martínez-Tomé (2001), dentre as onze frutas analisadas pelo método do Rancimat, o mamão papaia e a carambola foram as frutas que protegeram melhor o óleo de oliva refinado, apresentando fator de proteção maior que 1,2. Os autores também concluíram que as frutas tropicais possuem boa atividade antioxidante quanto ao sequestro das espécies reativas ao oxigênio.

Os extratos de acerola e goiaba, os quais apresentaram maiores valores do fator de proteção e o extrato de pitanga, por não apresentar diferença significativa desse valor quando comparado com o extrato de goiaba, foram submetidos a novos testes em Rancimat, em concentrações diferentes (75, 50 e 25 ppm) no óleo de soja. A Figura 18, a seguir, apresenta os valores do período de indução das frutas em função da concentração.

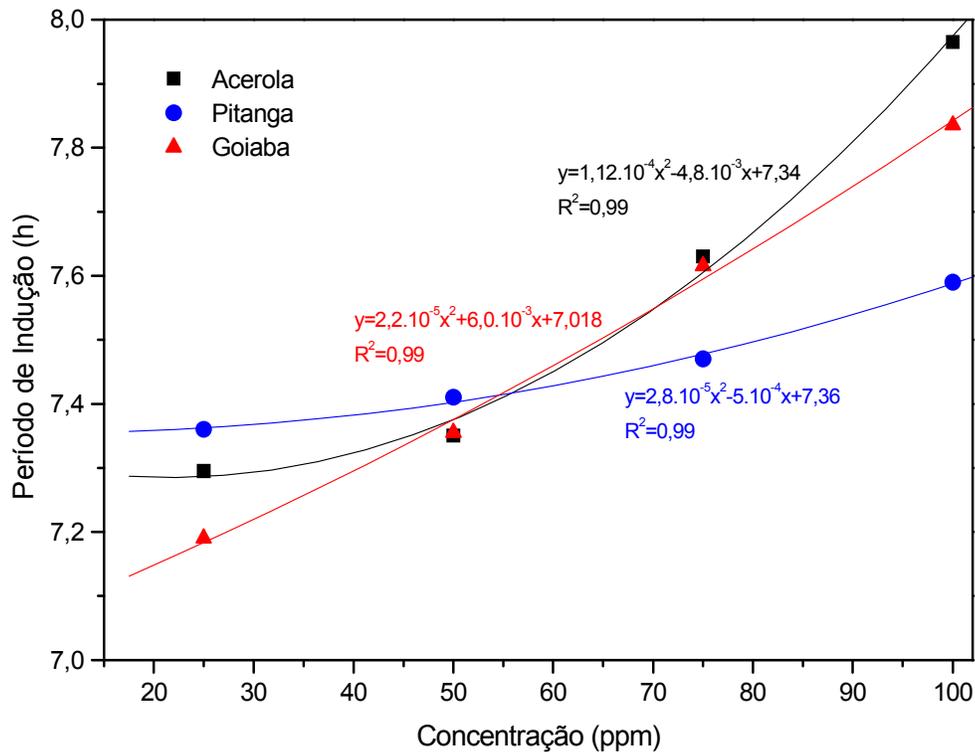


Figura 18 - Período de indução em função da concentração dos extratos de acerola, pitanga e goiaba

De acordo com o que mostra a Figura 18, todos os extratos tiveram ação protetora no óleo de soja em todas as concentrações testadas, sendo que a melhor dose, comum a todos os extratos, foi na concentração de 100 ppm. No entanto, cada um dos extratos de frutas exibiu comportamento particular quando adicionado no óleo em diferentes concentrações (25 a 100 ppm). Observa-se que na concentração de 25 ppm, o extrato de pitanga foi o que respondeu com maior valor do período de indução do óleo, sendo o que mais protegeu o óleo de soja nessa concentração e, o que menos protegeu o óleo foi o extrato de goiaba. A mesma observação é válida quando o óleo foi adicionado de 50 ppm dos extratos; no entanto, a diferença de período de indução do óleo adicionado dos extratos foi menor quando comparada com a concentração anterior (25 ppm). O mesmo não se observou a partir da concentração de 55 ppm. A taxa do aumento do período de indução do óleo adicionado do extrato de acerola foi maior quando comparada com a dos extratos de goiaba e pitanga, sendo a taxa desse aumento da pitanga menor que a da goiaba. Assim, quando a concentração dos extratos no óleo foi de 100 ppm, o período de indução do óleo de soja adicionado do

extrato de acerola foi maior que o da goiaba, e esse, maior que o da pitanga, o que resultou nos fatores de proteção diferentes, apresentados na Tabela 13.

2.3.6 Identificação química dos extratos das frutas por CG-EM

A utilização da técnica CG-EM é muito empregada em análise da composição química de frutas, principalmente na determinação de compostos voláteis como aromas, por exemplo, mostrado nos estudos feitos por Oliveira et al. (2006), Pino e Marbot (2001) e Boulanger e Crouzet (2001). Entretanto, os estudos também estão direcionados para a identificação de outros componentes, como os ácidos fenólicos e flavonoides, além de açúcares e aminoácidos, conforme mostrado nos trabalhos feitos por Füzfai e Perl (2007), Zadernowski, Naczki e Nesterowicz (2005) e Zuo, Wang e Zhan (2002) e no presente trabalho cujos perfis cromatográficos das frações dos extratos das frutas analisadas estão apresentados nas Figuras 19 a 25, seguidas das respectivas identificações dos picos e dos principais fragmentos dos íons dos compostos não identificados (Tabelas 14 a 20).

Os perfis cromatográficos obtidos das frações dos extratos das frutas mostraram-se distintos, sendo que os perfis dos extratos de abacaxi, manga, maracujá, melão e goiaba apresentaram maior quantidade de picos os quais representaram a maior porcentagem de área nos cromatogramas, quando comparado com os perfis dos extratos de acerola e pitanga. Isso se deve à presença de maior quantidade de compostos nos extratos que apresentaram cromatogramas com maior quantidade de picos e às substâncias passíveis ou não de sofrerem derivatização, já que essa técnica envolve condições (alta temperatura, reação com o reagente derivatizante) que podem levar à decomposição dos compostos e conseqüentemente, a não detecção dos mesmos.

Dentre os compostos identificados observam-se os açúcares, de ocorrência em todas as frutas, ácidos orgânicos, como o ácido málico nas frutas abacaxi, acerola, maracujá, goiaba e pitanga; ácidos hexadecanóico e hexanóico em forma de ésteres nas frutas melão, goiaba e pitanga; ácido ascórbico na acerola e goiaba, sendo que na acerola representou 35,79% da área total dos picos indicados; ácido aspártico na goiaba, ácido fosfórico no maracujá, éster do ácido benzóico no abacaxi, manga,

maracujá; ácido gálico na pitanga; quercetina na acerola, estes últimos que podem ser os responsáveis pela atividade antioxidante das frutas. O ácido ascórbico identificado nas polpas de acerola e goiaba e os picos não identificados, cujos fragmentos dos respectivos íons (m/z) em porcentagem estão indicados nas Tabelas 14 a 20, representaram a maior parte dos picos indicados nos cromatogramas. Desta forma os compostos não identificados, e por se apresentarem em alta porcentagem, podem ser responsáveis pela atividade antioxidante das frutas analisadas, bem como pertencerem a classe dos compostos fenólicos. Sendo assim, estudos mais aprofundados de fracionamento e isolamento bioguiado são necessários para elucidação estrutural das moléculas bioativas. A análise de compostos fenólicos em frutas por CG-EM exige alguns cuidados quanto ao tratamento das amostras, entre eles, a necessidade de se realizar o procedimento de hidrólise dos extratos, o que não foi feito neste estudo, já que a maioria dos compostos fenólicos em frutas apresenta-se glicosilados. Por exemplo, a rutina, após a hidrólise, pode ser identificada por meio da presença da quercetina juntamente com o sacarídeo correspondente, de acordo com o estudo realizado por Füzfaí e Perl (2007).

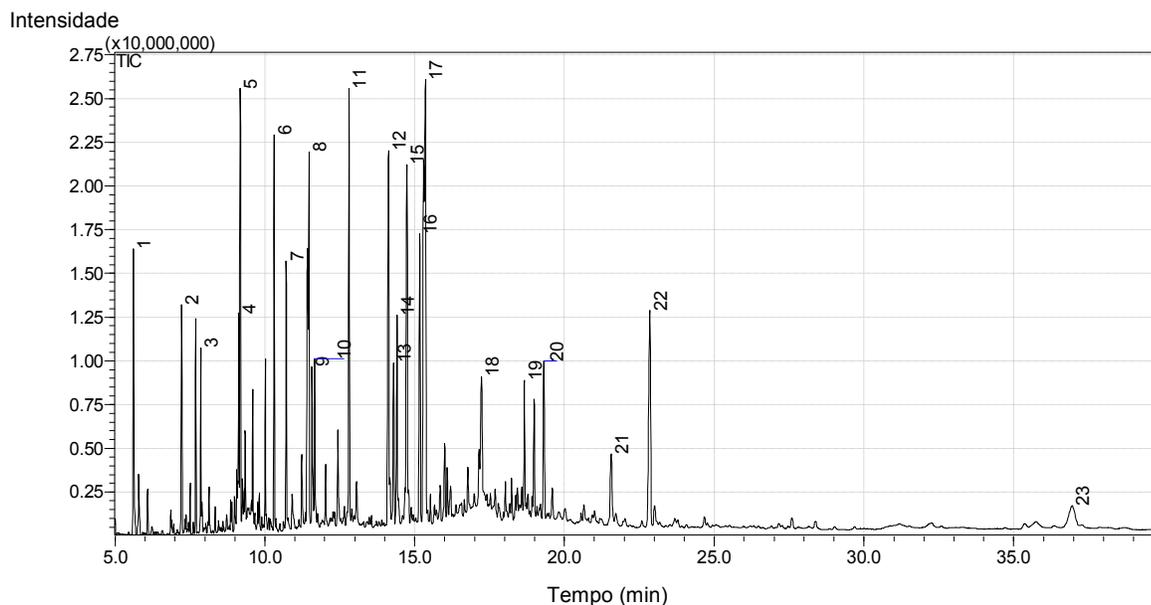


Figura 19 - Perfil cromatográfico da fração recuperada do extrato de abacaxi

Tabela 14 - Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %) da fração recuperada do extrato de abacaxi

Pico	Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %)	Área (%)
1	éster trimetilsilil do ácido benzóico	4,16
2	éster tri-trimetilsilil do ácido málico	3,01
3	207(100), 73(56), 147(18), 345[M ⁺]	1,84
4	1,3,4,5,6-pentaquis-o-(trimetilsilil) D-frutose	1,59
5	73(100), 273(81), 147(46), 363(27), 553[M ⁺]	5,93
6	éster trimetilsilil do ácido hexadecanóico	4,44
7	265(100), 234(55), 161(56), 298(46), 327[M ⁺]	3,41
8	79(100), 73(99), 75(98), 423[M ⁺]	4,73
9	117(100), 73(82), 75(54), 129(39), 587[M ⁺]	2,40
10	éster trimetilsilil, N, 1,bi-trimetilsilil triptofano	2,20
11	129(100), 57(36), 147(30), 70(29), 73(25), 635[M ⁺]	6,22
12	361(100), 217(72), 73(64), 437(42), 103(22), 563[M ⁺]	7,88
13	73(100), 361(93), 217(90), 103(49), 129(31), 539[M ⁺]	2,58
14	éster 2,3-bi-(trimetilsilil)-oxi propil do ácido hexadecanóico	3,58
15	361(100), 73(84), 217(68), 289(31), 620[M ⁺]	6,37
16	361(100), 73(58), 217(24), 169(17), 666[M ⁺]	5,19
17	361(100), 73(88), 217(53), 289(52), 723[M ⁺]	16,57
18	105(100), 218(97), 73(64), 265(58), 529[M ⁺]	2,74
19	146(100), 116(26), 201(16), 500(16), 611[M ⁺]	2,03
20	354(100), 73(99), 217(34), 355(26), 627[M ⁺]	2,78
21	129(100), 382(78), 382(78), 73(65), 555[M ⁺]	1,95
22	129(100), 396(78), 357(70), 486[M ⁺]	6,53
23	217(100), 397(44), 73(29), 523[M ⁺]	1,88

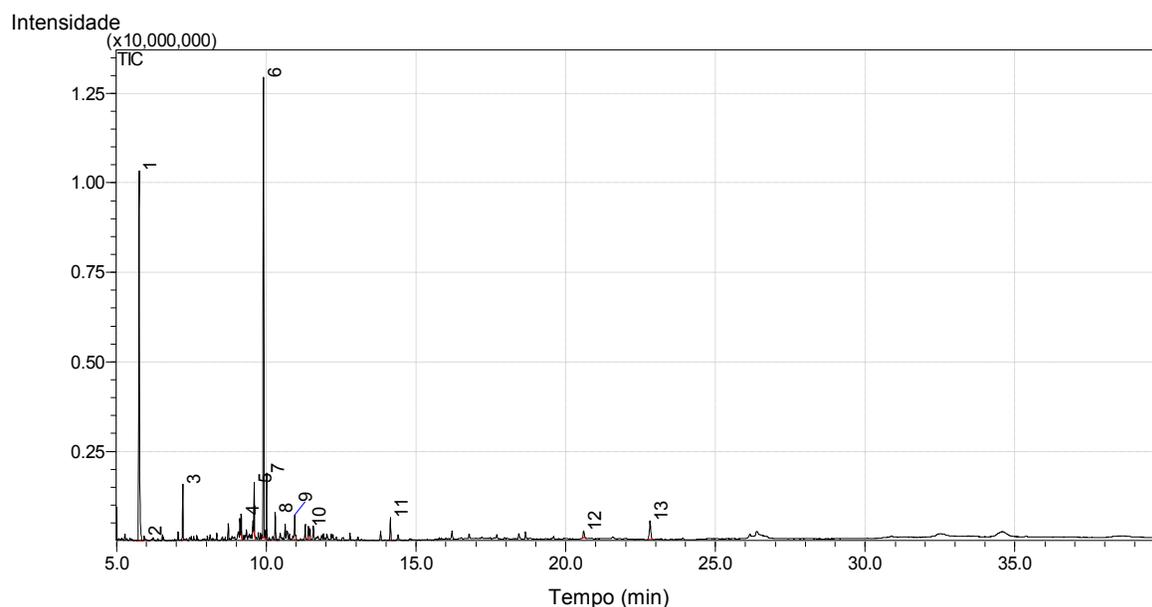


Figura 20 - Perfil cromatográfico da fração recuperada do extrato de acerola

Tabela 15 - Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %) da fração recuperada do extrato de acerola

Pico	Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %)	Área (%)
1	Glicerol derivado do tri-trimetilsilil	36,28
2	Isoleucina 2 trimetilsilil	0,37
3	éster tri-trimetilsilil do ácido málico	4,18
4	73(100), 217(66), 147(26), 437(18), 465[M ⁺]	1,63
5	α -D-galactopiranosse 1,2,3,4,6-pentaquis-O-(trimetilsilil)	3,73
6	ácido ascórbico derivado do trimetilsilil	35,79
7	1,2,3,4,6-pentaquis-O-(trimetilsilil) hexopiranosse	5,12
8	éster trimetilsilil do ácido hexadecanóico	2,08
9	204(100), 73(83), 235(24), 117(16), 396[M ⁺]	2,51
10	73(100), 75(96), 55(56), 117(52), 339[M ⁺]	1,81
11	ácido 1,2-benzeno dicarboxílico	2,39
12	quercetina	0,80
13	129(100), 43(66), 396(65), 73(54), 486[M ⁺]	3,30

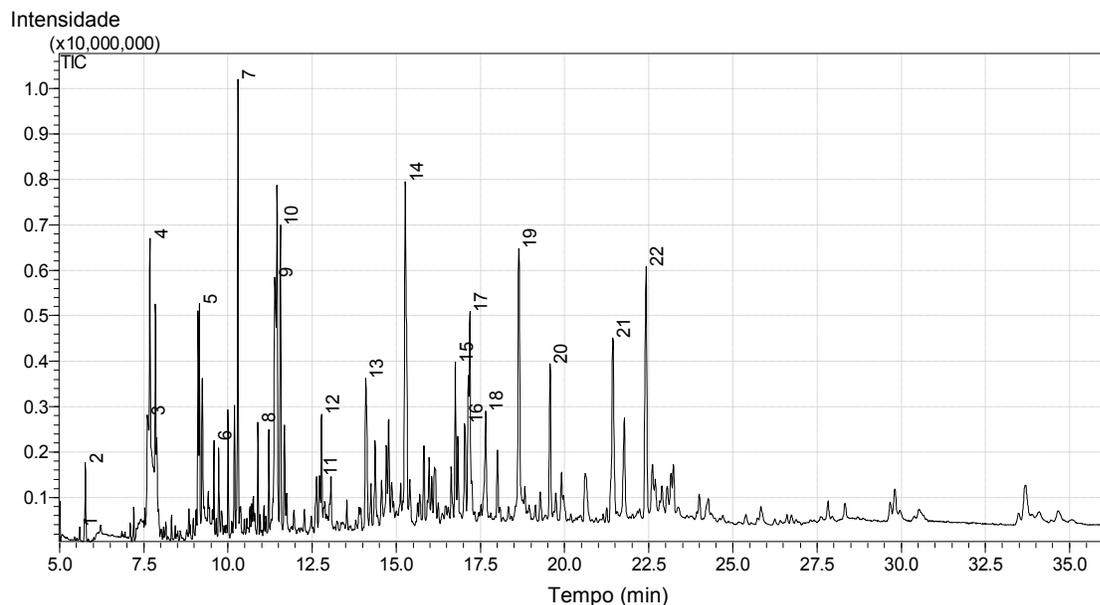


Figura 21 - Perfil cromatográfico da fração recuperada do extrato de manga

Tabela 16 - Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %) da fração recuperada do extrato de manga

Pico	Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %)	Área (%)
1	éster trimetilsilil do ácido benzóico	0,21
2	ácido fosfórico derivado do trimetilsilil	1,53
3	éster dietil do ácido 1,2-benzenodicarboxílico	1,55
4	207(100), 73(32,7), 149(23,3), 310[M ⁺]	2,99
5	1,3,4,5,6-pentaquis-o-(trimetilsilil) D-frutose	6,69
6	1,2,3,4,6-pentaquis-O-(trimetilsilil) hexopirranose	1,05
7	éster trimetilsilil do ácido hexadecanóico	8,21
8	105(100), 117(96), 327(93), 73(60), 342[M ⁺]	1,94
9	105(100), 73(82), 337(69), 117(52), 401[M ⁺]	3,40
10	341(100), 117(88), 73(51), 132(51), 587[M ⁺]	6,49
11	135(100), 105(32), 219(30), 343(24), 431[M ⁺]	0,94
12	129(100), 57(31), 112(28), 147(28), 635[M ⁺]	2,01
13	361(100), 217(65), 73(39,7), 437(36,1), 467[M ⁺]	5,61
14	Sacarose octa-trimetilsilil	12,99
15	146(100), 116(24) 472(22), 354(19), 487[M ⁺]	3,91
16	268(100), 269(24), 73(15), 488[M ⁺]	2,32
17	105(100), 268(58), 269(14), 490[M ⁺]	4,27
18	105(100), 252(17), 131(13), 523[M ⁺]	3,91
19	146(100), 116(23), 500(22), 382(21), 611[M ⁺]	7,84
20	467(100), 468(36), 75(15), 603[M ⁺]	4,59
21	219(100), 453(52), 129(46), 382(39), 556[M ⁺]	7,71
22	396(100), 129(78), 357(73), 486(60), 572[M ⁺]	9,92

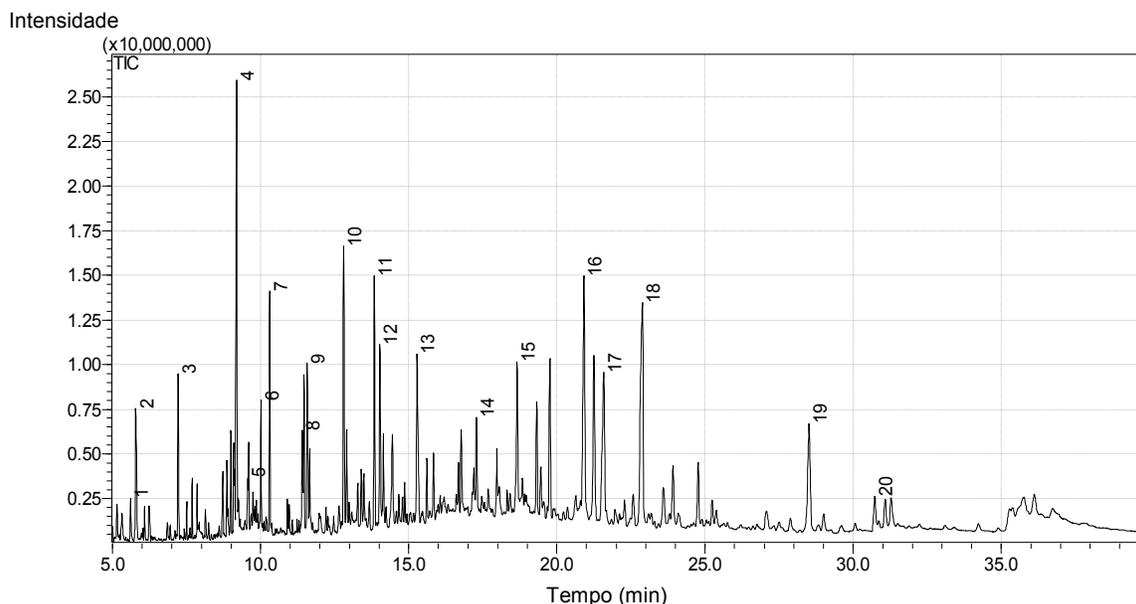


Figura 22 - Perfil cromatográfico da fração recuperada do extrato de maracujá

Tabela 17 - Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %) da fração recuperada do extrato de maracujá

Pico	Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %)	Área (%)
1	éster trimetilsilil do ácido benzóico	0,8
2	ácido fosfórico derivado do trimetilsilil	4,06
3	éster tri-trimetilsilil do ácido málico	2,69
4	éster trimetilsilil do ácido 1,1-difenil-4-carboxílico	9,95
5	281(100), 400(41), 73(36), 440[M ⁺]	1,23
6	2,3,4,5,6-pentaquis-O-(trimetilsilil) D-glicose	1,89
7	éster trimetilsilil do ácido hexadecanóico	4,17
8	73(100), 75(84), 105(69), 337(43), 436[M ⁺]	1,60
9	73(100), 117(79), 341(68), 132(45), 587[M ⁺]	4,15
10	129(100), 73(36), 361(33), 147(32), 635[M ⁺]	6,68
11	204(100), 217(97), 73(90), 116(43), 568[M ⁺]	6,57
12	204(100), 217(91), 73(90), 116(40) 568[M ⁺]	4,18
13	Sacarose octa-trimetilsilil	6,01
14	204(100), 73(48), 217 (37), 363(29), 741[M ⁺]	2,18
15	146(100), 116(27), 500(19), 382(18), 611[M ⁺]	4,75
16	204(100), 73(29), 217(18), 753[M ⁺]	9,91
17	129(100), 382(92), 343(77), 472(50), 528[M ⁺]	7,75
18	396(100), 129(95), 357(83), 486[M ⁺]	13,45
19	73(100), 361(71), 532(59), 460(49), 715[M ⁺]	6,52
20	73(100), 532(50), 460(45), 361(40), 715[M ⁺]	1,46

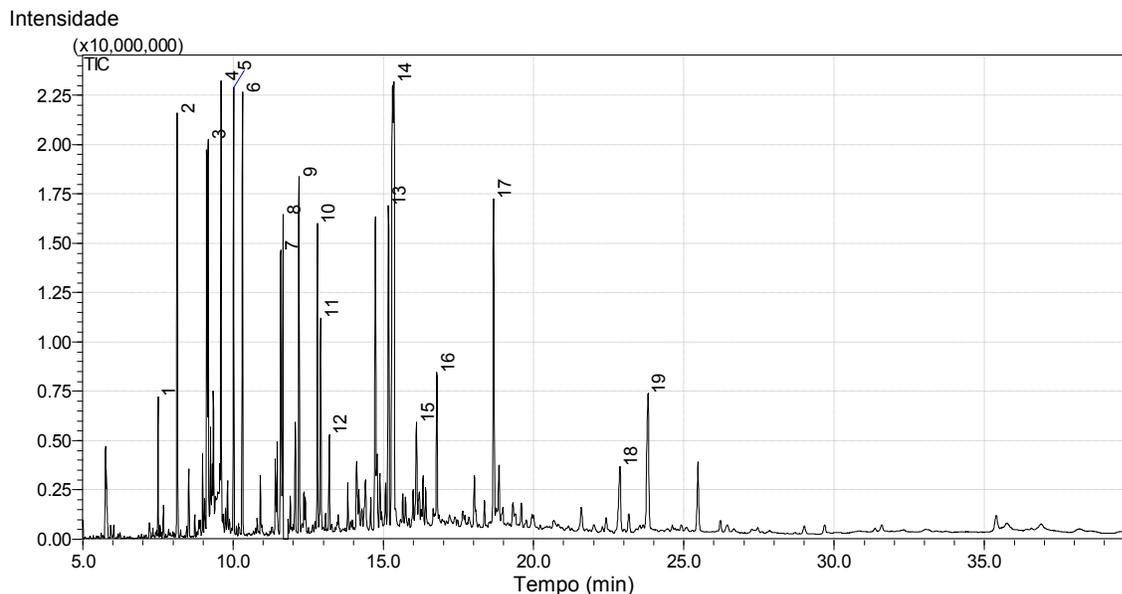


Figura 23 - Perfil cromatográfico da fração recuperada do extrato de melão

Tabela 18 - Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %) da fração recuperada do extrato de melão

Pico	Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %)	Área (%)
1	éster trimetilsilil da L-prolina, 5-oxo-1-(trimetilsilil)	1,52
2	fenilalanina di-trimetilsilil	5,46
3	1,3,4,5,6-pentaquis-o-(trimetilsilil) D-frutose	10,25
4	1,2,3,4,6-pentaquis-O-(trimetilsilil) hexopiranosose	5,65
5	2,3,4,5,6-pentaquis-O-(trimetilsilil) D-glicose	5,68
6	éster trimetilsilil do ácido hexadecanóico	5,46
7	117(100), 73(99), 341(72), 202(52), 587[M ⁺]	5,28
8	éster trimetilsilil, N, 1,bi-trimetilsilil triptofano	3,86
9	204(100), 73(50), 217(18), 639[M ⁺]	5,25
10	éster bi-(2-etilexil) do ácido hexanodióico	4,55
11	204(100), 73(56), 91(50), 467[M ⁺]	3,03
12	193(100), 276(32), 73(25), 393[M ⁺]	1,46
13	361(100), 73(62), 103(28), 756[M ⁺]	6,14
14	Sacarose octa-trimetilsilil	18,82
15	73(100), 298(63), 361(53), 217(31), 571[M ⁺]	1,90
16	146(100), 73(26), 116(25), 472(19), 627[M ⁺]	2,48
17	146(100), 116(26), 73(20), 500(20), 611[M ⁺]	6,22
18	343(100), 255(70), 81(69), 55(66), 572[M ⁺]	2,32
19	486(100), 255(74), 213(39), 73(29), 740[M ⁺]	4,66

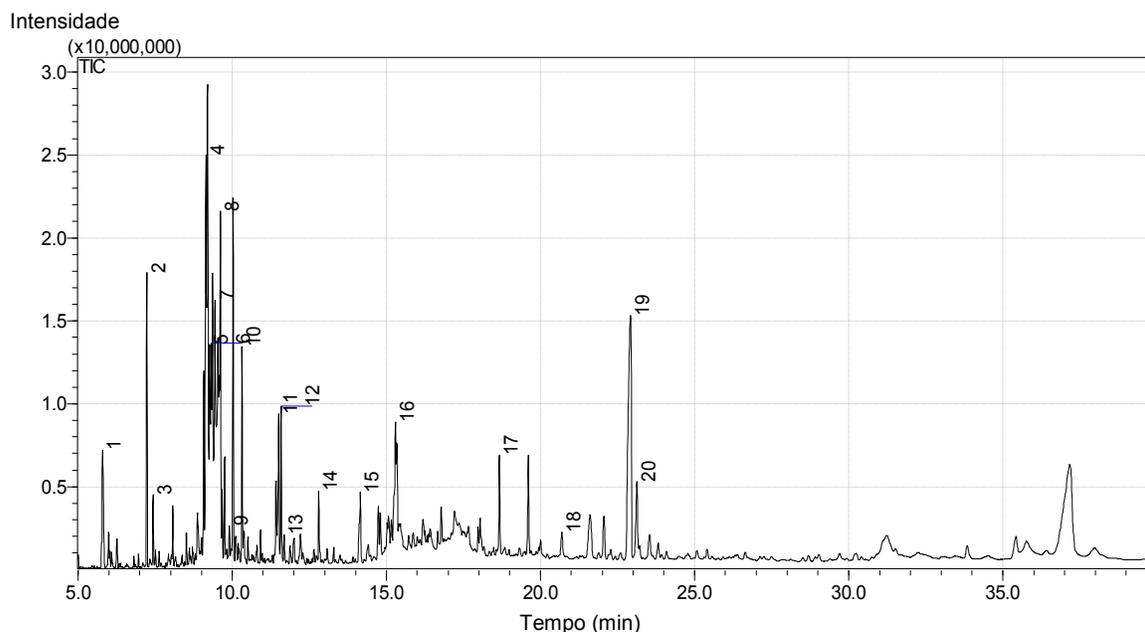


Figura 24 - Perfil cromatográfico da fração recuperada do extrato de goiaba

Tabela 19 - Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %) da fração recuperada do extrato de goiaba

Pico	Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %)	Área (%)
1	ácido fosfórico derivado do trimetilsilil	5,43
2	éster tri-trimetilsilil do ácido málico	6,85
3	ácido aspártico derivado do tri-trimetilsilil	1,47
4	73(100), 217(86), 437(52), 525[M ⁺]	13,43
5	1,3,4,5,6-pentaquis-o-(trimetilsilil) D-frutose	3,48
6	1,2,3,5,6- pentaquis-o-(trimetilsilil)- β -D-galactofuranose	1,09
7	345(100), 73(76), 255(34,4), 147(25,2), 537[M ⁺]	5,01
8	1,2,3,4,6-pentaquis-O-(trimetilsilil) hexopiranoose	9,61
9	ácido ascórbico derivado do trimetilsilil	0,73
10	éster trimetilsilil do ácido hexadecanóico	4,96
11	190(100), 73(71), 183(64), 134(58), 359[M ⁺]	2,96
12	73(100), 117(99), 341(76), 587[M ⁺]	4,47
13	73(100), 253(39), 183(32), 535[M ⁺]	0,82
14	éster bi-(2-etilhexil) do ácido hexanodióico	1,79
15	149(100), 167(41), 57(30), 451[M ⁺]	3,36
16	361(100), 73(48), 217(35), 437(28), 743[M ⁺]	2,12
17	146(100), 116(26), 500(18), 382(18), 612[M ⁺]	3,46
18	481(100), 117(99), 73(70), 635[M ⁺]	1,01
19	396(100), 129(91), 357(76), 381(37), 486[M ⁺]	24,04
20	386(100), 296(79), 129(60), 281(47), 590[M ⁺]	3,93

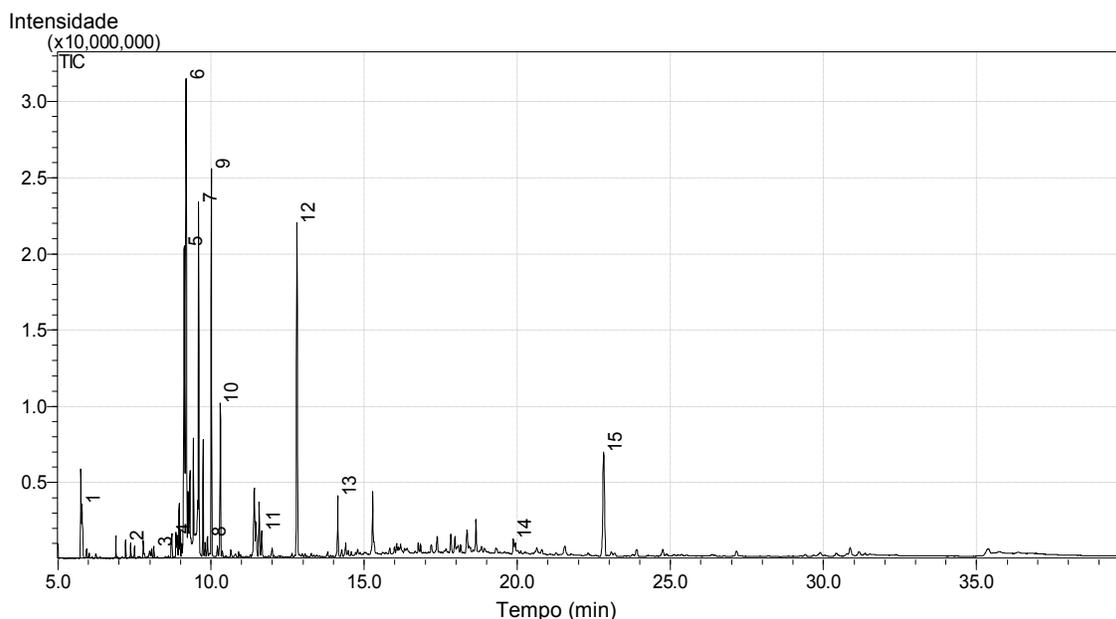


Figura 25 - Perfil cromatográfico da fração recuperada do extrato de pitanga

Tabela 20 - Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %) da fração recuperada do extrato de pitanga

Pico	Compostos identificados e fragmentos dos íons (m/z em %)	Área (%)
1	ácido fosfórico derivado do trimetilsilil	2,38
2	éster tri-trimetilsilil do ácido málico	0,49
3	73(100), 218(88), 192(51), 147(22), 318[M ⁺]	0,39
4	éster tri-(trimetilsilil) do ácido 1-propeno-1,2,3-tricarboxílico	0,65
5	1,3,4,5,6-pentaquis-o-(trimetilsilil) D-frutose	12,13
6	73(100), 273(85), 147(50), 363(26), 553[M ⁺]	25,93
7	1,2,3,4,6-pentaquis-O-(trimetilsilil) hexopirranose	10,87
8	ácido gálico derivado do trimetilsilil	0,63
9	2,3,4,5,6-pentaquis-O-(trimetilsilil) D-glicose	13,87
10	éster trimetilsilil do ácido hexadecanóico	5,46
11	202(100), 73(71), 291(13), 405[M ⁺]	0,95
12	éster bi-(2-etilhexil) do ácido hexanodióico	14,35
13	149(100), 167(40), 57(32), 279(15), 450[M ⁺]	2,69
14	73(100), 345(73), 369(69), 255(40), 787[M ⁺]	0,71
15	129(100), 396(88), 357(62), 73(47), 486[M ⁺]	8,51

3 CONCLUSÕES

→ Os métodos de atividade antioxidante utilizados possibilitaram o estudo das substâncias bioativas presentes nos extratos das frutas bem como obter diferentes respostas dessas substâncias em cada um dos métodos.

→ Os extratos etanólicos de frutas que apresentaram os maiores, os intermediários e os menores resultados de atividade antioxidante nos métodos do DPPH* e ABTS** foram as mesmas, indicando a semelhança do mecanismo de reação quanto ao sequestro de radicais livres em ambos os métodos e a ação das mesmas substâncias presentes nos extratos que contribuíram com a atividade antioxidante.

→ No método da auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico, os extratos etanólicos de pitanga, maracujá, melão e goiaba interagiram melhor com a emulsão evidenciando as diferentes naturezas dos compostos fenólicos presentes nesses extratos que foram capazes de interagir com o sistema.

→ Na estabilidade oxidativa em Rancimat os compostos fenólicos nos extratos etanólicos de acerola, goiaba e pitanga interagiram melhor com o sistema lipídico, retardando o avanço da oxidação desse sistema. A interação dos compostos fenólicos dos extratos com o óleo de soja foi diferente para cada um dos extratos, evidenciando as diferentes naturezas desses compostos nos extratos.

→ A técnica de CG-EM permitiu a identificação de alguns compostos de natureza fenólica que podem ser associados à atividade antioxidante das frutas, apresentada nos diferentes métodos utilizados, como o éster do ácido benzóico no abacaxi, manga e maracujá; o ácido gálico na pitanga e quercetina na acerola.

→ Os extratos etanólicos de pitanga e goiaba apresentaram boa atividade antioxidante em todos os métodos utilizados. Essas frutas devem ser alvo de futuras pesquisas visando o isolamento de compostos bioativos para aplicação em sistemas *in vivo* e/ou em alimentos.

REFERÊNCIAS

- AK, T.; GULÇIN, I. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. **Chemico-Biological Interactions**, Amsterdam, v. 174, p. 27-37, 2008.
- ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L.; PAREDES, J. G.; PARK, Y. K. Chemical composition of *Baccharis dracunculifolia*, the botanical source of propolis from the states of São Paulo and Minas Gerais, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 909-915, 2005.
- ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A.A. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. **Food Chemistry**, Barking, v. 115, p. 785-788, 2009.
- AMERICAN OIL CHEMIST'S SOCIETY. AOCS. **Official methods and recommended practices of the American oil chemists' society**. 7th ed. Champaign, 2003.
- ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P.D.; PATSALIDES, E.; McDONALD, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. **The Analyst**, London, v. 127, p. 183-198, 2002.
- ANTONIOLLI, L.R.; BENEDETTI, B.C.; SOUZA FILHO, M.S.M.; GARRUTI, D.S. Influência da posição e formato de corte na preferência sensorial de abacaxi 'Pérola' minimamente processado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 27, n. 3, p. 511-513, 2005.
- ARABBI, P.R.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 1124-1131, 2004.
- ARNAO, M.B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 11, p. 419-421, 2000.
- ARNAO, M.B.; CANO, A.; ACOSTA, M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. **Food Chemistry**, Barking, v. 73, p. 239-244, 2001.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 18th ed. Gaithersburg, 2005. chap. 42, p.2-3.
- ATMANI, D.; CHAHER, N.; BERBOUCHA, M.; AYOUNI, K.; LOUNIS, H.; BOUDAOU, H.; DEBBACHE, N.; ATMANI, D. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. **Food Chemistry**, Barking, v. 112, p. 303-309, 2009.
- BAE, S.H.; SUH, H.J. Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea. **Lebensmittel Wissenschaften und Technologie**, London, v. 40, p. 955-962, 2007.

BECKER, E.M.; NISSEN, L.R.; SKIBSTED, L.H. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. **European Food Research Technology**, Heidelberg, v. 219, p. 561-571, 2004.

BEHL, C.; MOOSMANN, B. Antioxidant neuroprotection in Alzheimer 's disease as preventive and therapeutic approach. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 33, p. 182-191, 2002.

BERARDINI, N.; FEZER, R.; CONRAD, J.; BEIFUSS, U.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Screening of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars for their contents of flavonol O- and xanthone C-glycosides, anthocyanins, and pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, p. 1563-1570, 2005.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Artigo de revisão: Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução nº 2**, de 24 de julho de 1978. Aprova normas técnicas especiais, do Estado de São Paulo, revistas pela CNNPA, relativas a alimentos (e bebidas), para efeito em todo território brasileiro. Disponível em: <http://www.e-legis.anvisa.gov.br>. Acesso em: 26 maio 2009.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaften und Technologie**, London, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, New York, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998

BROINIZI, P.R.B.; ANDRADE-WARTHA, E.R.S.; SILVA, A.M.O.; NOVOA, A.J.V.; TORRES, R.P.; AZEREDO, H.M.C.; ALVES, R.E.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 902-908, 2007.

BOULANGER, R.; CROUZET, J. Identification of the aroma components of acerola (*Malpighia glabra* L.): free and bound flavor compounds. **Food Chemistry**, Barking, v. 74, p. 209-216, 2001.

CASTILHO PIZARRO, C.A.; BENEDETTI, B.C.; HAJ-ISA, N.M.A. Avaliação do melão minimamente processado armazenado em diferentes temperaturas e embalagens. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 246-252, 2006.

CECCHI, H.M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2.ed. Campinas: Unicamp. 2003. 207p.

CHEEL, J.; THEODULOZ, C.; RODRÍGUEZ, J.A.; CALIGARI, P.D.S.; SCHMEDA HIRSCHMANN, G. Free radical scavenging activity and phenolic content in achenes and thalamus from *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*, *F. vesca* and *F. x ananassa* cv. Chandler. **Food Chemistry**, Barking, v. 102, p. 36-44, 2007

CHEN, H.Y.; YEN, G.C. Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves. **Food Chemistry**, Barking, v.101, p. 686-694, 2007.

CHEUNG, L.M.; CHEUNG, P.C.K.; OOI, V.E.C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. **Food Chemistry**, Barking, v. 80, n. 2, p. 249-255, 2003.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL; FAEPE, 1990, 320p.

CHUN, O.K.; KIM, D.; SMITH, N.; SCHROEDER, D.; HAN, J.T.; LEE, C.Y. Daily consumption of phenolics and total antioxidant capacity from fruit and vegetables in the American diet. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 85, p. 1715-1724, 2005.

CTENAS, M. L. B.; CTENAS, A. C.; QUAST, D. **Fruits of Brazil**. São Paulo: C2 Editora e Consultoria em Nutrição, 2000. 157p.

DECKER, E.A. Phenolics: prooxidants or antioxidants? **Nutrition Reviews**, New York, v. 55, n. 11, p. 396-407, 1997.

DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; SHARMA, A. Review. *Passiflora*: a review update. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 94, p. 1-23, 2004.

DIMITRIOS, B. Review: Sources of natural phenolic antioxidants. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 17, p. 505-512, 2006.

DU, G.; LI, M.; MA, F.; LIANG, D. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in *Actinidia* fruits. **Food Chemistry**, Barking, v. 113, p. 557-562, 2009.

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

EBERHARDT, M.V.; LEE, C.Y.; LIU, R.H. Antioxidant activity of fresh apples. **Nature**, London, v. 405, p. 903-904, 2000.

EMMONS, C.L., PETERSON, D.M., PAUL, G.L. Antioxidant capacity of oat (*Avena sativa* L.) extracts. 2. In vitro antioxidant activity and content of phenolic and tocol antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 47, p. 4894-4898, 1999.

ESPIN, J.C.; SOLER-RIVAS, C.; WICHERS, H.J.; GARCÍA-VIGUERA, C. Anthocyanin-based natural colorants: a new source of antiradical activity for foodstuff. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, p. 1588-1592, 2000.

FANG, Z.; ZHANG, Y.; LÜ, Y.; MA, G.; CHEN, J.; LIU, D.; YE, X. Phenolic compounds and antioxidant capacities of bayberry juices. **Food Chemistry**, Barking, v. 113, p. 884-888, 2009.

FARHOOSH, R. The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. **Journal of American Oil Chemistry Society**, Champaign, v. 84, p. 205-209, 2007.

FESKANISH, D.; ZIEGLER, R.G.; MICHAUD, D.S.; GIOVANNUCCI, E.L.; SPEIZER, F.E.; WILLETT, W.C.; COLDITZ, G.A. Prospective study of fruit and vegetable consumption and risk of lung cancer among men and women. **Journal of the National Cancer Institute**, Washington, v. 92, n. 22, p. 1812-1823, 2000.

FRANKEL, E.N.; MEYER, A. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of Food Science and Agriculture**, Davis, v. 80, p. 1925-1941, 2000.

FÜZFAI, Z.; PERL, M. Gas chromatographic–mass spectrometric fragmentation study of flavonoids as their trimethylsilyl derivatives: Analysis of flavonoids, sugars, carboxylic and amino acids in model systems and in citrus fruits. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1149, p. 88-101, 2007.

GAO, X.; OHLANDER, M.; JEPPSSON, N.; BJORK, L.; TRAJKOVSKI, V. Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) during maturation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, p. 1485-1490, 2000.

GARCÍA-ALONSO, M.; PASCUAL-TERESA, S.; SANTOS-BUELGA, C.; RIVAS-GONZALO, J.C. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. **Food Chemistry**, Barking, v. 84, p. 13-18, 2004.

GIADA, M.L.R.; MANCINI-FILHO, J. The *in vitro* antioxidant activity of food phenolic compounds. **Nutrire**, São Paulo, v. 28, p. 91-107, 2004.

GOMES JÚNIOR, J.; MENEZES, J.B.; NUNES, G.H.S.; COSTA, F.B.; SOUZA, P.A. Qualidade pós-colheita de melão tipo cantaloupe, colhido em dois estádios de maturação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 3, p. 223-227, 2001.

GOULD, K.S.; LISTER, C. Flavonoid functions in plants. In: ANDERSEN, O.M.; MARKHAM, K.R (Ed.). **Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications**. Boca Raton: CRC Press, 2005. chap 8, p. 397-441.

GUTIÉRREZ, R.M.P.; MITCHELL, S.; SOLIS, R.V. *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 117: 1-27, 2008.

HAMAUZU, Y.; TAKANORI, I.; KUME, C.; IRIE, M.; HIRAMATSU, K. Antioxidant and antiulcerative properties of phenolics from chinese quince quince, and apple fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, p. 765-772, 2006.

HARNLY, J.M.; DOHERTY, R.F.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; BHAGWAT, S.; GEBHARDT, S. Flavonoid content of U.S. fruits, vegetables, and nuts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, p. 9966-9977, 2006.

HASSIMOTO, N.M.A.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Identification and characterisation of anthocyanins from wild mulberry (*Morus Nigra* L.) growing in Brazil. **Food Science and Technology International**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 17-25, 2007.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

HUANG, H.Y.; CHANG, C.K.; TSO, T.K.; HUANG, J.J.; CHANG, W.W.; TSAI, Y.C. Antioxidant activities of various fruits and vegetables produced in Taiwan. **International Journal of Food Science and Nutrition**, Amsterdam, v. 55, n. 5, p. 423-429, 2004.

HUANG, Z.; WANG, B.; WILLIAMS, P.; PACE, R.D. Identification of anthocyanins in muscadine grapes with HPLC-ESI-MS. **Lebensmittel Wissenschaften und Technologie**, London, v. 42, p. 819-824, 2009.

HUKKANEN, A.T.; PÖLÖNEN, S.S.; KÄRENLAMPI, S.O.; KOKKO, H.I. Antioxidant capacity and phenolic content os sweet rowanberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, p. 112-119, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS-IBRAF, 2005. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br>>. Acesso em 05 dez. 2005.

JAYAPRAKASHA, G.K.; PATIL, B.S. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. **Food Chemistry**, Barking, v. 101, p. 410-418, 2007.

JAYAPRAKASHA, G.K.; SINGH, R.P.; SAKARIAH, K.K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. **Food Chemistry**, Barking, v. 73, p. 285-290, 2001.

JIANG, H.; JI, B.; LIANG, J.; ZHOU, F.; YANG, Z.; ZHANG, H. Comparison on the antioxidant capacity of selected fruits and vegetables and their separations. **Chemistry of Natural Compounds**, New York, v. 42, n. 4, p. 410-414, 2006.

JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; RINCÓN, M.; PULIDO, R.; SAURA-CALIXTO, F. Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, p. 5489-5493, 2001a.

_____. Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 81, p. 530-534, 2001b.

KEVERS, C.; FALKOWSKI, M.; TABART, J.; DEFRAIGNE, J.O.; DOMMES, J.; PINCEMAIL, J. Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, p. 8596-8603, 2007.

KIM, D.O.; JEONG, S.W.; LEE, C.Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry**, Barking, v. 81, p. 321-326, 2003.

KIM, Y.; BRECHT, J.K.; TALCOTT, S.T. Antioxidant phytochemical and fruit quality changes in mango (*Mangifera indica* L.) following hot water immersion and controlled atmosphere storage. **Food Chemistry**, Barking, v. 105, p. 1327-1334, 2007.

KONDO, S.; KITTIKORN, M.; KANLAYANARAT, S. Preharvest antioxidant activities of tropical fruit and the effect of low temperature storage on antioxidants and jasmonates. **Postharvest Biology and Technology**, Hiroshima, v. 36, p. 309-318, 2005.

KUBOW, S. Lipid oxidation products in food and atherogenesis. **Nutrition Reviews**, New York, v. 51, n. 2, p. 33-40, 1993.

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.

KUSKOSKI, 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.

LEONG, L.P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food Chemistry**, Barking, v. 76, p. 69-75, 2002.

LIM, Y.Y.; LIM, T.T.; TEE, J.J. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. **Food Chemistry**, Barking, v. 103, p. 1003-1008, 2007.

LIMA, V.L.A.G.; MÉLO, E.A.; LIMA, D.E.S. Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 3, p. 447-450, 2002.

LIMA, V.L.A.G.; MÉLO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; 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, p. 565-568, 2005.

LIU, X.; CUI, C.; ZHAO, M.; WANG, J., LUO, W.; YANG, B.; JIANG, Y. Identification of phenolics in the fruit of emblica (*Phyllanthus emblica* L.) and their antioxidant activities. **Food Chemistry**, Barking, v. 109, p. 909-915, 2008.

LIYANA-PATHIRANA, C.M.; SHAHIDI, F.; ALASALVAR, C. Antioxidant activity of cherry laurel fruit (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and its concentrated juice. **Food Chemistry**, Barking, v. 99, p. 121-128, 2006.

LOCATELLI, M.; GINDRO, R.; TRAVAGLIA, F.; COISSON, J.D.; RINALDI, M.; ARLORIO, M. Study of the DPPH[•]-scavenging activity: development of a free software for the correct interpretation of data. **Food Chemistry**, Barking, v. 114, p. 889-897, 2009.

LORENZI, H; BACHER, L.B.; LACERDA, M.T.C.; SARTORI, S.F. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas**: (de consumo *in natura*). São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006. 639p.

MACHLIN, L.J.; BENDICH, A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidants nutrients. **The FASEB Journal**, Bethesda, v. 1, n. 6, p. 441-445, 1987.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉZY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Ann Arbor, v.79, p. 727-747, 2004.

MANIAN, R.; ANUSUYA, N.; SIDDHURAJU, P.; MANIAN, S. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. **Food Chemistry**, Barking, v. 107, p. 1000-1007, 2008.

MARCO, G.J. A rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of American Oil Society**, Champaign, v. 45, p. 594-598, 1968.

MARINOVA, E.M.; YANISHLIEVA, N.V. Effect of lipid unsaturation on the antioxidative of some phenolic acids. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 71, p. 427-447, 1994.

MARTÍNEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M.J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 51, n. 1, p. 5-18, 2000.

McGUIRRE, R.G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, St Joseph, v. 27, n. 12, p. 1254-1255, 1992.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; LEAL, F.L.L.; CAETANO, A.C.S.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 639-644, 2006.

MÉNDEZ, C.M.V.; FORSTER, M.P.; RODRIGUÉZ-DELGADO, M.A.; RODRIGUÉZ-RODRIGUÉZ, E.M.; ROMERO, C.D. Content of free phenolic compounds in bananas from Tenerife (Canary Islands) and Ecuador. **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v. 217, p. 287-290, 2003.

MENEZES, J.B.; ALVES, R.E. **Fisiologia e tecnologia pós colheita do pedúnculo do caju**. 1. ed. Fortaleza:EMBRAPA-CNPAT, 1995. 20p.

MENSOR, L.L.; MENEZES, F.S.; LEITÃO, G.G.; REIS, A.S.; DOS SANTOS, T.C.; COUBE, C.S.; LEITÃO, S.G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, London, v. 15, p. 127-130, 2001.

MEZADRI, T.; VILLAÑO, D.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M.S.; GARCÍA-PARRILLA, 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, p. 282-290, 2008.

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

MINOLTA. **Precise color communication**: color control from feeling to instrumentation. Ramsey: Minolta Corporation Instrument Systems Division, 1994, 49p.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakar Journal of Food Science and Technology**, Wiltshire, v. 26, n. 2, p. 211-219, 2004.

MOON, J.K.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant assays for plant and food components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, p. 1655-1666, 2009.

MOYER, R.A.; HUMMER, K.E.; FINN, C.E.; FREI, B.; WROLSTAD, R.E. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *vaccinium*, *rubus*, and *ribes*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, p. 519-525, 2002.

MULLEN, W.; MARKS, S.C.; CROZIER, A. Evaluation of phenolic compounds in commercial fruit juices and fruit drinks. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.55, p.3148-3157, 2007.

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

NAKATANI, N. Antioxidants from spices and herbs. In: SHAHIDI, F. (Ed.). **Natural antioxidants**: chemistry, health effects, and applications. Newfoundland: AOCS Press, 1996. chap. 4, p. 64-75.

NETZEL, M.; NETZEL, G.; TIAN, Q.; SCHWARTZ, S.; KONCZAK. Sources of antioxidant activity in Australian native fruits. Identification and quantification of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, p. 9820-9826, 2006.

NETZEL, M.; NETZEL, G.; TIAN, Q.; SCHWARTZ, S.; KONCZAK, I. Native Australian fruits – a novel source of antioxidants for food. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 8, p. 339-346, 2007.

NIEDERLANDER, H.A.G.; van BEEK, T.A.; BARTASIUTE, A.; KOLEVA, I.I. Antioxidant activity assays on-line with liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1210, p. 121-134, 2008.

OLDONI, T.L.C. **Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera***. 2007, 104p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F.; SILVA, C.A.; BECHARA, E.J.H.; TREVISAN, M.T.S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, A.L.; LOPES, R.B.; CABRAL, F.A.; EBERLIN, M.N. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, Barking, v. 99, p. 1-5, 2006.

OZGEN, M.; REESE, R.N.; TULIO JR., A.Z.; SCHEERENS, J.C.; MILLER, A.R. Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, p. 1151-1157, 2006.

PELLEGRINI, N.; COLOMBI, B.; SALVATORE, S.; BRENNNA, O.V.; GALAVERNA, G.; DEL RIO, D.; BIANCHI, M.; BENNETT, R.N.; BRIGHENTI, F. Evaluation of antioxidant capacity of some fruit and vegetable foods: efficiency of extraction of a sequence of solvents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 87, p. 103-111, 2007.

PESCHEL, W.; SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; DIEKMANN, W.; PLESCHER, A.; GARTÍZIA, I.; JIMÉNEZ, D.; LAMUELA-REVENTÓS, R.; BUXADERAS, S. CODINA, C. **Food Chemistry**, Barking, v. 97, p. 137-150, 2006.

PINO, J.A.; MARBOT, R. Volatile flavor constituents of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, p. 5880-5882, 2001.

PREGNOLATO, W.; PREGNOLATO, N.P (Coord.) **Normas analíticas do Instituto Adolf Lutz**. 3 ed. São Paulo: ITAL, 1985. 533p.

QUEIROZ, Y.S.; ISHIMOTO, E.Y.; BASTOS, D.H.M.; SAMPAIO, G.R.; TORRES, E.A.F.S. Garlic (*Allium sativum* L.) and ready-to-eat garlic products: *In vitro* antioxidant activity. **Food Chemistry**, Barking, v. 115, p. 371-374, 2009.

RAMESH, M.N.; WOLF, W.; TEVINI, D.; JUNG, G. Studies on inert gas processing of vegetables. **Journal of Food Engineering**, London, v. 40, p. 199-205, 1999.

RATTI, C. Hot air and freeze-drying of high-values foods: a review. **Journal of Food Engineering**, London, v. 49, p. 311-319, 2001.

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. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

RIBEIRO, S.M.R.; BARBOSA, L.C.A.; QUEIROZ, J.H.; KNODLER, M.; SCHIEBER, A. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. **Food Chemistry**, Barking, v. 110, p. 620-626, 2008.

RIBEIRO, S.M.R, de QUEIROZ, J.H., de QUEIROZ, M.E.L.R, CAMPOS, F.M, SANT'ANA, H.M.P. Antioxidant in mango (*Mangifera indica* L.) pulp. **Plants Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 62, p. 13-17, 2007.

ROBBINS, R.J. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, p. 2866-2887, 2003.

ROCKENBACH, I.I.; SILVA, G.L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E.M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannat* e *Anceleta*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 238-244, 2008.

- RUMBAOA, R.G.O.; CORNAGO, D.F.; GERONIMO, I.M. Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine sweet potato (*Ipomoea batatas*) varieties. **Food Chemistry**, Barking, v. 113, p. 1133-1138, 2009.
- SALDANHA, L.A. **Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* de extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) verde e tostada e chá verde (*Camellia sinensis*)**. 2005, 120p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- SHWARTZ, E.; GLAZER, I.; YA'AKOV, I.B.; MATITYYAHU, I.; BAR-ILAN, I.; HOLLAND, D.; AMIR, R. Changes in chemical constituents during the maturation and ripening of two commercially important pomegranate accessions. **Food Chemistry**, Barking, v. 115, p. 965-973, 2009.
- SHAHIDI, F. Natural antioxidants: an overview. In:_____. **Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications**. Newfoundland: AOCS press, 1996. chap. 1, p. 1-11.
- SHARMA, O.P.; BHAT, T.K. DPPH antioxidant assay revisited. **Food Chemistry**, Barking, v. 113, p. 1202-1205, 2009.
- SHERER, R.; GODOY, H.T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, Barking, v. 112, p. 654-658, 2009.
- SIDDHURAJU, P.; MANIAN, S. The antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of dietary phenolic extracts from horse gram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.) seeds. **Food Chemistry**, Barking, v. 105, p. 950-958, 2007.
- SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 62, n. 6, p. 1315-1321, 1995.
- SILVA; F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.
- SILVA, S.; TASSARA, H. **Frutas Brasil frutas**. São Paulo: Empresa das Artes, 2005. 321p.
- SIMARELLI, M. Frutas do Brasil. **Frutas e derivados**. 1.ed. Ano 01. Abr. 2006.
- SINGH, U.P.; SINGH, D.P.; SINGH, M.; MAURYA, S.; SRIVASTAVA, J.S.; SINGH, R.B.; SINGH, S.P. Characterization of phenolic compounds in some Indian mango cultivars. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, Basingstoke, v. 55, n. 2, p. 163-164, 2004.

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**, Orlando, v. 299, p. 152–178, 1999.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidants. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

STANGELAND, T.; REMBERG, S.F.; LYE, K.A. Total antioxidant activity in 35 Ugandan fruits and vegetables. **Food Chemistry**, Barking, v. 113, p. 85-91, 2009.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. SAS 9.0. Cary:SAS Institute, 2002.

STOCLET, J.C.; CHATAIGNEAU, T.; NDIAYE, M.; OAK, M.H.; BEDOUI, J.E.; CHATAIGNEAU, M.; SCHINI-KERTH, V.B. Vascular protection by dietary polyphenols. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam, v. 500, p. 299-313, 2004.

SUN, J.; CHU, Y.F.; WU, X.; LIU, R.H. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, p. 7449-7454, 2002.

TALCOTT, S.T.; PERCIVAL, S.S.; PITTET-MOORE, J.; CELORIA, C. Phytochemical composition and antioxidant stability of fortified yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, p. 935-941, 2003.

TERMENTZI, A.; KEFALAS, P.; KOKKALOU, E. Antioxidant activities of various extracts and fractions of *Sourbus domestica* fruits at different maturity stages. **Food Chemistry**, Barking, v. 98, p. 599-608, 2006.

THARANATHAN, R.N.; YASHODA, H.M.; PRABHA, T.N. Mango (*Mangifera indica* L.), “The King of Fruits” – An overview. **Food Reviews International**, New York, v. 22, p. 95-123, 2006.

UNIVERSIDADE DE CAMPINAS (UNICAMP). **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 2 ed. Campinas, 2006.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, Barking, v. 111, p. 816-823, 2008.

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.

VINSON, J.A.; SU, X.; ZUBIK, L.; BOSE, P. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, p. 5315-5321, 2001.

WANG, H., CAO, G., PRIOR, R.L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 44, p. 701-705, 1996.

WANG, J.; MAZZA, G. Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor alpha in LPS/IFN-gama-activated RAW 264.7 macrophages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, p. 4183-4189, 2002.

WEN, L.; WROLSTAD, R.E. Phenolic composition of authentic pineapple juice. **Food Chemistry and Toxicology**, Corvallis, v. 67, n. 1, p. 155-161, 2002.

WOJDYLO, A.; OSZMIANSKI, J.; CZEMERYYS, R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. **Food Chemistry**, Barking, v. 105, p. 940-949, 2007.

ZADERNOWSKI, R.; NACZK, M.; NESTEROWICZ, J. Phenolic acid profiles is some small berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, p. 2118-2124, 2005.

ZHENG, W.; WANG, S.Y. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, p. 502-509, 2003.

ZUO, Y.; WANG, C.; ZHAN, J. Separation, characterization, and quantification of benzoic and phenolic antioxidants in American cranberry fruit by GC-MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, p. 3789-3794, 2002.

APÊNDICES

APÊNDICE 1

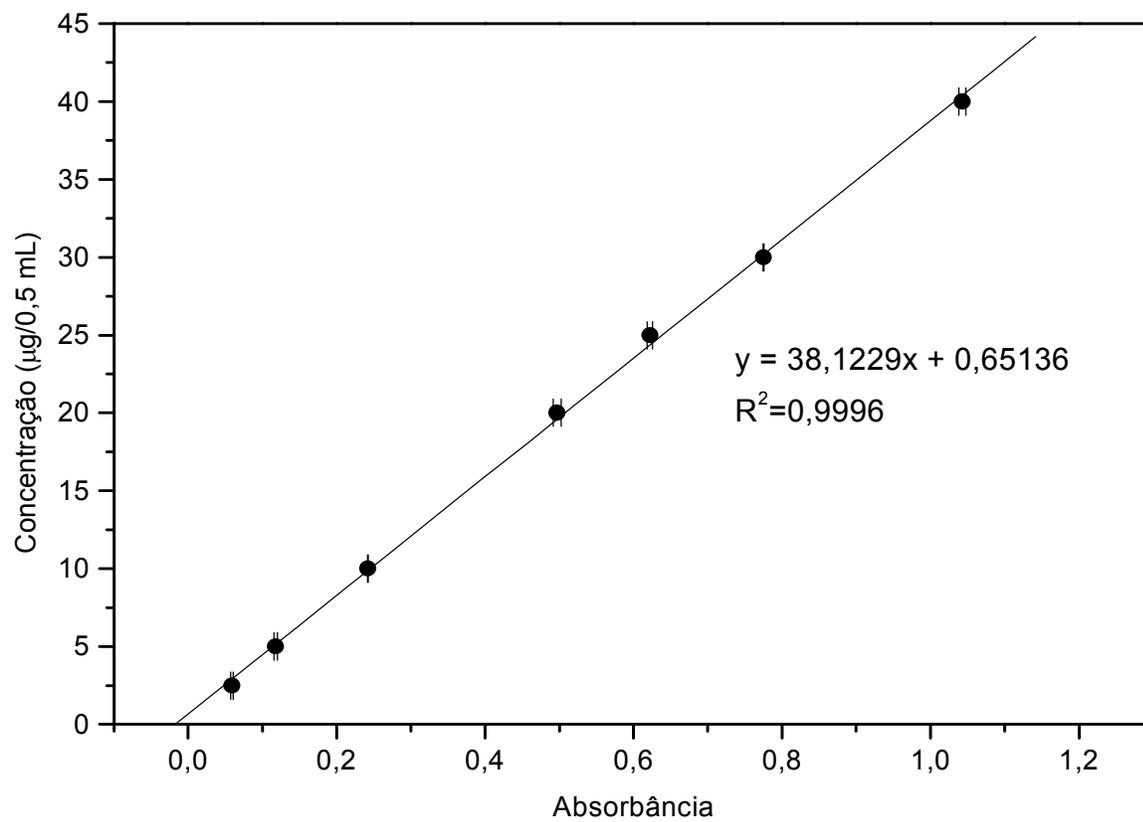


Figura 26 - Curva de calibração do ácido gálico para o cálculo do teor de compostos fenólicos totais

APÊNDICE 2

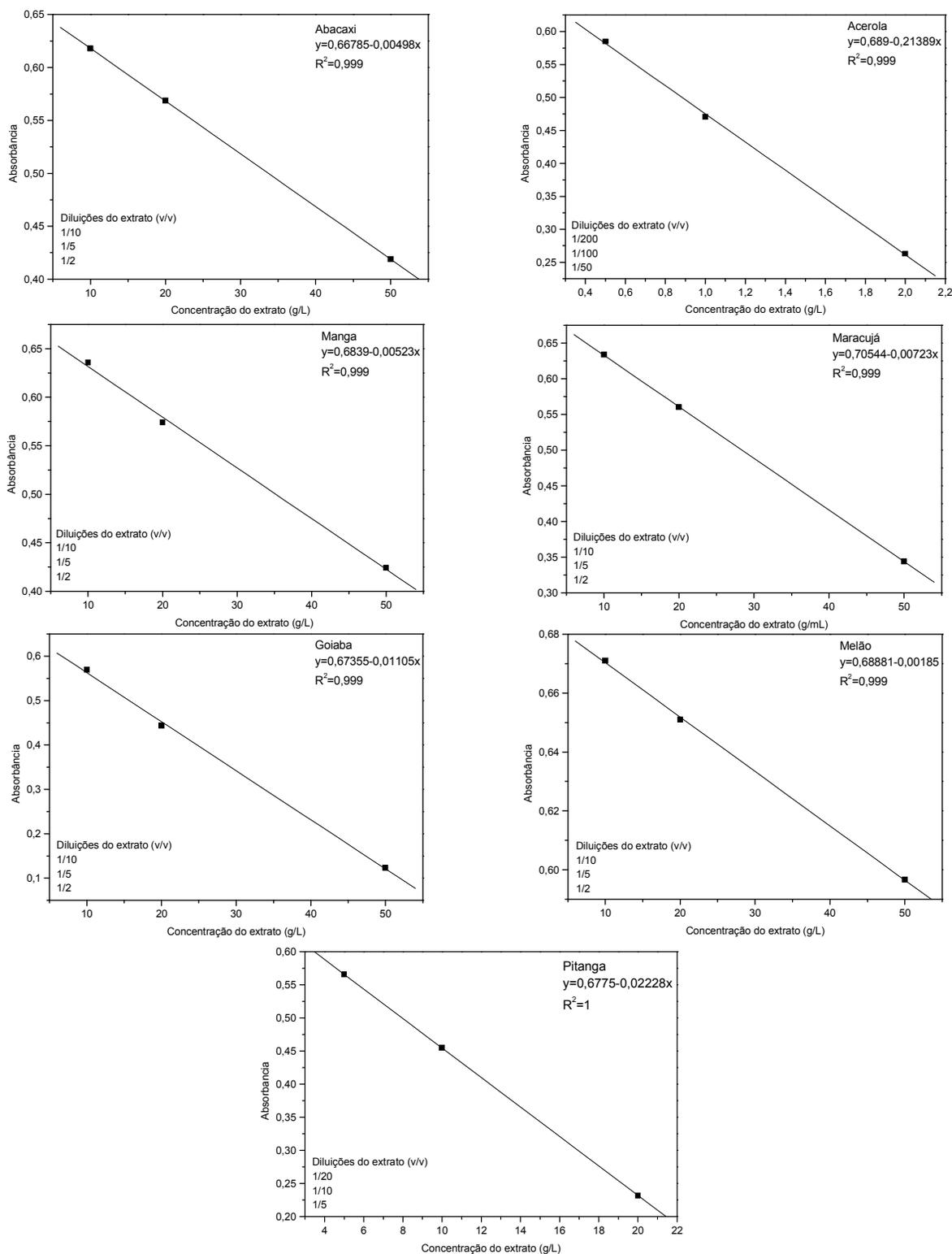


Figura 27 - Diluições e ajuste das curvas dos extratos de frutas pelo método ABTS⁺⁺

APÊNDICE 3

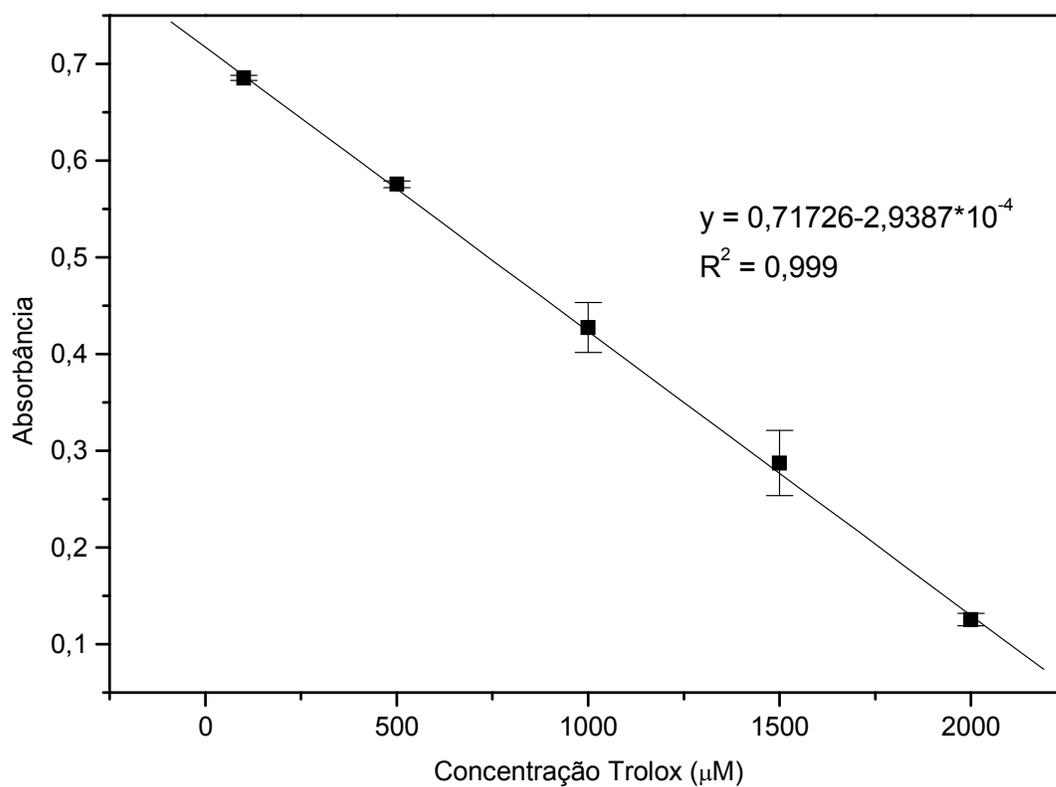


Figura 28 - Curva de calibração do Trolox