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

**Cascas de frutas tropicais como fonte de antioxidantes para
enriquecimento de suco pronto**

Zilmar Meireles Pimenta Barros

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

**Piracicaba
2011**

Zilmar Meireles Pimenta Barros
Licenciatura Plena em Química

**Cascas de frutas tropicais como fonte de antioxidantes para enriquecimento de
suco pronto**

Orientador:
Prof^a. Dra. **JOCELEM MASTRODI SALGADO**

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

**Piracicaba
2011**

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

Barros, Zilmar Meireles Pimenta

Cascas de frutas tropicais como fonte de antioxidantes para enriquecimento de suco pronto / Zilmar Meireles Pimenta Barros. - - Piracicaba, 2011.
84 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2011.

1. Alimentos fortificados 2. Análise sensorial 3. Antioxidantes 4. Frutas tropicais 5. Resíduos 6. Suco I. Título

CDD 664.8
B277c

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

A Alexandre, com amor;
à “profa” Jocelem Mastrodi Salgado; e
ao professor Mário Adelmo Varejão-Silva,
por acreditarem em mim.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, presença constante em minha vida;

Aos meus pais, Maria e José (*in memorian*), por me concederem a vida e serem exemplos de força e sensibilidade;

À minha irmã, Susanne, pelo aprendizado ao longo do caminho;

Aos familiares. Em especial, aos tios: Estelita, Moacir (*in memorian*) e Fátima. Ao primo Pedrinho (*in memorian*), “meu anjo de olhos verdes”. Aos primos Ney, Naldinho e Eliomar pela ajuda e pelo carinho de irmãos. À D. Ana, Adriane, André e Andréa. À Verônica, por cuidar dos meus tesouros pernambucanos (Xande, João e Fernanda);

A todos os meus mestres, desde a mais tenra idade, por me proporcionarem chegar até este momento de realização;

À Prof^ª. Dra. Joclem Mastrodi Salgado, por ter me acolhido com carinho e pelo aprendizado que foi nossa convivência;

Aos professores do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, especialmente aos professores Prof. Dr. Severino Matias de Alencar, Prof. Dr. Cláudio Rosa Gallo, Prof^ª. Dra. Marília Oetterer, Prof. Dr. Ernani Porto, Prof^ª. Dra. Marta Helena Fillet Spoto, Prof^ª. Dra. Thais M. F. S. Vieira e Prof^ª. Dra. Solange G. C. Brazaca;

Ao Prof. Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias, pelas análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Francisco Antonio Monteiro, pela quantificação de minerais.

Ao Prof. Dr. Eduardo Francisquine Delgado, pela disponibilidade e ajuda incondicional em momentos difíceis dessa jornada. Deus lhe abençoe;

À FAPESP pela concessão da bolsa de mestrado;

À Beatriz Helena Giongo, pelas correções bibliotecárias;

Aos funcionários do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição pela ajuda e carinho recebidos. Em especial, ao Fábio (secretaria da Pós-graduação), pela sua ajuda e carinho em todos os momentos necessários. A Vana e Eliane Giulinni pelo carinho e amizade. A Elisvete, Silvana e Midian; Paulinha e Vanessa (Cantina Marrom). A Levi Lins, por nos fazer sorrir e nos ajudar sempre;

Aos amigos do laboratório: Priscila Brígide (sucesso nos EUA), Suzan Blima, Maira, Ivânia, Ana Paula e Patrícia Corazza, Paulo Roberto, Adriano, Evelise, Karina Huber, Eloá, Neila, Heloísa, Cleomar, Patrícia Maris, Erika Gutierrez, Regina (Viçosa), Tânia Baroni, Keila

Naomi, Nataly Maria Viva de Toledo (lindo nome!), Larissa, Marcelo, Ana (UNIMEP), Maria Júlia;

Ao amigo Aderson, pelo carinho e por me presentear com os buritis. Ao Sr. Edison Siqueira Melo pela doação das uvas e à Fabiane Camara pela compra das romãs;

Às amigas e companheiras de análises, Fúvia Biazotto, Maressa, Marina, Natália, Carlos e Mariana Coutinho;

Aos amigos do mestrado da turma de 2009, em especial a Daniele Leal, Daniel Modenese, Lika Ambe, Gabrielle Cardoso, Werner e Juliana Walder;

A Marcos José Trevisan e Patrícia do Departamento de Produção Vegetal (LPV), pelas análises de °Brix, Ac. Titulável e pH dos sucos e por todo carinho e amizade;

À Thássia Larissa Cardoso, do laboratório de Frutas e Hortaliças, pela leitura de cor dos sucos. A Priscila (Caloi), Ligiane e Ingridy, pela ajuda e carinho;

Ao “amigo emprestado” Jaedson C. A. Mota, pelas correções das referências e por me presentear com a frase simples e verdadeira: “ esta minha loucura é o que me mantém são”;

Aos meus amados e inesquecíveis anjos: Raquel Iracema, Bruno Rodrigues, Denise Leme, Cristina Bani, Cecília Helena Nogueira, Rose Rocangne, Adna Prado, Risia Lacerda, Miriam (Trakinas), Spiño (Paulo), Luzimário (Marujo) e Roque Emmanuel (obrigada pelo resumo em inglês).

A todos os amigos Esalqueanos, em especial Rodrigo Amâncio, Bruna Mengai, Keityane, Maria Augusta, Juliana, Ana Paula (Fubá), Izabela Salvador, Priscila Santos, Ivani Moreno, Ricardo (Lócs), Selma (Rapel), Lucas (Makunaíma), Ana Elisa (Pós-colheita), Beatriz Meduri, Irene Faccioli (CEP – ESALQ/USP), Diogo Carneiro;

À Aline, amiga, companheira de casa, laboratório e de conversas regadas a cafezinhos deliciosos. Torço pelo seu sucesso sempre. Obrigada por tudo;

À Priscila (Compota), pelo aprendizado em antioxidantes, divagações acadêmicas, conclusões filosóficas, músicas e poesias. Nossa convivência reforçou em mim a certeza de que o encontro com o outro é o encontro com o amor que habita dentro de nós. Amo você!

Às meninas da “Saia Daki” (nossa casa), Luciane (em Lavras), Mônica e Vanessa pelas conversas, risadas, apoio nos momentos difíceis e por nos ajudar a preencher o azulejo da parede da nossa animada cozinha com pérolas inesquecíveis;

Aos amigos piracicabanos: Idalina, Philip Wesley Eustice, Márcia e João;

Ao amigo e Prof. Dr. André Marques Cavalcanti, pela amizade e carinho;

A toda Arte, em forma de músicas, poemas, piadas e conversas, que nos impulsiona a viver cada dia e descobrir a beleza e infinita criatividade do “ser humano”; e

A todos que porventura não mencionei, que passaram pela minha vida piracicabana e que me ajudaram a chegar aqui, nesse momento, quando escrevo estes agradecimentos.

"Qualquer caminho é apenas um caminho e não constitui insulto algum - para si mesmo ou para os outros - abandoná-lo quando assim ordena o seu coração. (...) Olhe cada caminho com cuidado e atenção. Tente-o tantas vezes quantas julgar necessárias... Então, faça a si mesmo e apenas a si mesmo uma pergunta: possui esse caminho um coração? Em caso afirmativo, o caminho é bom. Caso contrário, esse caminho não possui importância alguma."

(Carlos Castañeda In: O Tao da Física - Fritjof Capra)

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	15
1 INTRODUÇÃO	17
2 DESENVOLVIMENTO	19
2.1 Revisão bibliográfica	19
2.1.1 Alimentos funcionais	19
2.1.2 Antioxidantes	20
2.1.3 Papel dos antioxidantes na prevenção de doenças	22
2.1.4 Frutas e compostos antioxidantes	24
2.1.4.1 Buriti (<i>Mauritia flexuosa</i> L. f.)	26
2.1.4.2 Romã (<i>Punica granatum</i> L.)	27
2.1.4.3 Maçã (<i>Malus communis</i> Lamk)	29
2.1.4.4 Uva (<i>Vitis vinifera</i> L.)	30
2.1.5 Subprodutos vegetais ricos em antioxidantes	31
2.1.6 Sucos e seu enriquecimento	32
2.2 Material e métodos	34
2.2.1 Obtenção da matéria-prima	34
2.2.2 Preparo das amostras	34
2.2.3 Preparo dos extratos	38
2.2.4 Análises físico-químicas das cascas	38
2.2.4.1 Composição centesimal	39
2.2.4.2 Carboidratos totais	39
2.2.5 Minerais	39
2.2.6 Determinação de compostos antinutricionais	40
2.2.6.1 Taninos	40
2.2.6.2 Ácido fítico	40
2.7 Teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante	40
2.7.1 Teor de compostos fenólicos totais	40
2.7.2 <i>Screening</i> de atividade antioxidante das cascas de buriti (CB), maçã (CM), romã (CR) e uva (CV)	41
2.7.2.1 Determinação pelo método DPPH	41
2.7.2.2 Determinação pelo método ABTS	42
2.8 Estudo complementar a etapa <i>screening</i> de atividade antioxidante das cascas de buriti (CB), maçã (CM), romã (CR) e uva (CV)	42
2.8.1 Determinação de Flavonoides	43
2.8.2 Determinação de ácido ascórbico	43
2.9 Critérios para enriquecimento de suco pronto	44
2.10 Análises físico-químicas de suco pronto e enriquecido com diferentes concentrações	45
2.10.1 Análise de cor	45
2.10.2 Determinação do pH	46
2.10.3 Determinação do °Brix e acidez titulável	46
2.11 Atividade antioxidante de suco pronto e enriquecido com diferentes concentrações	47
2.12 Análise de estabilidade oxidativa dos sucos pronto e enriquecido	48
2.13 Análises microbiológicas dos sucos pronto e enriquecido	48
2.14 Teste de aceitabilidade do suco pronto de goiaba enriquecido com EEL-CR	49

2.15 Análises Estatísticas	52
2.15.1 Análise de variância (ANOVA)	52
2.15.2 Análise de fatores associados aos componentes principais	52
2.16 Resultados e discussão	52
2.16.1 Rendimento das cascas liofilizadas (CB, CM, CR e CV)	52
2.16.2 Composição centesimal das cascas liofilizadas (CB, CM, CR e CV)	53
2.16.3 Composição de minerais das cascas liofilizadas (CB, CM, CR e CV)	54
2.16.4 Composição de antinutricionais das cascas liofilizadas (CB, CM, CR e CV)	55
2.16.5 Análise de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante das cascas liofilizadas (CB, CM, CR e CV)	57
2.16.6 Teor de flavonoides e vitamina C das cascas liofilizadas de romã (CR)	59
2.16.7 Análise da atividade antioxidante do suco pronto enriquecido com EEL-CR	61
2.16.8 Análise da estabilidade oxidativa do suco de goiaba enriquecido com EEL-CR	62
2.16.9 Teste de aceitabilidade do suco pronto sabor goiaba enriquecido com EEL-CR	64
2.16.10 Análises físico-químicas de suco pronto e enriquecido (controle e 0,7%)	66
2.16.10.1 Análise de pH, Sólidos Solúveis Totais (SST) e Acidez Titulável (ATT) de suco pronto e enriquecido (controle e 0,7%)	66
2.16.10.2 Análise de Cor de suco pronto e enriquecido (controle e 0,7%)	67
2.16.11 Análise de fatores associados aos componentes principais	68
3 CONCLUSÕES	73
REFERÊNCIAS	75

RESUMO

Cascas de frutas tropicais como fonte de antioxidantes para enriquecimento de suco pronto

Alimentos prontos para o consumo atendem ao estilo de vida moderno em que cada vez mais cresce o número de pessoas que buscam praticidade e segurança alimentar. Nesse segmento, suco pronto tem mercado garantido, com tendência à expansão. Com o intuito de oferecer ao consumidor um alimento com valor agregado, foi testada a utilização de extratos de resíduos (cascas) de buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.), romã (*Punica granatum* L.), maçã (*Malus communis* Lamk.) e uva (*Vitis vinifera* L.) no enriquecimento de suco pronto comercial. Foram realizadas análises físico-químicas do extrato das cascas: composição centesimal, fatores antinutricionais, minerais, compostos fenólicos totais, determinação da atividade antioxidante pelos métodos da redução dos radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) e ABTS (2,2-azino-bis-(3etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico), flavonoides e vitamina C na casca que apresentou maior atividade antioxidante (romã), que foi utilizada para enriquecimento do suco pronto comercial. Foi realizada análise de estabilidade oxidativa do suco enriquecido em diferentes concentrações. Foram feitas ainda análises físico-químicas no suco enriquecido quanto a pH, Brix, acidez titulável e cor. Do presente estudo foi constatado que a casca da romã apresenta alto rendimento, teor significativo de compostos fenólicos e ácido fítico, assim como poder antioxidante, avaliado por DPPH e ABTS. A avaliação sensorial mostrou que não houve diferença entre o suco controle e o enriquecido. O produto com valor agregado é bem aceito e viável do ponto de vista tecnológico.

Palavras-chave: Resíduos; Atividade antioxidante; Suco enriquecido; Análise sensorial; Estabilidade oxidativa

ABSTRACT

Tropical fruit peels as a source of antioxidant for ready juice enrichment

Food ready for consumption meet the modern lifestyle where the number of people seeking for convenience and food safety is increasingly growing. In this segment, ready juice has a guaranteed place in the market, with a tendency to expansion. In order to offer the consumer a food with earned value, we tested the use of extracts of wastes (peels) of Moriche Palm (*Mauritia flexuosa* Lf), Pomegranate (*Punica granatum* L.), Apple (*Malus communis* Lamk.) and Grapes (*Vitis vinifera* L.) in the enrichment of commercial ready juice. Physical and chemical analysis of the peel extracts were carried out: centesimal composition, antinutritional factors, minerals, total phenolic compounds, antioxidant activity determination by the methods of reducing the free radicals DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) and ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid), flavonoids and vitamin C in the type of peel with the highest antioxidant activity (pomegranate), which was used for enrichment of commercial ready juice. Oxidative stability analysis was performed in the juice enriched in different concentrations. Other physical and chemical analyses were also performed in the enriched juice, such as pH, total soluble solids (°Brix), titratable acidity and color. From this study, it was found that the pomegranate peel has a high yield, high amount of phenolic compounds and phytic acid, as well as antioxidant power, assessed by DPPH and ABTS. The sensorial evaluation showed no difference between control and enriched juice. The value-earned product is well accepted and feasible from a technological standpoint.

Keywords: Wastes; Antioxidant activity; Enriched juice; Sensorial Evaluation; Oxidative stability

1 INTRODUÇÃO

A preocupação mundial com o meio ambiente incentiva o estudo de inovações tecnológicas, como a utilização de resíduos no processamento de indústrias, buscando o crescimento da oferta de produtos funcionais certificados pelos órgãos competentes como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Ainda, reforça a relação entre pesquisa acadêmica e mercado econômico.

Alimentos vegetais são subutilizados por perdas no processo de pós-colheita, armazenamento, manuseio e descarte de partes não comestíveis como suas cascas. Porém, cascas de vegetais são fontes de importantes nutrientes para o metabolismo humano e prevenção de doenças. Enriquecimento de alimentos é uma realidade e o estudo de cascas de frutas e seu potencial antioxidante, dentre outros, apresenta dados crescentes na literatura.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antioxidante das cascas de buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.), romã (*Punica granatum* L.), maçã (*Malus communis* Lamk.) e uva (*Vitis vinifera* L.), e avaliar o suco pronto enriquecido com o extrato da casca que apresentar maior atividade antioxidante.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão bibliográfica

2.1.1 Alimentos funcionais

A relação do Homem com o alimento foi constituída, desde sua origem, pela fome e necessidade de saciá-la. O Homem primitivo ampliava seus conhecimentos alimentares pela experimentação. Ao encontrar um fruto ou um tubérculo desconhecido, provava-o, passando a consumi-lo caso o agradasse. Vestígios dessa “fase de experimentação” ainda são perceptíveis em crianças, mas, ao longo do tempo, foi substituída pela investigação e conhecimento, aliados ao avanço da tecnologia. O conceito de alimento se ampliou e além de nutrir, se tornou aliado da prevenção de doenças crônico-degenerativas e importante coadjuvante em tratamentos médicos. Uma dieta equilibrada contribui para manutenção da saúde e redução do risco de patologias com abrangência mundial, com custos médicos e socioeconômicos elevados e aumentando em populações cada vez mais jovens (SALGADO, 2005).

Assim, surgiu o conceito de alimento funcional. Dentre as citações mais antigas envolvendo este conceito se destaca a frase do filósofo grego Hipócrates que preconizava, há cerca de 2500 anos: “permita que o alimento seja teu medicamento e que o medicamento seja teu alimento” (SALGADO, 2000; VIGGIANO, 2005).

Em 1900, o cientista russo Metchnikoff, observou a relação entre longevidade e alimentação em populações búlgaras, sugerindo que a dieta alimentar oriunda de derivados do leite fermentado, ricos em probióticos, seria fator determinante desta característica populacional. O estudo realizado pode ter sido pioneiro na investigação científica dos alimentos funcionais (LAMSAL; FAUBION, 2009).

Na década de 1980, o Japão lançou o programa governamental *FOSHU — Foods for Specified Health Use* (Alimentos para Uso Específico de Saúde). Segundo Yamaguchi (2004), o objetivo do programa foi desenvolver e divulgar alimentos funcionais que melhorassem a qualidade de vida da crescente fração da população que envelhecia, face à alta expectativa de vida e reduzisse os custos com tratamentos médicos que cresciam de

forma exponencial. O programa FOSHU enfatizava o conceito de prevenção e qualidade de vida por meio de mudança na dieta alimentar.

Alimento funcional é definido como aquele que além das propriedades nutricionais inerentes proporcionando benefícios para a saúde. O consumo regular desses alimentos reduz o risco de doenças crônico-degenerativas como as cardiovasculares, o câncer, o diabetes, dentre outras (ROBERFROID, 2007).

Em 1999, o órgão regulatório de alimentos do Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), criou diretrizes para caracterização de alimentos funcionais. A Portaria 398, de 30/04/99, define alimento funcional como “todo aquele alimento ou ingrediente que, além das funções metabólicas normais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produza efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica” (BRASIL, 1999).

Na legislação brasileira já existem diversos compostos bioativos com alegação horizontal aprovada. As fibras solúveis e insolúveis; os prébióticos e probióticos; os antioxidantes como carotenoides, flavonoides, licopeno, vitaminas E e C; os fitoesteróis e ácidos graxos ômega 3 e 6 atendem os requisitos exigidos pela ANVISA para serem considerados alimentos funcionais (SALGADO, 2000).

2.1.2 Antioxidantes

Antioxidante é definido como “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 citado por PRADO, 2009; MELO, 2010).

De acordo com o mecanismo de ação, os antioxidantes podem ser divididos em: primários e secundários. Estes últimos englobam os sinergistas, os removedores de oxigênio, os biológicos, os agentes quelantes e os mistos. Sintéticos ou naturais, os antioxidantes devem ter comprovada sua segurança para a saúde, antes de serem utilizados em alimentos, produtos farmacêuticos ou cosméticos. Dentre os antioxidantes naturais, se destacam o ácido ascórbico, a vitamina E, o β -caroteno e os compostos fenólicos (MELO, 2010).

Entre os compostos naturais com notável atividade antioxidante destacam-se os ácidos fenólicos e seus derivados, os flavonoides, tocoferóis, fosfolipídios, aminoácidos,

ácido fítico, ácido ascórbico, pigmentos e estóis (JAYAPRAKASHA et al., 2000 citado por ROESLER et al., 2007). Antioxidantes naturais retardam a peroxidação lipídica em alimentos prontos (ampliando sua vida útil), sendo alternativa viável para substituição aos antioxidantes sintéticos em uso (GUIMARÃES et al., 2010; SHING et al., 2002).

Os compostos fenólicos, presentes em plantas, são definidos como metabólitos secundários derivados das vias do ácido chiquímico e da fenilpropanoídica. São substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilas. Os principais grupos fenólicos são os flavonoides, ácidos fenólicos e polifenóis (taninos). Os flavonoides são classificados em flavanonas, flavonas, flavonóis (catequinas), dihidroflavonóis, isoflavonas e antocianinas. A atividade antioxidante de compostos fenólicos, como os flavonoides, decorre do fato de atuarem como doadores de hidrogênio e em quelar metais, reduzindo o risco de patologias decorrentes da ação destes (GONÇALVES, 2008).

Segundo Moraes-de-Souza (2007), os alimentos de origem vegetal das mais variadas espécies são fontes de diversos compostos que apresentam atividade antioxidante natural. Os radicais livres, ou espécies reativas de oxigênio (ERO), são moléculas, átomos ou íons contendo elétrons em número ímpar os quais possuem *spins* não-emparelhados, que vibram incessantemente, tornando-os muito reativos. Ocorrem naturalmente como resultado de processos metabólicos dos organismos vivos, como a respiração celular, geradora de energia essencial à vida. Embora úteis ao organismo humano, podem causar distúrbios quando em excesso, levando ao estresse oxidativo (ATKINS; JONES, 2001), aumentando os riscos para doenças crônico-degenerativas como a catarata e o envelhecimento precoce (JARDINI; MANCINI, 2007).

Os mecanismos bioquímicos de inativação das espécies reativas de oxigênio podem ser endógenos ou exógenos. No primeiro, atuam o sistema enzimático formado pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), glutational- peroxidase e catalase; no segundo, atuam os compostos provenientes da dieta ou de suplementação, denominados antioxidantes, incluindo as vitaminas, os minerais e outras substâncias, dentre as quais os compostos fenólicos (MELO, 2010).

As metodologias utilizadas para avaliar atividade antioxidante de compostos são diversas e incluem ABTS (2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico)), DPPH (2,2-difenil-1- picrilidrazil), FRAP (Poder antioxidante de redução do ferro), autooxidação do

sistema β -caroteno/ácido linoleico, Rancimat, ORAC (Capacidade de absorção do radical oxigênio), dentre outros (PRADO, 2009).

A análise de atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres DPPH é largamente utilizada por se tratar de um ensaio simples e de alta sensibilidade. O DPPH se constitui um radical livre, sendo um produto adquirido, pronto para uso. Enquanto que o ABTS é obtido em momento anterior (entre 12 a 16 horas) ao seu uso e sua formação demanda manipulação de compostos. A produção do ABTS se dá por reações enzimáticas ou químicas. O método ABTS é também amplamente utilizado para determinação de atividade antioxidante em soluções de substâncias puras, misturas aquosas e bebidas (MELO, 2010).

2.1.3 Papel dos antioxidantes na prevenção de doenças

Os estudos científicos que investigam o papel dos antioxidantes na prevenção de doenças se multiplicam em escala exponencial e sugerem que o binômio “alimentação-antioxidantes” desempenham papel fundamental no crescimento ou redução de problemas cardiovasculares (incluindo a precursora hipertensão arterial), vários tipos de câncer, danos causados às moléculas de DNA (ácido desoxirribonucleico), envelhecimento, patologias como o mal de Alzheimer, o diabetes, a artrite reumatóide, síndrome metabólica e processos neurodegenerativos. É relevante o papel dos antioxidantes impedindo a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade, o LDL colesterol (*Low-density lipoprotein*), retardando o surgimento e/ou progressão de patologias como a aterosclerose, o acidente vascular cerebral (AVC), alterações imunológicas e processos inflamatórios como a adesão plaquetária (GUIMARÃES et al., 2010; PIMENTEL et al. 2005).

O estado nutricional de populações que vivem em países desenvolvidos é afetado por hábitos inadequados, destacando-se a elevada ingestão de açúcares e o consumo excessivo de gorduras, principalmente as saturadas, além da considerável redução do consumo de carboidratos, fibras, vitaminas e sais minerais. Tais hábitos são apontados como responsável pela elevada incidência de doenças crônico-degenerativas, decorrentes do desequilíbrio metabólico, ocasionado pelo estresse oxidativo, que promove o aumento dos radicais livres no organismo (DE ANGELIS, 2002).

Os antioxidantes atuam em diferentes níveis na proteção dos organismos, impedindo a formação dos radicais livres, pela inibição das reações em cadeia; interceptando aqueles radicais livres gerados por fontes endógenas ou exógenas; impedindo o ataque sobre os lipídeos, as proteínas e as cadeias do DNA, evitando perda da integridade celular ou reparando as lesões causadas pelos próprios radicais livres (GARCÍA-ALONSO et al., 2004).

Nos alimentos vegetais não processados os antioxidantes estão presentes naturalmente, conferindo-lhes proteção contra o estresse oxidativo. Os antioxidantes presentes nos vegetais exercem efeitos benéficos aos organismos como a capacidade de sequestrar os radicais livres. Dentre os antioxidantes naturais, os compostos mais estudados são o ácido cafeico, o ácido gálico e o ácido elágico, os quais podem inibir o processo de peroxidação lipídica. Os compostos antioxidantes apresentam similaridades quanto à estrutura molecular básica, já que possuem pelo menos um anel aromático, ao qual está ligado um grupo hidroxila. Esses compostos representam os antioxidantes, que agem por diversos mecanismos, de maneira a conferir defesa contra o ataque de radicais livres (PRADO, 2009).

O conceito de antioxidantes assim como seu estudo avançou e taninos e ácido fítico, considerados antinutricionais, hoje são também investigados pelo seu potencial antioxidante. De acordo com Tripathi e Misra (2005), o ácido fítico presente em ingredientes formulados a partir da soja *Glycine max* (L.), participa como fitoquímico com atividade antioxidante, sugerindo ser responsável por prevenção de doenças cardiovasculares e carcinogênicas.

O ácido fítico (mio-inositol hexakisfosfato) é um composto encontrado em cereais, leguminosas e em cascas de frutas. É fonte de fósforo, importante elemento químico. Pode agir como reserva de energia e quando na forma fosforilada participa de importantes funções celulares vitais ao metabolismo animal (LAJOLO et al., 2004).

Estudos *in vitro* sugerem que o ácido fítico apresenta efeitos antiproliferativos em meio celular humano leucêmico. Ainda, outro estudo indica hipótese de que a atividade antiproliferativa do ácido fítico é mediada por níveis baixos do mesmo (DELILERS et al. 2002; SHAMSUDDIN, 2002 citados por LAJOLO et al., 2004).

Anekonda et al. (2011) estudaram o ácido fítico (hexakisfosfato inositol) em modelo *in vitro* e animal. Foi observado que o ácido fítico reduz enzimas importantes, como a superóxido desmutase, no metabolismo do estresse oxidativo. O objetivo do estudo foi

esclarecer os benefícios ou efeitos nocivos do ácido fítico, no contexto da patologia de Alzheimer. Foi descrito como material utilizado o padrão ácido fítico na forma de sal hidratado de sódio. O estudo animal foi dividido em dois grupos (tolerante e portador).

Foi observado o efeito do ácido fítico sobre substâncias envolvidas com o estresse oxidativo e o mal de Alzheimer. Os resultados sugerem que tratamento com ácido fítico melhora a função mitocondrial e atenua a formação de radicais livres em cérebro de ratos. Observou-se no estudo *in vivo* excelente tolerância para a ingestão de ácido fítico. De acordo com o padrão estudado. Os resultados observados podem ajudar no desenvolvimento de estratégias de proteção efetiva para patologias como mal de Parkinson, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares, isquemia cerebral, epilepsia, dentre outras.

2.1.4 Frutas e compostos antioxidantes

Desde a época da pré-história, as frutas desempenham importante papel na alimentação do homem, que, vivendo como nômade, se deslocava, em busca desses alimentos, em geral sazonais. O desenvolvimento de técnicas de cultivo de grãos e dos respectivos processos de conservação contribuiu para o surgimento dos primeiros grupos sedentários (RODRIGUES, 2010). A princípio, apenas se conhecia as propriedades nutricionais das frutas. Porém, hoje se destacam também por sua importância à manutenção da saúde, como alimentos com propriedades relacionadas à manutenção da qualidade de vida e longevidade (SALGADO, 2005; GONÇALVES, 2008).

A ampla diversidade climática, aliada a existência de solos férteis, tornam o Brasil um país adequado para a produção de uma considerável variedade de frutas tropicais e subtropicais. A produção, em 2007, ultrapassou 43 milhões de toneladas, segundo o Instituto Brasileiro de Frutas – IBRAF (IBRAF, 2011). O Brasil é um grande produtor de frutas, tanto em quantidade quanto em diversidade. No território nacional são produzidas frutas de excelente qualidade, de modo a suprir continuamente o mercado em todas as estações. (KUSKOSKI et al., 2005 SILVA; TASSARA, 2005 citados por RODRIGUES, 2010). Além da grande abundância de frutas nativas, o Brasil cultiva diferentes espécies frutíferas, principalmente as chamadas “frutas da estação” (GONÇALVES, 2008).

A oferta de frutas se apresenta das mais variadas formas, como as desidratadas, em conserva, cristalizadas, em xaropes, sucos prontos, sucos em pó, em polpa ou como doces e compotas, visando atender ao mercado consumidor diversificado, a saber, crianças e adultos; atletas, mulheres, adolescentes ou sedentários, apenas exemplificando uma classificação mercadológica ampla (SOARES et al, 2004).

O consumo de frutas pode ser *in natura*, porém, em um país tropical (clima quente), a demanda por sucos é crescente e se tornou importante forma de consumir frutas, inclusive pelo fato de conservá-las por mais tempo. A utilização de polpas congeladas, que também vêm se ampliando no mercado nacional, possibilita a comercialização em regiões aonde a fruta *in natura* não chegaria com facilidade (SOARES et al, 2004; SILVA; ARAÚJO, 2009).

É crescente o despertar da sociedade quanto à importância de que frutas constituem ricas fontes naturais de vitaminas e minerais e demais compostos essenciais à dieta regular equilibrada. O consumo de frutas frescas e de polpas aumentou, não apenas no Brasil, mas em todo o mundo. Campanhas publicitárias se tornaram mais freqüentes, enfatizando os benefícios do consumo de frutas e hortaliças. Outro fator determinante nessa mudança conceitual está relacionado à redução do tempo utilizado com alimentação, quando se adotam alimentos individualizados de fácil preparo ou mesmo prontos, como sucos (SIMARELLI, 2006 citado por PRADO, 2009).

Frutas como o buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.), a romã (*Punica granatum* L.), a maçã (*Malus communis* Lamk) e a uva (*Vitis vinifera* L.) apresentam excelente potencial de estudo com ênfase na atividade antioxidante e também no reaproveitamento de partes não consumidas, como suas cascas, que representam resíduos do setor agroindustrial brasileiro.

Em especial, isômeros de punicalagina e seus derivados, ácidos elágico, galágico e punicalina, contribuem com até 90% do total da atividade antioxidante do suco de romã (GONZÁLES-MOLINA et al., 2009), compostos igualmente presentes na casca desta fruta. Além disso, ácidos orgânicos, proteínas e minerais também podem ter contribuído para a expressão desta atividade, seja de forma particular ou sinérgica. Além da atividade antioxidante, a punicalagina possui efeitos anti-inflamatório e antiproliferativo (LANSKY; NEWMAN, 2007), sendo assim de importância para a saúde.

A inter-relação entre minerais e compostos antioxidantes presentes em frutas foi investigada, sendo observado que o mineral ferro participa como agente redox em presença

de compostos com atividade antioxidante. A presença do antioxidante reduz o Fe^{3+} (na forma complexada de ferrocianida) a Fe^{2+} . Esta constatação resultou da interpretação da cinética da reação que ocorre quando é realizada a análise de extrato de casca de frutas (AMAROWICZ et al., 2004).

2.1.4.1 Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.)

A *Mauritia flexuosa* L. f. é conhecida popularmente como buriti, caraná ou miritirana. Pertencente à família *Araceae* é considerada a palmeira mais abundante do Brasil, onde é nativa. Apresenta características morfológicas como atingir 25 m de altura e possuir entre 10 a 20 folhas. É encontrada em terrenos arenosos e com drenagem reduzida. Esta palmeira apresenta ampla distribuição na floresta amazônica, pantanal e cerrado, especialmente no Maranhão, Piauí, Ceará, Bahia, Minas Gerais e São Paulo (MACHADO; SILVEIRA, 2009; LORENZI et al.2004).

As folhas do buritizeiro são utilizadas na cobertura de casas e seus frutos são consumidos *in natura*. O buriti é empregado no processamento de doces, sucos e sorvetes com potencial de mercado em ascensão. O buriti possui elevada concentração de β -caroteno, precursor da vitamina A, além de carotenoides e lipídios. Carotenoides são conhecidos por serem potentes antioxidantes e atuarem no metabolismo humano como antioxidantes, prevenindo danos celulares e patologias crônico-degenerativas. Consequentemente, o buriti se tornou importante fonte de estudo da atividade antioxidante de carotenoides e vitamina E e do sinergismo entre estes (ZANATTA et al., 2010).

Os compostos presentes nessa fruta contribuem para reduzir a incidência de patologias oculares, como a xeroftalmia (persistente secura da conjuntiva com turvamento da córnea). O óleo presente no buriti é utilizado na indústria de cosméticos, na forma de cremes, óleos corporais e loções (SILVA et al., 2010). Assim, o estudo da casca do buriti se apresenta como promissora fonte antioxidante

2.1.4.2 Romã (*Punica granatum* L.)

Da família botânica Punicaceae, a romanzeira (*Punica granatum* L) ou romã, é originária da costa do Lêmen. Cultivares de romã são encontrados na China, Índia, Paquistão, sudoeste da América do Norte, Califórnia e México. Cultivada também em jardins e pomares, como planta ornamental e medicinal, em praticamente todo o Brasil. O fruto é composto por, aproximadamente 3% de sementes, 30% de polpa e 67% de casca (incluindo a rede de membranas internas). O início do uso medicinal da romã tem data imprecisa, porém, um texto cabalístico, escrito há 800 anos intitulado *The Book of the Pomegranate* (O livro da Romã), equipara esta fruta ao aspecto feminino da Criação. A romã apresenta características ligadas a tradições e rituais em culturas como o judaísmo, cristianismo, budismo e outras. Esta fruta está associada a simbologia de vida, longevidade, saúde, feminilidade, fecundidade, conhecimento, imortalidade e espiritualidade. Na Índia, a romã é usada no tratamento do diabetes *mellitus* (LANSKY; NEWMAN, 2007). No Brasil, especialmente no Nordeste, a casca da romã é utilizada no tratamento de inflamações bucais e da garganta.

Considerada desde o império romano como um símbolo de riqueza, a romã contém diversos compostos bioativos, dentre os quais antocianinas, que possuem mecanismo de ação semelhante ao da vitamina C, Vitamina E e betacaroteno. Apresenta também taninos (punicalagina) e compostos fenólicos como antocianinas (delfinidina, cianidina e pelargonidina) (Figura 1), quercetina, ácidos fenólicos (cafeico, catequínico, clorogênico, cumárico, elágico, gálico e quínico), compostos antioxidantes que apresentam na sua estrutura química deficiência de elétrons, captando facilmente os radicais livres (WERKMAN et al., 2008).

Os taninos presentes na romã apresentam propriedade contra o vírus do herpes genital. A romã é utilizada em preparações antifúngicas e para prevenção e tratamento de doenças sexualmente transmissíveis (DST). Análise da atividade antioxidante relacionada aos compostos fenólicos, presentes na casca da romã (taninos e flavonoides), mostrou melhores resultados que os observados na semente, sendo a extração com metanol a que apresentou melhor rendimento (SINGH et al.; 2002; LANSKY; NEWMAN, 2007).

Lansky e Newman (2007) destacam o efeito antioxidante, prevenção e tratamento contra danos neurológicos, úlceras, câncer, elevação da concentração do HDL (*High Density Lipoprotein*), a lipoproteína de alta densidade conhecida como “colesterol bom”, atribuídos ao uso da romã.

A romã é rica em antocianinas (3,5-dicianidina e 3,5-dicianidina -3-O-glucosídeo; 3,5-didelpinidina e 3,5-didelpinidina-3-O-glucosídeo; 3,5-dipelargonidina e 3,5-dipelargonidina-3-O-glucosídeo), ácido elágico, isômeros de punicalagina, diferentes flavonoides (catequinas e epicatequinas; galocatequinas e epigallocatequinas). Ainda, ácido málico e ácido cítrico são ácidos abundantes. Assim como ácido oxálico, succínico e fumárico em menores teores. A romã apresenta propriedades farmacológicas expressas como atividade anti-inflamatória e hepatoprotetora, além de reduzir o risco de doenças como câncer, cardiovasculares e neurodegenerativas por se tratar de uma fruta com atividade antioxidante elevada associada com os compostos citados González-Molina et al. (2009).

A produção nacional de romã apresenta crescimento ascendente, principalmente no semi-árido. A romã é estudada com objetivos diversos, como o de inseri-la, com relevância, no mercado nacional de frutas e no reaproveitamento das partes não comestíveis, com aparência não comercial para elaboração de ingredientes antioxidantes (EMBRAPA, 2011).

Compostos bioativos da romã, como os isômeros de punicalagina (potente antioxidante), quando metabolizados estão associados ao aumento de ácido elágico. Esta informação sugere que a estocagem de suco enriquecido com EEL de CR pode apresentar atividade antioxidante crescente, até tempo limitado, condizente com a cinética da reação em questão, para a análise em questão. O ácido elágico é metabolizado pela microflora humana e contribui para benefícios à saúde como composto antioxidante. Apresentam biodisponibilidade e natureza não tóxica quando consumidos como alimentos processados, a exemplo de suco de romã. A punicalagina se destaca como uma promissora molécula multifuncional (GONZÁLEZ-MOLINA et al. 2009).

Casca de romã é rica em compostos fenólicos e as diferenças na sua atividade antioxidante em relação a outras partes da fruta podem ser devidas à distinta composição fenólica destas. Ácidos gálico, terc-gálico e elágico, já foram identificados em suco de romã (SINGH; CHIDAMBARA MURTHY; JAYAPRAKASHA, 2002) e ácidos hidroxicinâmicos, catequinas e epicatequinas, proantocianidinas e antocianidinas, quercetina, kaempferol,

luteolina, naringina, pulicalina e punicalagina, em suco e casca de romã. Todos esses compostos possuem atividade antioxidante comprovada (LANSKY; NEWMAN, 2007).

R1: pelargonidina (3,5,7-trihidroxi-2-(4-hidroxfenil)-1-benzopirilium clorido

R2: cianidina (3,5,7-trihidroxi-2-(3,4-dihidroxfenil)-1-benzopirilium clorido

R3: delfinidina ((3,5,7-trihidroxi-2-(3,4,5-trihidroxfenil)-1-benzopirilium clorido

Figura 1 – Estrutura molecular dos compostos pelargonidina, cianidina e delfinidina

Fonte: adaptado de NODA et al. (2002)

2.1.4.3 Maçã (*Malus communis Lamk*)

Dentre as plantas cultivadas no Brasil, a macieira apresentou, nos últimos vinte anos, a maior expansão em área plantada e em volume de produção. De um total de 931 Ha no ano de 1972, a área plantada se expandiu para 18.041 Ha em 1980. Em 2002 havia cerca de 32.500 Ha ocupados com macieiras, representando aumento de aproximadamente 500 Ha/ano (RIZZON et al., 2005 citado por COAN, 2006).

De acordo com dados do Ministério da Agricultura, o Brasil tem hoje 39 projetos de produção integrada de frutas (PIF). Dentre as frutas que compõem este projeto se encontra a maçã, uva e manga que conseguem espaço no mercado externo graças ao selo da PIF. O país exporta apenas 1,5% dos 42 milhões de toneladas de frutas produzidas por ano, sendo a rastreabilidade um dos principais gargalos (EMBRAPA, 2007). De acordo com a *Food and Agriculture Organization* - FAO, órgão das Nações Unidas, a produção de maçãs em 2009, no Brasil, foi de 1.220.499 de toneladas (FAO, 2011).

O plantio da maçã no Brasil teve como primeiro objetivo suprir o mercado interno, para consumo *in natura*. Posteriormente, novas necessidades da economia mundial favoreceram a exportação do fruto e do suco concentrado. Também se pode comentar o beneficiamento dessa fruta na elaboração de sidra, vinagre, destilado e extração de pectina, onde 30% dessa produção se destina ao mercado de sidra, suco e geleia (RAUPP et al., 2000; RIZZON et al., 2005).

O Chile produz 1,3 milhões de toneladas por ano de maçãs. Cerca de 60% dessa produção é para exportação e o restante é destinado a produção de suco concentrado, sorvetes e produtos desidratados. Estes últimos são originados dos resíduos da produção, como a casca. Estima-se que cerca de 9.000 toneladas de cascas de maçã são geradas por ano como resultado da produção dessa cultura, no Chile (HENRÍQUEZ et al., 2010).

A maçã é fonte de antioxidantes, com suas propriedades bioativas, com reconhecida importância como parte de uma dieta humana equilibrada. É rica em antioxidantes e fibras como a pectina. Produtos alimentícios adicionados com casca da maçã podem contribuir para oferta de produtos alimentares promotores de saúde e com biodisponibilidade de compostos antioxidantes (HENRÍQUEZ et al., 2010).

A matéria sólida produzida do processamento da maçã é, em geral, doada aos pecuaristas para uso como ração complementar ou descartada pela indústria processadora. Alternativas tecnológicas visando à utilização desse descarte sólido produzido vêm despertando o interesse das indústrias de alimentos, pois as perdas com este descarte são diversas: dinheiro, nutrientes potenciais e qualidade do ar nas regiões de processamento, uma vez que o resíduo fermentado possui odor desagradável (RAUPP et al., 2000).

2.1.4.4 Uva (*Vitis vinifera* L)

A videira (*Vitis vinifera* L.) é cultivada desde o início da domesticação de plantas e animais, há cerca de 11.000 anos, na área conhecida como Crescente Fértil do Mediterrâneo oriental. Seu fruto, a uva, é bastante consumido *in natura* e também usado para a fabricação de sucos, vinhos, uvas passas, geleias e doces (ISHIMOTO, 2008).

As videiras estão entre as plantas frutíferas mais cultivadas no mundo. Em produção mundial de frutas, corresponde ao segundo maior cultivo – 66 milhões de toneladas por ano, perdendo apenas para o cultivo de bananas. Cerca de 80% do cultivo de uvas se destina à produção de vinhos cujo consumo representa um hábito humano milenar. No Brasil, as raízes históricas da vitivinicultura são hispano-americanas e datam de aproximadamente 1626, quando um padre jesuíta trouxe cepas de origem espanhola e iniciou a plantação de parreirais no Rio Grande do Sul. Depois, tornou-se expressiva com a introdução de uvas americanas. Hoje a videira também é amplamente cultivada no Nordeste, no vale do Rio São Francisco, onde o controle da irrigação possibilita safras sucessivas durante praticamente todo o ano (ISHIMOTO, 2008).

A uva apresenta compostos antioxidantes como os fenólicos e os taninos, que confere a fruta e ao vinho o sabor adstringente; apresenta também o importante composto antioxidante resveratrol, apontado como responsável pela propriedade dos vinhos de receberem a denominação de “bebida funcional”, quando consumidos com cautela e sem excesso (SCHLEIER, 2004; ISHIMOTO, 2008).

2.1.5 Subprodutos vegetais ricos em antioxidantes

As questões ambientais têm provocado interesse e preocupação crescente aOs diferentes setores da economia mundial uma vez que a taxa de geração desses resíduos supera a de degradação. Os maiores impactos provocados por resíduos sólidos orgânicos são decorrentes da fermentação do material, processo que provoca a formação de ácidos orgânicos, com geração de odores desagradáveis e redução do oxigênio disponível no ambiente atmosférico ou hídrico. Esse cenário atrai vetores de doenças endêmicas à população. O parque industrial de processamento de frutas e hortaliças responde, com participação predominante, pela geração desse descarte, oriundo de sua produção (RODRIGUES, 2010).

As perdas oriundas do processamento de frutas, nas etapas de produção, colheita, embalagem, transporte e pós-colheita, ainda são grandes no Brasil, na ordem de 20 a 50%.

As frutas tropicais apresentam perdas maiores, devido às elevadas temperaturas na colheita, durante o transporte e nas fases pós-colheita, quando inadequados (SILVA; ARAÚJO, 2009).

Diversos alimentos vegetais, ricos em antioxidantes naturais, como a romã, são subutilizados. Estes representam excelentes fontes para aplicações comerciais ainda não exploradas e podem contribuir para reduzir impactos ambientais e perdas econômicas. Nesse contexto, alguns resíduos agroindustriais merecem destaque, como os resíduos vinícolas por serem ricas fontes de compostos fenólicos, com acentuada ação antioxidante e o descarte de partes não comestíveis de frutas (DIMITRIOS, 2006; RUBERTO et al., 2007 citado por MELO, 2010).

As cascas de frutas são subprodutos da indústria de processamento de sucos e são excelentes fontes de antioxidantes. A utilização (reaproveitamento) dessas cascas na forma de extrato pode ser empregada na forma de aditivos alimentícios, como antioxidantes naturais, apresentando efeito sinergista em formulações de diversos alimentos processados.

De fato, cascas de vegetais são mais ricas em compostos bioativos do que sua polpa, como demonstrado por estudos (GUIMARÃES et al., 2010), e, embora sejam consideradas subproduto, são fontes de diversos compostos químicos com atividades biológicas, como a antioxidante, por exemplo.

2.1.6 Sucos e seu enriquecimento

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA define, na Instrução Normativa nº 12, de 4 de setembro de 2003 que: “Suco Tropical é o produto obtido pela dissolução, em água potável, da polpa da fruta polposa de origem tropical, por meio de processo tecnológico adequado, não fermentado, de cor, aroma e sabor característicos da fruta, submetido a tratamento que assegure sua conservação e apresentação até o momento do consumo.” Define, ainda, no item 3 e subitem 3.1.3 que: “A expressão ‘suco pronto para beber’, ou expressões semelhantes, somente poderão ser declaradas no rótulo do Suco Tropical quando adicionado de açúcar (BRASIL, 2003).

O hábito de consumir sucos processados de frutas tem aumentado no Brasil e no mundo, motivado, tanto pela falta de tempo da população em prepará-los com frutas *in natura* quanto pela praticidade oferecida por produtos industrializados. Sucos processados apresentam valor nutritivo mais significativo se comparados às bebidas carbonatadas. No mercado brasileiro, a oferta de bebidas mistas e/ou enriquecidas na forma “pronta para beber” atende um público que busca um produto com características nutricionais padronizadas e que possuam aditivos que representem qualidade alimentar; manutenção e/ou ganho de saúde. O enriquecimento é uma alternativa para atender este nicho de mercado (MATSUURA; ROLIM, 2002 citado por LIMA et al, 2008; SILVA; ARAÚJO, 2009).

O consumo de suco de frutas está associado à reposição de vitaminas como o ácido ascórbico e outros compostos importantes. Além do aspecto nutritivo, os sucos de frutas naturais tornam-se atrativo à dieta por suas características organolépticas, como a variedade de sabor, textura e cor (LIMA et al, 2008).

O consumo de sucos feitos com frutas, *in natura*, contribui para manutenção da saúde, desde que preparados no momento de ingestão. No caso de sucos industrializados, com tempo de vida útil maior comparado aos *in natura*, é imprescindível a manutenção de suas propriedades nutricionais e funcionais, desde que bem acondicionados e armazenados, obedecendo as recomendações do fabricante. Os sucos industrializados que se destacam nesse segmento apresentam baixo valor calórico, pouca adição de açúcar e sódio (SALGADO, 2005).

Gonçalves et al. (2008) comentam que sucos enriquecidos podem representar um meio de suprir necessidades de determinados nutrientes, como o ferro. A ingestão diária de 200 mL de suco de laranja enriquecido com 20 mg de sulfato ferroso por 50 crianças em idade pré-escolar durante 84 dias sugeriu que a prevalência de anemia nessas crianças diminuiu cerca de 20%.

O estudo do enriquecimento de suco pronto pela adição de extrato de cascas de frutas com atividade antioxidante comprovada contribui para a oferta de produtos funcionais e aproxima a pesquisa científica do segmento industrial alimentício. Dessa relação entre comunidades interdependentes, os ganhos são para ambos e também para o consumidor (Guimarães et al., 2010).

2.2 Material e métodos

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Nutrição Humana, do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – ESALQ/USP no período de janeiro a julho de 2011.

2.2.1 Obtenção da matéria-prima

As matérias-prima utilizadas na pesquisa constituíram-se de:

- uvas frescas (*Vitis vinifera* L.), da variedade Niágara, de coloração roxa-escuro provenientes de Jundiaí (SP);
- romãs frescas (*Punica granatum* L.), adquiridas da Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais do Estado de São Paulo (CEAGESP);
- maçãs frescas (*Malus communis* Lamk), adquiridas em mercado de frutas e verduras de Piracicaba (SP);
- buritis frescos (*Mauritia flexuosa* L. f.) adquiridos no comércio popular de Teresina (PI) e
- suco pronto de goiaba, embalagem *tetrapack* contendo 1 L, encontrado no comércio nacional.

2.2.2 Preparo das amostras

As frutas obtidas foram transportadas de modo a manter suas características nutricionais e bioquímicas inalteradas.

As uvas, romãs e maçãs foram mantidas em condições de refrigeração a 4 °C, acondicionadas em caixas de isopor com gelo, desde a origem (Jundiaí, CEAGESP, “Varejão Dois Amigos” – Piracicaba, respectivamente) até o Laboratório de Nutrição Humana da ESALQ/USP em Piracicaba.

Os buritis frescos foram transportados em caixas de isopor lacradas, contendo gelo seco, desde a origem (Teresina - PI), até o Laboratório de Nutrição Humana da ESALQ/USP em Piracicaba.

Todas as frutas, *in natura*, foram selecionadas manualmente, lavadas com água corrente; higienizadas por 15 minutos em solução de hipoclorito de sódio 20 ppm e enxaguadas com água destilada. Com a lavagem fez-se a remoção de sujidades e redução da carga microbiana das frutas.

O processamento foi iniciado com a separação das cascas, feita manualmente, com a ajuda de facas. Em seguida essas cascas foram dispostas em bandejas de aço inox, congeladas, em *ultrafreezer*, à temperatura de -80 °C e após 24 horas, liofilizadas (equipamento Modulyo, EC Apparatus INC.). Seguiu-se a pesagem, a trituração em moinho de facas (equipamento TE-645, Tecnal) e o armazenamento em embalagens plásticas de polietileno sob refrigeração a 4°C. As análises foram realizadas em quadruplicata. Todos os reagentes utilizados foram de grau de pureza para análise (PA).

O rendimento corresponde à proporção entre o peso da amostra (cascas) liofilizada em relação à fresca. A redução de peso da amostra representa sua perda por liofilização. Os valores encontrados estão expressos em porcentagem.

A escolha pela liofilização foi feita por se tratar de um processo que preserva as propriedades nutricionais e bioquímicas dos componentes da amostra liofilizada, uma vez que utiliza o princípio da sublimação da água contida nos alimentos. A liofilização das cascas proporcionou garantia aos resultados encontrados nas análises, com amostras padronizadas e com baixo teor de água livre. Quando análises envolvem atividade antioxidante e métodos que utilizam o binômio radical livre e antioxidante, com reações rápidas e de acentuada instabilidade, a quantidade de água livre nas amostras se torna parâmetro crítico para assegurar confiabilidade nos valores encontrados. Estudo envolvendo frutas cítricas (toranja, limão, lima e laranja) e analisando aspectos como atividade antioxidante utilizou o procedimento de liofilização, enfatizando o exposto (GUIMARÃES et al., 2010). Outrossim, estudos envolvendo análises de atividade antioxidante necessitam de amostras padronizadas e obtidas a temperatura abaixo dos 37 °C, pois muitos dos compostos antioxidantes presentes são termosensíveis e se degradam facilmente na presença de calor.

As amostras liofilizadas das cascas de frutas: buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.), maçã (*Malus communis* Lamk), uva (*Vitis vinifera* L.) e romã (*Punica granatum* L.), utilizadas nas análises desse estudo, foram abreviadas como cascas de buriti (CB), cascas de maçã (CM), cascas de uva (CV) e cascas de romã (CR). As frutas e cascas frescas utilizadas nesse

estudo, bem como as cascas liofilizadas e trituradas podem ser observadas nas Figuras 2, 3 e 4, respectivamente.

Figura 2 – Buritis (A), maçãs (B), romãs (C) e uvas (D) *in natura* usadas no preparo das amostras

Figura 3 – Cascas de buriti (A), maçã (B), romã (C) e uva (D) usadas no preparo das amostras

Figura 4 – Cascas liofilizadas e trituradas de buriti (A), maçã (B), romã (C) e uva (D) usadas no preparo das amostras

2.2.3 Preparo dos extratos

Foi pesado 1 g de cada amostra de cascas liofilizadas. Posteriormente, foi diluído em 20 mL de etanol hidratado a 80%. A extração foi conduzida em mesa agitadora à temperatura ambiente, durante 15 minutos. Após isto, o extrato foi centrifugado a 5000 rpm, em centrífuga modelo NT 825 Novatecnica. Utilizando o sobrenadante, foram realizadas análises do teor de compostos fenólicos totais, da atividade antioxidante pelo sequestro do radical livre pelos métodos DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) e ABTS (2,2-azino-bis-(3etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico) e na obtenção do extrato etanólico usado na preparação do enriquecimento dos sucos prontos. A Figura 5 mostra os extratos diluídos em etanol (sobrenadante diluído), obtidos das 4 cascas estudadas.

Figura 5 – Extratos obtidos (diluídos em etanol) de CB, CM, CV e CR

2.2.4 Análises físico-químicas das cascas

As análises físico-químicas realizadas nas cascas liofilizadas de buriti (CB), maçã (CM), romã (CR) e uva (CV) foram: composição centesimal, minerais, antinutricionais, teor de

compostos fenólicos totais e teor de antioxidantes pelo sequestro de radicais livres utilizando os métodos DPPH e ABTS. Foram realizadas análises de flavonoides e vitamina C nas cascas de romã (CR).

2.2.4.1 Composição centesimal

A determinação de umidade, cinzas, proteína bruta e extrato etéreo foram realizadas segundo metodologia 950.46, descrita pela *Association of official analytical chemists* - AOAC (2005).

2.2.4.2 Carboidratos totais

O teor de carboidratos totais (Tc) foi calculado, em porcentagem, de acordo a Equação 1:

$$Tc = 100 - (U + C + EE + P) \quad (1)$$

Onde U, C, EE e P representam, respectivamente, as porcentagens de umidade, cinzas, extrato etéreo e proteínas.

2.2.5 Minerais

A determinação dos minerais seguiu a metodologia proposta por Sarruge e Haag (1974). Este método utiliza espectrofotômetro de absorção atômica (Perkim Elmer, 3110) com leitura em 248,3 nm para determinação de cálcio, cobre, ferro, fósforo, magnésio, manganês, potássio, zinco, enxofre e sódio. Os valores foram expressos em g kg⁻¹ para macrominerais e em mg kg⁻¹ para microminerais.

2.2.6 Determinação de compostos antinutricionais

2.2.6.1 Taninos

A quantificação de taninos foi segundo a metodologia descrita por Price, Hagerman e Butler (1980). Para a extração foi utilizado 0,6 g de amostra liofilizada das diferentes cascas de frutas em metanol. As leituras foram realizadas em 500 nm com uso de solução 1:1 de vanilina 1% em metanol e HCl 8% em metanol, deixados a 30 °C por 20 minutos. Para a construção da curva padrão foi utilizado catequina e os resultados foram expresso em mg equivalente de catequina por grama de casca liofilizada.

2.2.6.2 Ácido fítico

Para determinação do ácido fítico foi digerido 0,5 g de cada amostra em 10 mL de solução de HCl 0,65 N com agitação. Após, centrifugada a 300 rpm, durante 10 minutos. Em seguida, foram pipetados 2 mL do sobrenadante, os quais foram diluídos em água destilada para 25 mL. Foram pipetados 10 mL da solução, transferindo-a do balão para bureta contendo resina, para que a solução gotejasse a velocidade de uma gota por segundo. Em seguida, foi adicionado 15 mL de solução de NaCl 0,1 M na bureta e, logo após, 15 mL de solução de NaCl 0,7 M e recolhido o eluído em béquer. Alíquotas de 5 mL foram transferidas para tubos de ensaio, e acrescidos de 1 mL de reagente de Wade, sob agitação. A leitura da absorbância foi realizada após 15 minutos em espectrofotômetro em 500 nm. Este procedimento foi realizado segundo metodologia de Grynspan e Cheryan (1989). Os valores foram expressos em mg de equivalentes ao ácido fítico por grama de casca liofilizada.

2.7 Teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante

2.7.1 Teor de compostos fenólicos totais

A análise do teor de compostos fenólicos totais das amostras foi feita por espectrofotometria segundo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu utilizando-se ácido gálico como padrão (SWAIN; HILLIS, 1959).

Uma alíquota de 0,5 g de amostra foi diluída em 50 mL de metanol, colocada em agitação (Mesa agitadora, Metal Sueg Ltda) por 20 minutos e centrifugada por 15 minutos em centrífuga (modelo NT 825 Novatecnica) a 700 rpm, usando-se tubos tipo Falcon de 50 mL, para obtenção dos extratos. Destes, 0,5 mL foi transferido para tubos de ensaio, nos quais foram adicionados 4 mL de água deionizada e 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos foram adicionados 0,5 mL de solução saturada de Na_2CO_3 (1 g de carbonato de sódio em 3,5 mL de água destilada e agitação em banho-maria (CT232, Cientec) por 30 minutos a 37 °C. A leitura da absorbância foi em 660 nm no espectrofotômetro (modelo Unico® 2800 UV/VIS – Interprise Brasil). Os resultados de teor dos compostos fenólicos totais foram expressos em mg de equivalentes ao ácido gálico por grama de casca liofilizada.

2.7.2 Screening de atividade antioxidante das cascas de buriti (CB), maçã (CM), romã (CR) e uva (CV)

2.7.2.1 Determinação pelo método DPPH

As análises de atividade antioxidante das amostras (cascas) foram determinadas pelo método do sequestro do radical livre DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl). Este método se baseia na diminuição da absorbância quando o radical DPPH, de coloração violeta, é reduzido por antioxidantes, tornando o meio reacional amarelo (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

Inicialmente foi obtida a extração das amostras, pesando-se 1 g em 20 mL de etanol hidratado a 80%. Após centrifugação e utilizando o sobrenadante, foram utilizados 0,5 mL dos extratos das diferentes cascas e adicionados 3 mL de etanol P.A. e 0,3 mL de DPPH (solução etanólica a 0,5 mM). Em seguida, as amostras foram agitadas e mantidas por 40 minutos em local escuro, à temperatura ambiente. Posteriormente foi realizada leitura de absorbância em espectrofotômetro (modelo Unico® 2800 UV/VIS – Interprise Brasil) a 517

nm. Os valores foram expressos em mg de equivalente ao Trolox por grama de casca liofilizada.

2.7.2.2 Determinação pelo método ABTS

A atividade antioxidante pelo método ABTS foi feita segundo metodologia descrita pela Embrapa (2007). O radical $ABTS^{\bullet+}$ foi formado pela reação de ABTS 7 mM com perssulfato de potássio 140 mM, incubado à temperatura de 25 °C e no escuro, durante 12 - 16h. Depois de formado, o radical foi diluído com etanol até a obtenção do valor de absorbância de $0,700 \pm 0,200$ a 734 nm. Em ambiente escuro, um volume de 3,0 mL da solução de radical $ABTS^{\bullet+}$ foi acrescentado a 30 μ L de todos os extratos diluídos e as absorbâncias foram lidas após seis minutos em espectrofotômetro (modelo Unico® 2800 UV/VIS – Interprise Brasil) a 734 nm, utilizando etanol 100% como branco. Para a construção da curva padrão foi utilizado o Trolox, um antioxidante sintético análogo à vitamina E, nas concentrações de 100 – 2000 μ M. Os resultados da atividade antioxidante foram expressos em mg de equivalentes ao Trolox por grama de casca liofilizada.

2.8 Estudo complementar a etapa *screening* de atividade antioxidante das cascas de buriti (CB), maçã (CM), romã (CR) e uva (CV)

Após a etapa de análise de atividade antioxidante pelos métodos DPPH/ABTS realizado nas quatro cascas de frutas foi constatado que a CR apresentou resultado relevante comparado com as demais cascas. Logo, a etapa posterior foi avaliar a CR quanto ao teor dos compostos flavonoides e ácido ascórbico, relacionados à expressiva atividade antioxidante encontrada em frutas. As análises realizadas no estudo complementar foram selecionadas por suas características de confiabilidade, reprodutividade e por sua utilização como referência em análises de atividade antioxidante pelos métodos de sequestro de radicais livres DPPH e ABTS (NEVES et al, 2009; YANG et al.; 2010).

2.8.1 Determinação de Flavonoides

A quantificação de flavonoides se fundamenta na formação de quelatos entre o metal alumínio e os flavonoides, principalmente os flavonois (3- hidroxiflavonas) como a quercetina, em soluções alcoólicas, levando a um efeito batocrômico do espectro de absorção dos flavonoides, com alteração de coloração (JURD; GEISSMAN, 1956).

Foram adicionados a duas séries de tubos de ensaio 0,5 mL do extrato da amostra liofilizada de CR (2,5 g de extrato seco em 50 mL de etanol hidratado a 80%) diluído 1:100 em tubos de ensaio. Na série sem o nitrato de alumínio foram pipetados 4,4 mL de etanol mais 0,1 mL de acetato de potássio, enquanto na série contendo o nitrato foram pipetados 4,3 mL de etanol hidratado a 80% acrescido de 0,1 mL de acetato de potássio e 0,1 mL de nitrato de alumínio. O branco foi preparado com 4,9 mL de etanol 80% acrescido de 0,1 mL de acetato de potássio. Após, a amostra de CR em quadruplicata e o branco foram incubados no escuro por 40 minutos e as leituras da absorbância foram realizadas a 415 nm em espectrofotômetro (modelo Unico® 2800 UV/VIS – Interprise Brasil). A quantificação dos resultados foi feita por equivalência com curva padrão construída com base na variação entre as leituras com e sem nitrato de alumínio. Os valores foram expressos em mg de equivalentes à quercetina por grama de casca liofilizada

2.8.2 Determinação de ácido ascórbico

A análise foi realizada segundo o método modificado de Benassi (1988), no qual o indicador 2,6 diclorofenolindofenol é reduzido pelo ácido ascórbico (vitamina C), utilizado como padrão, mudando de incolor para rosa. Foi utilizado 30 mL de ácido oxálico 0,5% e dissolvidos em 1 g de amostra. Em seguida, após homogeneização foi filtrado em papel filtro adicionado de 10 mL de ácido oxálico 0,5%. O filtrado produzido foi transferido para balão volumétrico e seu volume final foi aferido para 50 mL. Após, acondicionado por 15 minutos em geladeira, foi transferido uma aliquota de 10 mL para erlenmeyer. Posteriormente, o volume foi titulado com solução de 2,6 diclorofenolindofenol até coloração rosa claro. A análise foi realizada em quadruplicata e o branco formado por 10 mL de ácido ascórbico,

titulado com indicador 2,6 diclorofenolindofenol. Os valores foram expressos em mg g^{-1} e $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ equivalentes ao ácido ascórbico por grama de casca liofilizada.

2.9 Critérios para enriquecimento de suco pronto

O enriquecimento foi realizado no produto suco pronto comercial de goiaba, em embalagem *tetrapack*, conteúdo de 1 L.

O suco pronto foi enriquecido com extrato etanólico liofilizado de casca de romã (EEL). O enriquecimento com casca de romã foi definido após a etapa *screening* de atividade antioxidante das cascas de buriti (CB), maçã (CM), romã (CR) e uva (CV), quando foi constatado que a casca de romã apresentou o melhor resultado pelos métodos DPPH/ABTS. Após definição pelo uso casca de romã (CR) foi realizada extração, sendo o procedimento: pesou-se 1 g de casca liofilizada de romã. Posteriormente, foi diluída em 20 mL de etanol hidratado a 80%. A extração foi conduzida em mesa agitadora à temperatura ambiente, durante 15 minutos. Após isto, o extrato foi centrifugado a 5000 rpm, em centrífuga (NT 825 Novatecnica), usando-se tubos tipo Falcon de 50 mL. Após obtenção do sobrenadante, foi realizado processo de rotaevaporação para retirada do solvente etanol do extrato utilizando rotaevaporador Fisatom (modelo 550 230 V série 1052465 Brasil) à temperatura de 36 °C e a seguir foi realizada liofilização do extrato concentrado em liofilizador (Modulyo, EC Apparatus INC.) para se obter o EEL de CR para o enriquecimento do suco pronto.

Posteriormente foram adquiridos três diferentes sabores e duas diferentes marcas de suco pronto e foram realizados testes preliminares de solubilidade do extrato, sabor, aroma e cor. Esses pré-testes foram realizados com integrantes do Grupo de Estudos em Alimentos Funcionais (GEAF), no laboratório de Bromatologia e Nutrição Humana da Esalq/USP. O resultado dos pré-testes constatou que o suco pronto comercial de goiaba, embalagem *tetrapack*, conteúdo de 1 L, se apresentou como melhor produto para o enriquecimento com base nas características organolépticas do suco comercial escolhido, como também compatibilidade com a adstringência do EEL-CR.

Após a escolha do suco pronto, foram testadas e selecionadas diferentes concentrações de EEL-CR para o enriquecimento do suco pronto: 0,3; 0,5; 0,7; 1 e 1,5%. Após os testes preliminares ficou definido que os percentuais a serem utilizados seriam de:

0,0% (controle); 0,3; 0,5 e 0,7%. A quantidade de EEL-CR equivalente aos percentuais de 0,3; 0,5 e 0,7% foram de 0,9 g L⁻¹; 1,41 g L⁻¹ e 2,0 g L⁻¹, respectivamente. Essa nova etapa de testes para concentrações foi realizada também com integrantes do GEAF, no laboratório de Bromatologia e Nutrição Humana da Esalq/USP.

A conservação utilizada para o suco pronto e enriquecido foi a refrigeração a 4 °C, enquanto o produto se apresentava lacrado. Os sucos utilizados foram abertos (retirada do lacre) no momento do enriquecimento para análise de atividade antioxidante pelo método DPPH, das análises microbiológicas e no início do processo de avaliação sensorial (4 L, sendo 1 L para cada concentração, incluindo o controle), quando foram enriquecidos e posteriormente oferecidos aos provadores.

2.10 Análises físico-químicas de suco pronto e enriquecido com diferentes concentrações

Foram realizadas análises de cor, pH, °Brix e acidez titulável de suco pronto e enriquecido com as concentrações 0,0% (controle) e 0,7%, conforme itens 2.10.1 a 2.10.3. A escolha das duas concentrações foi definida após o teste de aceitabilidade realizado com o suco pronto enriquecido com EEL-CR nas concentrações 0,0% (controle); 0,3%; 0,5% e 0,7%, que mostrou não haver diferença estatística significativa nos atributos de sabor, aroma e aspecto global nas diferentes concentrações de enriquecimento do suco pronto de goiaba. Assim, as análises foram realizadas com o controle (0,0%) e a maior concentração (0,7%).

2.10.1 Análise de cor

A determinação da cor foi obtida com o auxílio do colorímetro marca Minolta (modelo Chroma meter CR-400 Color Space), por refletância, proposto por Bible e Singha (1999). O índice Chroma (C), expressa a saturação ou intensidade da cor. Os valores de Chroma menores correspondem ao padrão de cor mais fraco (“aspectos fosco do objeto”) e os mais altos ao padrão de cor mais forte (“cores vivas”). O ângulo *Hue* representa a tonalidade de cor da amostra, 0° vermelho, 90° amarelo, 180° verde e 270° azul (RODRIGUES, 2010). Os

resultados foram expressos em ângulo de cor ($^{\circ}h$), de acordo com McGUIRRE (1992). Os resultados referentes ao parâmetro cor foram expressos em cromaticidade (C) (PRADO, 2009). A Figura 6 ilustra, de forma geométrica, a composição de cor por refletância.

Figura 6 – Representação gráfica para análise da cor instrumental
Fonte: RODRIGUES (2010)

2.10.2 Determinação do pH

O valor do pH das amostras foi determinado em aparelho digital da marca comercial Digimed (modelo DMPHI), conforme Pregnotatto e Pregnotatto (1985). As amostras foram analisadas em quadruplicata.

2.10.3 Determinação do $^{\circ}$ Brix e acidez titulável

O teor de sólidos solúveis totais (SST) ou $^{\circ}$ Brix representa a quantidade de substâncias dissolvidas no suco. O teor de sólidos solúveis totais do suco pronto enriquecido foi obtido por leitura direta em refratômetro (marca Atago n.1 0~32 $^{\circ}$ Brix). Os valores encontrados estão expressos em $^{\circ}$ Brix no suco enriquecido (PRADO, 2009).

A acidez titulável compreende o parâmetro para a determinação da qualidade dos alimentos, tendo em vista que o pH influencia diretamente na palatabilidade,

desenvolvimento de microrganismos, temperatura de esterilização, escolha de aditivos empregados, dentre outros (CHAVES et al, 2004).

A acidez titulável foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Pregnotato e Pregnotato (1985). Os valores encontrados estão expressos em porcentagem de ácido cítrico no suco enriquecido.

A relação °Brix/acidez indica o grau de equilíbrio entre o teor de açúcares e ácidos orgânicos e está associada à qualidade do produto (VIÉGAS, 1991; COUCEIRO, 1986).

Valores oriundos da fração °Brix/acidez indicam a combinação entre açúcar e ácido que se correlacionam com sabor (SUGAI et al., 2002). Os valores encontrados estão expressos em °Brix (SST) no suco enriquecido.

2.11 Atividade antioxidante de suco pronto e enriquecido com diferentes concentrações

A atividade antioxidante de suco pronto e enriquecido com diferentes concentrações foi determinada pelo sequestro do radical livre pelo sequestro do radical livre utilizando metodologia segundo Brand-Williams et al. (1995).

Para a preparação das amostras foi utilizado suco pronto de goiaba, de marca comercial, embalagem *tetrapack* contendo 1 L, encontrado no comércio nacional.

As amostras de sucos enriquecidos com concentrações 0,0% (controle); 0,3%; 0,5% e 0,7% foram obtidas da seguinte forma: foram tomadas alíquotas de 1 mL de cada diferente concentração e diluídas em 9 mL de etanol grau analítico (1:10). Após, as amostras foram centrifugadas a 2000 rpm por 10 minutos em centrífuga (modelo TDL80-2B CentriBio). O sobrenadante obtido foi transferido para tubos de ensaio, sendo o extrato a ser utilizado na análise. Em seguida, foram utilizados 0,5 mL do extrato, adicionado 3 mL de etanol PA e 0,3 mL de DPPH (solução etanólica a 0,5 mM). Posteriormente, as amostras foram agitadas e mantidas por 40 minutos em local escuro, à temperatura ambiente. A seguir, foi realizada leitura de absorbância em espectrofotômetro (modelo Unico® 2800 UV/VIS – Interprise Brasil) a 517 nm. Os valores foram expressos em mg de equivalente ao Trolox mL⁻¹ extrato suco enriquecido.

2.12 Análise de estabilidade oxidativa dos sucos pronto e enriquecido

A determinação da estabilidade oxidativa de suco pronto e enriquecido com diferentes concentrações 0,0% (controle); 0,3; 0,5 e 0,7% investigou o comportamento cinético do EEL-CR avaliando sua atividade antioxidante no intervalo de 7 dias. Esta análise visou o estudo do tempo de vida útil do suco pronto e enriquecido com diferentes concentrações pelo método DPPH nesse período. As análises foram realizadas com alternância entre um dia de verificação de atividade antioxidante e um dia sem verificação. Os dias onde houve verificação foram denominados de T_0 (tempo zero), T_1 (tempo um), T_2 (tempo dois) e T_3 (tempo três), ou seja, dia 1, 3, 5 e 7 de armazenamento.

A análise seguiu o procedimento descrito no item 3.9 e os valores estão expressos em mg de equivalente ao Trolox mL^{-1} extrato suco enriquecido. A procedimento foi feito segundo metodologia descrita por Brand-Williams et al. (1995).

2.13 Análises microbiológicas dos sucos pronto e enriquecido

As análises microbiológicas foram realizadas com amostras (triplicatas) de suco pronto e enriquecido com diferentes concentrações (0,0, 0,3, 0,5 e 0,7%), antes do teste de aceitabilidade, para garantir a segurança alimentar dos provadores, requisito exigido pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo. Seguindo as exigências da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), segundo a Resolução RDC nº. 12, de 2 de janeiro de 2001, foi feita a contagem de coliformes a 45 °C e totais e presença de *Salmonella* sp. (ANVISA, 2011).

A análise microbiológica para determinação da presença de *Salmonella* sp. foi determinada de acordo com o seguinte procedimento: foram coletadas amostras de sucos prontos com peso de 45 g. Foram homogeneizadas em 450 mL de caldo lactosado e incubadas 37 °C por 24 horas. Em seguida, 1 mL do caldo foi transferido para 9 mL de caldo tetracionato/iodo iodeto e levado a banho-maria a 45 °C por 6 horas. Após, 1,5 mL da cultura foi transferida para o kit 1-2 Test *Salmonella* da Biocontrol System INC e incubado a 35 °C

por 24 horas. O resultado foi expresso em ausência ou presença em 45 g de suco pronto enriquecido (AOAC, 1995).

A análise microbiológica para contagem de coliformes a 45 °C e totais foi determinada de acordo com o seguinte procedimento: foram tomadas amostras de sucos com peso de 45 g; homogeneizadas em 225 mL de água peptonada 0,1% (H₂O_p) estéril, em *Stomacher*, obtendo-se assim a diluição 10⁻¹. Após, foram feitas outras 4 diluições decimais em tubos, a partir de 1 mL e diluído em 9 mL de água peptonada estéril. A determinação de coliformes a 45 °C foi em série de três tubos da amostra em LSTMUG, onde alíquotas de 1 mL das diluições 10⁻¹ a 10⁻⁵ foram transferidas para tubos com este meio de cultura e incubados a 37 °C por 48 horas. Os possíveis resultados positivos foram indicados pela turvação do meio, formação de gás nos tubos de Durham e fluorescência na luz UV. A confirmação de coliformes totais foi determinada pela transferência de alíquotas de amostras dos tubos que apresentaram turvação para caldo verde brilhante por alça microbiológica e incubadas a 37 °C por 24 horas. A positividade é indicada pela turvação e formação de gás nos tubos de Durham. Os resultados obtidos foram expressos em NMP/g conforme proposto por Downes e Ito (2001).

As análises realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo indicou ausência de *Salmonella*, coliformes a 45 °C e totais nas amostras de suco pronto e enriquecido com diferentes concentrações (0,0, 0,3; 0,5 e 0,7%) analisados, em conformidade com a legislação vigente (ANVISA, 2011).

2.14 Teste de aceitabilidade do suco pronto de goiaba enriquecido com EEL-CR

O teste de aceitabilidade das amostras de suco de goiaba, embalagem *tetrapack* (1 L), enriquecido com diferentes concentrações de EEL-CR foi realizado no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da ESALQ/USP. No teste foi utilizado escala hedônica estruturada de nove pontos (ABNT, 1998), variando de “1” (desgostei extremamente) a “9” (gostei extremamente). Os atributos avaliados foram sabor, aroma e aspecto global. Os provadores também foram questionados quanto à frequência de consumo e intenção de compra dos produtos. As amostras foram avaliadas em uma sessão

(um dia, das 08 às 11 h). Participaram 56 indivíduos não treinados, de ambos os sexos, escolhidos aleatoriamente e que não apresentassem problemas de saúde que interferissem nos órgãos dos sentidos. Cerca de 10 mL de suco de cada uma das formulações (0,0; 0,3; 0,5 e 0,7%) de EEL-CR foram oferecidos aos provadores, em copos plásticos, com números aleatórios de 3 algarismos. Foi servida água para limpeza da boca entre as amostras. As análises foram realizadas em cabines individuais, com luz branca. Para a realização deste teste, a proposta da pesquisa foi submetida à avaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da ESALQ/USP. A ficha de avaliação sensorial de suco utilizada nesse estudo pode ser observada na Figura 7.

FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL DE SUCO				
NOME: _____		Data: 20/06/2011		
Sexo: ()M ()F				
Frequência de consumo de suco:				
() 1 vez por mês;				
() 2 vezes ao mês;				
() 1 vez por semana;				
() 2 vezes por semana;				
() mais de 2 vezes por semana.				
<p>Você está recebendo 04 amostras codificadas de suco. Por favor, avalie, utilizando a escala abaixo, na seguinte ordem, o sabor, o aroma e o aspecto global das amostras de suco. Prove as amostras da esquerda para a direita, lavando a boca com água entre uma amostra e outra.</p>				
9 – gostei extremamente	Nº	Nota	Nota	Nota
8 – gostei muito	Amostra	Sabor	Aroma	Aspecto Global
7 – gostei moderadamente				
6 – gostei ligeiramente	108	_____	_____	_____
5 – nem gostei/nem desgostei				
4 – desgostei ligeiramente	339	_____	_____	_____
3 – desgostei moderadamente				
2 – desgostei muito	550	_____	_____	_____
1 – desgostei extremamente	771	_____	_____	_____
Comentários: _____				
Agora, utilizando a escala abaixo, avalie sua intenção de compra com relação ao produto.				
	Nº	Intenção de		
	Amostra	Compra		
5 – certamente compraria				
4 – provavelmente compraria	108	_____		
3 – talvez comprasse/talvez não comprasse				
2 – provavelmente não compraria	339	_____		
1 – certamente não compraria				
	550	_____		
	771	_____		
<p>Você consumiria esse produto no seu dia a dia?</p> <p>() Sim () Não.</p>				
Motivo: _____				
Comentários (utilize o verso se necessário): _____				

Figura 7 – Ficha utilizada no teste de aceitabilidade suco enriquecido

2.15 Análises Estatísticas

2.15.1 Análise de variância (ANOVA)

Foram verificados os pressupostos da ANOVA por meio da família de transformação ótima de Box-Cox (1964) e o teste de Hartley (1950) foi aplicado para verificar a homogeneidade de variâncias. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, analisados separadamente, ou seja, apenas um fator. Uma vez verificados os pressupostos da ANOVA, aplicou-se o teste F ($p < 0,05$) para verificar possíveis diferenças entre tratamentos. Aplicou-se o teste de Tukey ($p < 0,05$) para as variáveis que apresentaram essa diferença. Os dados foram analisados utilizando-se o programa computacional (SAS/STAT, 2003).

2.15.2 Análise de fatores associados aos componentes principais

Foram verificados os autovalores dos componentes principais (Tabela 11), formados a partir da matriz de correlação de Pearson (Tabela 12). Para a análise de fatores, utilizaram-se dois componentes principais como fatores não rotacionados, por explicarem 100% da variação dos dados. Os dados foram analisados utilizando-se o programa computacional (XLSTAT-PRO, 2010).

2.16 Resultados e discussão

2.16.1 Rendimento das cascas liofilizadas (CB, CM, CR e CV)

A casca de romã (CR) e a casca de maçã (CM) apresentam rendimento acima de 20%, enquanto a casca de uva (CV) e a casca de Buriti (CB) apresentaram rendimento

menor (Tabela 1). Isso denota que a utilização do processo de liofilização para secagem das cascas apresenta uma perda de água acima de 70%.

Tabela 1 – Rendimento (%) e perda liofilização (%) das amostras de cascas de buriti (CB), maçã (CM), romã (CR) e uva (CV)

Amostras	Rendimento (%)	Perda liofilização (%)
CB	11,85	88,15
CM	23,06	76,94
CR	25,96	74,04
CV	15,63	84,37

2.16.2 Composição centesimal das cascas liofilizadas (CB, CM, CR e CV)

As análises realizadas nas cascas de CB, CM, CR e CV mostra que o valor de umidade da casca de buriti foi o mais significativo, 88,79% (Tabela 2), seguido por CV, CM e CR.

O valor mais significativo para cinzas foi da casca de uva (1,02%), seguido CB, CR e CM.

Para extrato etéreo o maior valor foi da CM (1,58%), seguido por CB, CV e CR que não diferiram estatisticamente entre si.

A casca de uva apresentou o maior teor de proteína (4,33%), diferindo estatisticamente dos valores de CR, CB e CM.

Para a análise de carboidratos totais, o valor mais significativo foi da CR (26,30%), seguido por CM, CV e CB estatisticamente diferentes entre si.

Estudo realizado com extrato de polpa e semente de romã encontrou valores para composição centesimal, expressos em porcentagem (BF) referentes à umidade (64 e 38); extrato etéreo (0,24 e 14); proteína (1 e 3); cinzas (2 e 0,86) e carboidratos (32 e 44), respectivamente (JARDINI; MANCINI, 2007). Os valores encontrados nesse estudo se mostraram semelhantes e expressam a coerência das análises realizadas com CR (Tabela 2), enfatizando o aspecto similar de composição centesimal da polpa e casca de romã para umidade, extrato etéreo e carboidratos.

Tabela 2 – Composição centesimal, expressa como percentual, das cascas liofilizadas de Buriti (CB), Maçã (CM), Romã (CR) e Uva (CV)

Amostras	Umidade (%)	Cinzas (%)	Extrato etéreo (%)	Proteína (%)	Carboidratos totais (%)
	**BF	**BF	**BF	*BF	*BF
CB	88,79±0,42 ^a	0,46±0,01 ^c	0,43±0,04 ^b	2,19±0,30 ^c	12,37±0,42 ^d
CM	78,29±0,04 ^c	0,30±0,01 ^d	1,58±0,09 ^a	2,74±0,99 ^{bc}	24,25±0,23 ^b
CR	75,70±0,10 ^d	0,91±0,01 ^b	0,23±0,06 ^c	3,33±0,35 ^b	26,30±0,12 ^a
CV	85,83±0,15 ^b	1,02±0,03 ^a	0,34±0,01 ^{cb}	4,33±0,17 ^a	16,26±0,15 ^c

Percentuais apresentados como média ± desvio padrão

Letras diferentes na vertical indicam diferença significativa entre os tratamentos no nível de 5%

**BF – valor de casca liofilizada e desidratada, expressa como base fresca por conversão de rendimento pós-liofilização

2.16.3 Composição de minerais das cascas liofilizadas (CB, CM, CR e CV)

Para o mineral ferro o estudo das quatro cascas apresentou diferença significativa entre CM e CR (Tabela 3), para o mineral manganês, as cascas foram separadas estatisticamente em dois grupos (CB e CM) e (CR e CV).

Para o mineral potássio, as amostras de CR e CV apresentaram os maiores valores diferindo estatisticamente das demais.

A determinação de minerais no estudo de cascas de frutas (CB, CM, CR e CV) teve como principal objetivo avaliar a correlação desses com a atividade antioxidante investigada. Porém, a importância nutricional oferecida pelos alimentos quanto aos minerais torna-os indispensáveis ao funcionamento do organismo, segundo normas estabelecidas pela ANVISA para valores diários recomendados de ingestão de minerais (BRASIL, 1998).

Tabela 3 – Composição de minerais das cascas liofilizadas de Buriti (CB), Maçã (CM), Romã (CR) e Uva (CV)

Amostras	Minerais (g.kg ⁻¹)				
	P	K	Ca	Mg	S
CB	0,22±0,02b	1,36±0,39b	0,27±0,10b	0,2±0,10a	0,52±0,24ab
CM	0,3±0,11b	2,04±0,26b	0,4±0,13b	0,43±0,15a	0,24±0,04b
CR	0,94±0,18a	9,01±0,82a	1,72±0,08a	0,43±0,06a	0,29±0,12b
CV	1,24±0,18a	8,07±0,39a	0,45±0,09b	0,23±0,06a	0,68±0,12a

Amostras	Minerais (mg.kg ⁻¹)				
	Cu	Fe	Mn	Zn	Na
CB	1,43±1,99b	23,27±8,98ab	33,67±12,89a	0±0,00a	0,19±0,03a
CM	0±0,00b	33,03±6,03a	36,33±11,88a	4,53±4,24a	0,12±0,04ab
CR	0±0,00b	13,77±0,45b	5,8±0,61b	0±0,00a	0,15±0,02ab
CV	13,6±2,77a	26,13±1,92ab	17,6±1,54ab	0±0,00a	0,12±0,01b

Resultados apresentados como média ± desvio padrão

Letras diferentes na vertical indicam diferença significativa entre os tratamentos no nível de 5%

Estudo envolvendo 7 diferentes cascas de frutas: abacate (*Persea americana*), abacaxi (*Ananas cornosus*), banana (*Musa* sp), mamão (*Carica papaya*), maracujá (*Passiflora edulis*), melão (*Cucumis melo*) e tangerina (*Citrus reticulata*), analisou o teor de cálcio, cobre, ferro, sódio, potássio, magnésio e zinco. O mineral que apresentou valor mais alto, expresso em mg 100 g⁻¹ de amostra *in natura* de casca de fruta, foi o potássio, com destaque para casca de melão com valor de aproximadamente 600; seguido pelo cálcio (valor de 479 para cascas de melão) e por fim, com valores entre 78 (melão) à 44 (exceto para casca de maracujá com valor aproximado de 9) para o sódio (GONDIM et al., 2005).

2.16.4 Composição de antinutricionais das cascas liofilizadas (CB, CM, CR e CV)

O valor mais significativo para taninos foi da casca de buriti (CB), em base fresca (17,57), seguido por CR, CM e CV com valores estatisticamente iguais. A CR apresentou o maior valor para ácido fítico dentre as 4 cascas (14,71 mg de equivalentes em catequina por grama de casca liofilizada). As demais cascas apresentaram valores em torno de 1,5 mg (Tabela 4).

Tabela 4 – Compostos antinutricionais das cascas liofilizadas buriti (CB), maçã (CM), romã (CR) e uva (CV)

Amostras	Taninos ¹		Ácido Fítico ²	
	*BS	**BF	*BS	**BF
CB	148,5±7,55a	17,57±0,90a	1,6±0,53b	0,19±0,06b
CM	42±1,73c	9,75±0,41b	1,38±0,60b	0,32±0,14b
CR	38,25±2,87c	9,88±0,71b	14,71±0,73a	3,82±0,19a
CV	55,75±1,89b	8,75±0,32b	1,54±0,33b	0,24±0,05b

¹ expresso mg de equivalentes em catequina por grama de casca liofilizada

² expresso como mg de equivalentes em ácido fítico por grama de casca liofilizada

*BS – valor de amostra liofilizada e desidratada expressa como base seca

**BF – valor de amostra liofilizada e desidratada, expressa como base fresca por conversão de rendimento pós-liofilização

Resultados apresentados como média ± desvio padrão

Letras diferentes na vertical indicam diferença significativa entre os tratamentos no nível de 5%

O suco de romã contém 2 isômeros de punicalagina: taninos hidrolisáveis e ácido elágico. González-Molina et al. (2009) encontraram no suco de romã obtido do fruto completo (polpa, semente e casca) 13 mg mL⁻¹ desses isômeros. Observando-se que o valor encontrado por esses autores se refere a diluição de 1 mg em 100 mL de suco e que os valores encontrados nesse estudo (expressos em mg de equivalentes em catequina por grama de casca liofilizada) foi de aproximadamente 10 mg g⁻¹ (CB, CM e CV) e 18 mg g⁻¹ (CR), em base fresca (Tabela 4), pode-se sugerir que os valores estão condizentes, uma vez que existem diferenças quanto à metodologia e característica da amostra utilizada.

Estudo com diferentes variedades de feijão observou que o conteúdo de taninos encontrado, para variedades consideradas com baixos teores destes, apresentou intervalo de 0,5 até 5,4 (mg equivalentes a catequina g⁻¹ de amostra analisada) (ROSS et al., 2010). Os autores comentam que baixos teores de compostos fenólicos e taninos, associados, expressaram baixa atividade antioxidante nas variedades de feijão estudadas, sugerindo que estes compostos apresentam participação ativa e sigernista (OOMAH et al., 2011).

Estudo de Oomah et al. (2011), envolvendo 13 diferentes variedades de feijão com teor de ácido fítico reduzido, encontrou valores que variaram de 5,9 a 15,1 (g de equivalentes em fitato de sódio kg⁻¹). Observa-se que os valores de CB, CM, CR e CV se encontram acima desses resultados, e a CR ultrapassa, inclusive o teor médio de ácido fítico encontrado em feijões tradicionais, que varia de 8 a 9%. Cabe destacar ainda que as metodologias utilizadas nos estudos diferem quanto ao uso de equipamentos, mantendo-se similar quanto ao procedimento, reagentes utilizados e padrão empregado.

2.16.5 Análise de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante das cascas liofilizadas (CB, CM, CR e CV)

Valores referentes à análise de teor de compostos fenólicos totais apresentou valores de 0,6 a 0,8 para CB, CM e CV; e 9 para CR expressos em mg de equivalentes ao ácido gálico por grama de casca liofilizada (Tabela 5).

Tabela 5 – Teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelos métodos de sequestro de radicais livres DPPH e ABTS

Amostras	Compostos fenólicos ¹		DPPH ²		ABTS ²	
	*BS	**BF	*BS	**BF	*BS	**BF
CB	4,75±0,5b	0,55±0,4b	24±0,0b	2,88±0,03b	62,67±1,53b	16,3±0,41b
CM	3,67±0,58b	0,83±0,08b	18,67±2,52b	4,26±0,63b	30,67±1,15b	8,02±0,30b
CR	36±3,46a	9,35±0,9a	644±27,22a	167,14±7,05a	1219±117,81a	316,46±30,56a
CV	3,25±0,5b	0,51±0,07b	20±2,16b	3,11±0,33b	44±2,65b	11,37±0,62b

¹ expresso em mg de equivalentes ao ácido gálico por grama de casca liofilizada

² expresso em mg de equivalentes ao Trolox por grama de casca liofilizada

*BS – valor de amostra liofilizada e desidratada expressa como base seca

**BF – valor de casca liofilizada e desidratada, expressa como base fresca por conversão de rendimento pós-liofilização

Resultados apresentados como média ± desvio padrão Letras diferentes na vertical indicam diferença significativa entre os tratamentos no nível de 5%

O valor encontrado, para CR foi de 36 mg de equivalentes ao ácido gálico por grama de casca, enquanto que para as demais este valor foi de 4 mg, em média. Segundo Guimarães et al. (2010), valores encontrados para compostos fenólicos em frutas cítricas, foram de 55,88 (casca toranja); 87,77 (casca limão); 124,63 (casca lima) e 79,75 (casca laranja), expressos em mg de equivalentes ao ácido gálico por grama de extrato. Embora os teores de compostos fenólicos encontrados nas cascas analisadas neste trabalho sejam inferiores aos relatados por Guimarães et al. (2010), cabe destacar que há diferenças nas amostras analisadas (cascas e extratos, respectivamente).

De acordo com González-Molina et al. (2009), valores de compostos fenólicos encontrados para suco de romã foram de 243,89 mg de equivalentes ao ácido gálico 100 mL⁻¹, enquanto que, nesse estudo, o valor foi de 9,35 mg g⁻¹ de casca liofilizada. A diferença encontrada pode ser explicada pelo fato de variações ocorridas durante os métodos de extração empregados, solventes utilizados, além de variedade e sazonalidade das amostras

estudadas. Também, os valores foram expressos em BF, o que confere resultados inferiores aos encontrados para BS por González-Molina et al. (2009). Estudos que avaliam a atividade antioxidante, bem como a composição química de frutas podem apresentar discrepâncias de valores, pois esta é influenciada pelos aspectos ambientais, maturação e variedade da fruta, teor de lipídios, uso do solvente e modo de extração empregado (MUNIZ, 2007).

Com relação à atividade antioxidante, os valores encontrados, por meio do método de sequestro de radicais livres DPPH, para CB, CM e CV foram, em média, 20 mg de equivalentes ao Trolox g^{-1} de casca, não apresentando diferença significativa entre si. A atividade antioxidante encontrada para a CR foi trinta vezes maior do que para as demais cascas (considerando os resultados para base seca). No método ABTS, esta tendência se manteve, pois a CR demonstrou alta atividade antioxidante (1219 mg de equivalentes ao Trolox g^{-1} CR), diferindo estatisticamente das demais (Tabela 5).

A elevada atividade antioxidante de casca de romã também já foi reportada por Fisher et al. (2011). Segundo esses autores, esta atividade, medida pelos métodos ABTS e FRAP correlacionam-se com o conteúdo de fenólicos totais presentes na amostra, tendência também observada neste trabalho. Ainda verificaram que a atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos totais da casca de romã foram maiores do que as de seu suco, demonstrando que, assim como grande parte dos vegetais consumidos, a fração vegetal de maior bioatividade é descartada durante o consumo.

Além disso, Fisher et al. (2011) identificaram quarenta e oito compostos fenólicos, por HPLC-MS, dentre esses, cinco novos compostos foram reportados pela primeira vez em romã (cianidina–pentose–hexose, ácido valoneico bilactona, ácido carboxílico brevifolina, ácido vanílico 4-glicosídeo e dihidrokaempferol-hexose). Segundo Çam e Hişil (2010), os polifenóis predominantes em casca de romã são taninos hidrolisáveis (262,7 mg g^{-1} de equivalentes em ácido tânico), dentre os quais, destaca-se a punicalagina, sugerindo que este composto seja o principal composto bioativo presente em romã.

Para fins de comparação, a atividade antioxidante de CR deste trabalho mostrou-se superior à encontrada para a fruta noni (*Morinda citrifolia* L.), amplamente reconhecida por suas propriedades antioxidantes, em estudo feito por Yang et al. (2010). Isso demonstra o alto potencial bioativo da casca de romã. Os resultados obtidos para CR também foram

superiores aos encontrados por Neves et al. (2009), com amostras de pólen apícola de *Apis mellifera*.

Os valores para compostos fenólicos, expressos em mg de equivalentes ao ácido gálico g⁻¹, encontrados por Neves et al. (2009) ficaram entre 7 e 14. Os autores consideraram os valores encontrados nas amostras como maiores ou menores, porém com significância para se considerar alta atividade antioxidante e alto teor de compostos fenólicos, podendo, as amostras, serem consideradas como fonte de substâncias polifenólicas, como flavonoides, com atividade antioxidante, contribuindo para a saúde humana. O estudo das cascas de CB, CM, CR e CV mostra valores, expressos em mg de equivalentes ao ácido gálico por grama de casca liofilizada, entre 3 e 4 (CB, CM e CV) e 36 para CR, para os compostos fenólicos em base seca (BS). Os valores referentes à atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres DPPH, expressos em mg de equivalentes ao Trolox por grama de casca liofilizada mostram valores entre 19 e 24 (CB, CM e CV) e 644 para CR, todos em base seca (BS).

Diante dos resultados obtidos nesta etapa de análises, a CR foi selecionada para o enriquecimento de suco pronto em função de seu elevado poder antioxidante. Assim, sua composição bioativa foi melhor investigada pela quantificação do teor de flavonoides totais e vitamina C.

2.16.6 Teor de flavonoides e vitamina C das cascas liofilizadas de romã (CR)

No estudo da CR o valor encontrado, expresso em mg de equivalentes a quercetina por grama de casca liofilizada (BF) foi de 5,85 (Tabela 6). De acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos, TACO (UNICAMP, 2006), os valores para vitamina C encontrados para pitanga (crua), romã (crua), tamarindo (cru), tangerina poncã (crua), umbu (cru) e uva rubi (crua), expressos em mg por 100 gramas foram de aproximadamente 25, 8, 7, 49, 24 e 2, respectivamente. Quando comparado este valor (Tabela 6) com os valores citados (TACO), observa-se que a romã se encontra no grupo de frutas com baixo teor de vitamina C.

Tabela 6 – Teor de flavonoides e vitamina C da casca de romã

Amostra	Flavonoides	Vitamina C
	**BF (mg/g) ¹	**BF (mg/g) ²
CR	5,85±0,02	0,21±0,01

¹ expresso em mg de equivalentes a quercetina por grama de casca liofilizada

² expresso em mg de equivalentes ao ácido ascórbico por grama de casca liofilizada

**BF – valor de amostra liofilizada e desidratada, expressa como base fresca por conversão de rendimento pós-liofilização

Resultados apresentados como média ± desvio padrão

González-Molina et al. (2009), não encontraram teor de vitamina C significativo para suco de romã, com valor inferior a 6 mg de ácido dihidroascórbico (DHAA) 100 mL⁻¹, quando comparado ao encontrado no suco de limão (36,14 mg 100 mL⁻¹), fruta conhecida popularmente e cientificamente pelo seu alto teor de vitamina C. Logo, a consideração dos autores quanto ao valor não significativo para teor de vitamina C em suco de romã precisa ser contextualizada considerando este aspecto atribuído ao limão (DEL RÍO et al., 2004; GONZÁLEZ-MOLINA et al., 2008). A metodologia de quantificação de vitamina C utilizada pelos autores foi segundo Jurd (1972).

Estudo de Guimarães et al. (2010), feito com frutas cítricas, avaliou o teor de ácido ascórbico das cascas (fração polar) de toranja, limão, lima e laranja, encontrando valores de 0,823; 0,938; 1,780 e 0,767 mg de equivalentes ao ácido ascórbico g⁻¹ de extrato, respectivamente. Os autores utilizaram metodologia diferente da usada nesse estudo. Contudo, a CR apresentou resultado inferior aos encontrados nas frutas cítricas, demonstrando que não é uma rica fonte de vitamina C, portanto, esse composto não contribuiu significativamente para a expressão da atividade antioxidante da CR.

Com relação à flavonoides, Guimarães et al. (2010) encontraram valores em casca (fração polar) de toranja, limão, lima e laranja, expressos em mg de equivalentes a catequina g⁻¹ do extrato, de 2,29; 15,96; 13,61 e 3,97, respectivamente. A metodologia para determinação de flavonoides foi segundo Jia et al. (1999), com modificações.

O valor encontrado nesse estudo para o teor de flavonoides, expresso em mg de equivalentes a quercetina por grama de casca liofilizada, foi de 5,85 (Tabela 6), mostrando que este resultado é superior ao encontrado por Guimarães et al. (2010) para a laranja. É imprescindível citar que esta comparação reflete aspectos particulares encontrados em cada

estudo, como uso de diferentes metodologias, o que inclui uso de processos analíticos e equipamentos distintos.

Estudo do teor de flavonoides totais presente em amostras de pólen apícola de *Apis mellifera* mostrou valores, expressos em mg de quercetina g⁻¹, entre 3 e 7, para amostras de diferentes estados brasileiros. A metodologia utilizada foi do nitrato de alumínio, segundo Park et al. (1998), com modificações. O estudo considerou valores para teor de flavonoides entre 3 e 4 como baixos, valor de 4,68 não significativo e valor de 6,87 como maior valor encontrado nas amostras estudadas. Foi observado que os flavonoides contribuem para a alta atividade antioxidante das amostras, porém, em menor escala, sendo necessário investigar demais compostos antioxidantes responsáveis por esta atividade, como outros compostos fenólicos presentes nas amostras estudadas. O estudo do teor de flavonoides em CR mostrou valor próximo aos encontrados por Neves et al. (2009) (Tabela 6).

Ao comparar a CR com a própolis vermelha, referencial em alto teor de flavonoides, (43 mg de equivalentes a quercetina g⁻¹), conforme estudo feito por Alencar et al. (2007), verifica-se que a CR possui baixo teor desta classe de compostos químicos. Diante da análise dos resultados, três hipóteses podem ser sugeridas: que os flavonoides presentes em CR não participam de forma significativa na expressão da atividade antioxidante desta; que não haja relação diretamente proporcional entre teor de flavonoides e atividade antioxidante; e que possa haver sinergismos entre diversas classes de compostos químicos, dentre eles, os flavonoides, para a expressão da atividade antioxidante de CR.

2.16.7 Análise da atividade antioxidante do suco pronto enriquecido com EEL-CR

O enriquecimento do suco pronto de goiaba de marca comercial, embalagem *tetrapack* (1L) com EEL-CR promoveu o aumento da atividade antioxidante ao passo em que se aumentou a concentração dos extratos de CR no suco (Tabela 7). A menor concentração testada (0,3%), entretanto, não apresentou atividade antioxidante estatisticamente diferente à do controle (0%). Isso indica que, para o enriquecimento de suco de goiaba com propriedades antioxidantes, concentrações acima de 0,3% de EEL-CR devem ser utilizadas.

Tabela 7 – Atividade antioxidante, no tempo zero, pelo método de seqüestro do radical livre DPPH, do suco pronto de goiaba enriquecido com diferentes concentrações do EEL-CR

Concentração do EEL-CR (%)	Atividade antioxidante mg eq ao Trolox mL ⁻¹ extrato suco enriq
0,00	0,02±0,01c
0,30	0,29±0,00c
0,50	1,85±0,08b
0,70	2,28±0,11a

Resultados apresentados como média ± desvio padrão

Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ao nível de 5%

Estudo realizado em suco de romã constatou que a delphinidina foi o composto encontrado em maior quantidade, dentre as antocianinas encontradas. O estudo sugere ainda que este composto contribui de forma mais relevante para os efeitos de inibição da peroxidação lipídica *in vivo* (NODA et al, 2002)..

O enriquecimento de alimentos, como os sucos, é amplamente citado (NODA et al. (2002). Estudo com enriquecimento de suco de laranja com cálcio em diferentes formulações avaliou parâmetros físico-químicos e aceitabilidade do mesmo. Foram desenvolvidas 5 diferentes formulações de suco enriquecido com cálcio e realizado teste de aceitabilidade. O estudo constatou que o enriquecimento de suco de laranja se mostrou viável, sendo um produto pronto, com valor nutritivo e que atende consumidores conscientes da importância de manter a saúde por meio de uma alimentação saudável (BARBOZA et al., 2003).

Assim, análises de estabilidade oxidativa e teste de aceitabilidade foram realizados com a finalidade de eleger a concentração ideal de enriquecimento do suco pronto.

2.16.8 Análise da estabilidade oxidativa do suco de goiaba enriquecido com EEL-CR

A atividade antioxidante do suco pronto de goiaba de marca comercial, embalagem *tetrapack* (1L) enriquecido com EEL-CR em diferentes concentrações de EEL-CR foi avaliada durante uma semana, com alternância entre um dia de verificação de atividade antioxidante e um dia sem verificação, por meio do método de seqüestro de radicais livres DPPH. Esse

intervalo de tempo foi escolhido levando-se em consideração a média de tempo de consumo do produto, armazenado sob refrigeração.

A partir dos resultados obtidos foi possível observar que não houve decréscimo da atividade antioxidante no intervalo de tempo estudado, havendo diferença estatisticamente significativa entre as concentrações de enriquecimento, com exceção de 0,3 e 0% (Figura 8).

Figura 8 – Estabilidade oxidativa dos sucos prontos enriquecidos com EEL-CR, pelo método do sequestro do radical livre DPPH. Resultados apresentados como média $\pm$ desvio padrão
Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ao nível de 5%

A análise da estabilidade oxidativa é importante, pois muitos dos compostos químicos com propriedades antioxidantes são facilmente degradados sob condições de luz, calor, presença de certos metais, o que pode comprometer a funcionalidade antioxidante do enriquecimento do produto ao longo do tempo.

Sob condição de estocagem por período de setenta dias, a temperatura ambiente e ausência de luz, tanto a atividade antioxidante quanto os teores de flavanonas e flavonas de

suco de limão com suco de romã, em diferentes proporções, apresentaram decréscimo expressivo no decorrer de quatorze dias de armazenamento, conforme observou Gonzáles-Molina et al. (2009) em seu estudo. Além disso, eles constataram que enquanto os teores de isômeros de punicalagina dos sucos diminuíam com o passar dos dias, havia um aumento de ácido elágico, o que pode explicar a manutenção da atividade antioxidante ao final do período de estocagem. Essa cinética química não pôde ser observada neste estudo já que o intervalo de tempo analisado foi curto.

Outra questão importante quanto à estabilidade oxidativa do suco enriquecido diz respeito à termoestabilidade de compostos antioxidantes. Estudo utilizando a polpa da romã como extrato identificou a enzima chitinase (endochitinase ácida, classe III), que é termoestável quanto a pH e temperatura (entre 3 a 9, à 65 °C), com propriedades para ser empregada em processos industriais e biotecnológicos (KOPPARAPU et al., 2011).

Assim, o enriquecimento do suco pronto com EEL-CR promoveu aumento e manutenção da atividade antioxidante durante o período observado. Além disso, a romã apresenta termoestabilidade, o que a torna passível de aplicação tecnológica com emprego de tratamento térmico segundo estudo de Kopparapu et al. (2011).

Dessa forma, prosseguiu-se o estudo com a aplicação do teste de aceitabilidade para avaliar as características sensoriais do suco enriquecido.

2.16.9 Teste de aceitabilidade do suco pronto sabor goiaba enriquecido com EEL-CR

Não foi verificado efeito significativo ($p > 0,05$) da adição de EEL de CR em suco pronto de goiaba de marca comercial, embalagem *tetrapack* (1L), sob os três atributos avaliados (sabor, aroma e aspecto global) e sob a intenção de compra do produto (Tabela 8).

Tabela 8 – Média ($\pm$ desvio padrão) dos atributos sabor, aroma, aspecto global e intenção de compra de suco de goiaba enriquecido com EEL de CR

Concentração EEL de CR (%)	Sabor	Aroma	Aspecto Global	Intenção de Compra
0	7,46 $\pm$ 1,56a	7,80 $\pm$ 1,08a	7,60 $\pm$ 1,27a	4,16 $\pm$ 1,15a
0,3	7,51 $\pm$ 1,29a	7,55 $\pm$ 1,30a	7,35 $\pm$ 1,55a	4,13 $\pm$ 0,98a
0,5	7,33 $\pm$ 1,45a	7,40 $\pm$ 1,47a	7,45 $\pm$ 1,46a	4,00 $\pm$ 0,98a
0,7	7,38 $\pm$ 1,48a	7,66 $\pm$ 1,27a	7,58 $\pm$ 1,18a	4,11 $\pm$ 1,47a

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

A adição dos extratos nas 3 concentrações analisadas não promoveu redução na aceitação do produto em relação ao atributo sabor. Verificou-se que as médias dos quatro tratamentos apresentaram valores dentro do intervalo de 7 (gostei moderadamente) a 8 (gostei muito), indicando ótima aceitação dos provadores. Além disso, o tratamento com adição de 0,3% de EEL de CR apresentou média de 7,51, valor superior ao verificado no tratamento controle (sem adição de extrato). Dessa forma, apesar da CR apresentar, nesse estudo, teor de taninos de 9,88 mg de equivalentes em catequina por grama de casca liofilizada (BF), os quais são conhecidos pelo sabor adstringente, causado pela precipitação das proteínas presentes na saliva e sensação bucal de “amarração” resultante da ação dos compostos fenólicos e taninos (WOLLGAST; ANKLAN, 2000; OSAWA et al., 2008; FETROW; AVILA, 2000), a adição do EEL de CR em suco pronto de goiaba apresentou resultados satisfatórios, não afetando o sabor do produto.

Em relação ao atributo aroma e ao aspecto global, novamente os provadores não verificaram diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos com adição do EEL de CR e o controle. Dentre as amostras com adição do extrato, o tratamento com a maior concentração (0,7%) apresentou a maior média (7,66 para o atributo aroma e 7,58 para o aspecto global). O suco pronto de goiaba enriquecido mostrou boa aceitação por parte dos consumidores, apresentando notas médias superiores a 7 (gostei moderadamente) em todos os tratamentos. Quando questionados sobre a intenção de compra do produto, as médias dos tratamentos apresentaram-se entre os termos “provavelmente compraria” e “certamente compraria”, o que corrobora com a boa aceitação verificada nos atributos sabor e aroma.

Os resultados do teste de aceitabilidade indicaram que o enriquecimento de suco pronto de goiaba com EEL de CR não afetou os parâmetros sensoriais do produto quando comparados a uma amostra controle (sem adição de EEL de CR), sendo viável, do ponto de vista sensorial, sua aplicação como fonte de antioxidantes (Tabela 8).

Não foram encontrados na literatura trabalhos com aplicação de extrato de casca de romã em suco para efeito de comparação.

Estudo de González-Barrio et al. (2009) avaliou a adição de resveratrol em suco de uva e, por meio de análise sensorial utilizando teste triangular com painel treinado, não verificou diferenças significativas entre sucos convencionais e enriquecidos em nenhum dos parâmetros avaliados (aspecto, cor e *flavor*). Celiktas, Isleten e Vardar-Sukan (2000),

estudando três diferentes extratos de casca de pinheiro como fonte de antioxidantes em suco de laranja e verificaram, por realização de teste sensorial de aceitação, que a adição dos extratos não apresentou efeito significativo quanto aos parâmetros de cor, aroma e *flavor* em relação ao controle (sem adição de extrato), corroborando com os resultados observados no presente estudo.

2.16.10 Análises físico-químicas de suco pronto e enriquecido (controle e 0,7%)

2.16.10.1 Análise de pH, Sólidos Solúveis Totais (SST) e Acidez Titulável (ATT) de suco pronto e enriquecido (controle e 0,7%)

As análises de pH realizadas nas amostras de suco controle (0%) e enriquecido (0,7%) mostram que não houve alteração significativa entre as mesmas ($p < 0,05$) (Tabela 9). O pH expressa a percepção sensorial do parâmetro de acidez do suco, expressando a atividade dos íons hidrogênio efetivamente dissociados na solução analisada. Para a análise de alimentos, esta atividade é considerada igual à concentração de H^+ (PRADO, 2009).

Tabela 9 – Média ($\pm$ desvio padrão) de pH, °Brix (SST), Acidez titulável de suco de goiaba enriquecido com EEL de CR

Concentração EEL de CR (%)	pH	SST ¹	Acidez titulável (ATT) ²
0	3,53+0,02a	11,9+0b	0,32+0,02a
0,7	3,44+0,13a	12,1+0a	0,33+0,0a

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

² expresso em °Brix

³ expresso em % de ácido cítrico

Quanto ao parâmetro Sólidos Solúveis Totais (SST), expresso em °Brix, que representa os compostos solúveis em água, a amostra controle (0%) apresentou diferença significativa da amostra enriquecida (0,7%), demonstrando que o enriquecimento contribuiu para aumento do teor de SST, o que expressa coerência pois o EEL-CR é um concentrado que foi adicionado ao suco pronto de goiaba.

A Acidez Titulável (ATT) das amostras controle (0%) e enriquecida (0,7%) não apresentaram diferença significativa, expressando resultados similares quanto ao teor de

ácidos orgânicos presentes no suco, uma vez que este parâmetro representa o quanto de ácidos orgânicos possui uma fruta e o quanto este pode variar de acordo com o estágio de maturação, sazonalidade, variedade da fruta, por exemplo (PRADO, 2009).

Estudo de polpa de frutas tropicais (abacaxi, acerola, manga, maracujá, melão, goiaba e pitanga) encontrou valores no intervalo de 3 a 6 para pH, sendo de 4 para polpa de goiaba; de 5 a 14 para SST (°Brix), sendo de 8 para goiaba; e de 0,1 a 5 para ATT (% ácido cítrico), sendo de 0,8 para goiaba (PRADO, 2009). Estudo de suco de limão e romã, puros e misturados em diferentes proporções, mostrou valores de 3,6 para pH; 0,34 para ATT e de 17 para SST, para suco puro de romã. Na mistura de proporção 50:50 para limão e romã, os valores foram de 2,62 para pH; de 2,82 para ATT e de 13,09 para SST. Enquanto que no suco puro de limão os valores encontrados foram de 2,45 para pH; de 5,4 para ATT e de 8,22 para SST (GONZÁLEZ-MOLINA et al. 2009).

Assim, os valores encontrados na Tabela 9 se apresentam similares aos encontrados na literatura.

2.16.10.2 Análise de Cor de suco pronto e enriquecido (controle e 0,7%)

Os valores *referentes* à leitura de cor das amostras de suco pronto, controle (0%) e enriquecido (0,7%), mostram que houve alteração significativa no parâmetro ângulo *Hue* (Tabela 10), cor dos sucos, que ficaram próximo ao vermelho (0° corresponde à cor vermelha e a partir de 90° corresponde ao amarelo), com o suco enriquecido apresentando valor para vermelho “mais forte”.

A cromaticidade ou croma (C) mede a intensidade da cor do composto analisado. Este parâmetro mostrou que os valores para suco controle (0%) e enriquecido (0,7%) não apresentaram diferença significativa (Tabela 10). A Figura 9 mostra as duas amostras: suco controle e enriquecido (0,7%).

Tabela 10 – Média ($\pm$ desvio padrão) referentes aos parâmetros de coloração de suco de goiaba enriquecido com EEL de CR

Concentração EEL de CR (%)	$^{\circ}h^1$	C^2
0	54,80 $\pm$ 0,24b	14,62 $\pm$ 0,33a
0,7	55,62 $\pm$ 0,30a	14,35 $\pm$ 0,23a

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

1 $^{\circ}h$ se refere ao parâmetro ângulo *Hue*

2 C se refere ao parâmetro cromaticidade ou croma

Figura 9 – Suco pronto controle (0%) e enriquecido (0,7%) com ELL de CR

2.16.11 Análise de fatores associados aos componentes principais

A análise de fatores associados aos componentes principais foi construída com o conjunto de valores referente às análises de casca de romã, pois esta apresentou relevância nas análises de atividade antioxidante, objetivo principal desse estudo para enriquecimento de suco pronto e que veio a ser objeto de continuidade das demais análises (análises do estudo complementar ao *screening* e do enriquecimento de suco pronto).

As variáveis físico-químicas analisadas na CR estão bem correlacionadas, tornando-se difícil compreender sua variação de forma isolada. Assim sendo, é necessário descobrir como e o quanto estas variáveis se encontram correlacionadas, para poder aplicar técnicas multivariadas.

Explorando as relações mútuas significativas entre as variáveis físico-químicas na matriz de correlação de Pearson (Tabela 11), é possível verificar que algumas características são influenciadas por diversas variáveis. Pode-se, por exemplo, apontar que a variável DPPH é fortemente influenciada pelas variáveis: cinzas (**1,000**), compostos fenólicos totais (0,999), flavonoides (**-0,999**), vitamina C (**0,987**), e os minerais potássio (**-1,000**), cálcio (**-0,985**) e magnésio (**-0,987**). A variável ABTS é fortemente influenciada pelas variáveis: proteína (**-0,992**), extrato etéreo (**0,982**), taninos (**-0,998**) e ácido fítico (**0,996**).

Mesmo conhecendo as variáveis que participam significativamente em um componente, necessitamos de ferramentas que ajudem a identificar com clareza o que realmente está contribuindo para o resultado. Neste contexto, a análise de fatores associados aos componentes principais é de suma importância para elucidar as variáveis que explicam grande parte da variação dos dados (Tabela 12). Dessa forma, a referida análise apontou dois componentes como fatores não rotacionados e que explicam 100% da variação dos dados.

O Fator 1 apresenta cargas negativas altas para: DPPH, ABTS, compostos fenólicos totais, vitamina C e ácido fítico e cargas positivas altas para flavonoides e taninos. Dessa forma se pode sugerir que o Fator 1 representa “Composto Antioxidante” e se relaciona com a determinação de atividade antioxidante.

O Fator 2 apresenta cargas positivas altas para umidade e os minerais P, S, e Mn e cargas negativas altas para carboidratos e os minerais Fe e Na. O Fator 2 representa “Grupo OH” e se relaciona com a determinação de composição centesimal.

Estudo de Yang et al. (2010), demonstrou que na análise da correlação de Pearson vitamina C se correlaciona com capacidade antioxidante determinada pelo método do sequestro do radical livre DPPH. Assim, os autores constatarem que essa metodologia pode ser considerada sensível para amostras ou compostos ricos em vitamina C.

Tabela 11 - Matriz de correlação (coeficiente de correlação de Pearson) para os parâmetros físico-químicos analisados na CR: UMI (umidade), CIN (cinzas), PROT (proteína), EE (extrato etéreo), CARB (carboidratos totais), DPPH, ABTS, CFE (compostos fenólicos), FLV (flavonoides), VITC (vitamina C), TAN (taninos), ACFT (ácido fítico), P (Fósforo), K (Potássio), Ca (Cálcio), Mg (Magnésio), S (Enxofre), Fe (Ferro), Mn (Mangânês) e Na (Sódio)

	UMI	CIN	PROT	EE	CARB	DPPH	ABTS	CFE	FLV	VITC	TAN	ACFT	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Mn	Na
UMI	1,000																			
CIN	-0,108	1,000																		
PROT	-0,678	-0,657	1,000																	
EE	0,723	0,609	-0,998	1,000																
CARB	-0,969	-0,140	0,838	-0,871	1,000															
DPPH	-0,139	1,000	-0,633	0,584	-0,109	1,000														
ABTS	0,581	0,747	-0,992	0,982	-0,763	0,725	1,000													
CFE	-0,193	0,996	-0,590	0,539	-0,055	0,999	0,687	1,000												
FLV	0,172	-0,998	0,607	-0,556	0,075	-0,999	-0,702	-1,000	1,000											
VITC	-0,297	0,981	-0,500	0,445	0,053	0,987	0,605	0,994	-0,992	1,000										
TAN	-0,626	-0,707	0,998	-0,991	0,799	-0,685	-0,998	-0,645	0,660	-0,559	1,000									
ACFT	0,655	0,680	-1,000	0,996	-0,821	0,657	0,996	0,615	-0,632	0,527	-0,999	1,000								
P	0,901	-0,529	-0,292	0,351	-0,766	-0,555	0,170	-0,599	0,583	-0,682	-0,226	0,262	1,000							
K	0,142	-0,999	0,631	-0,581	0,106	-1,000	-0,724	-0,999	1,000	-0,987	0,683	-0,655	0,557	1,000						
Ca	-0,032	-0,990	0,756	-0,714	0,277	-0,985	-0,832	-0,975	0,979	-0,945	0,799	-0,776	0,405	0,985	1,000					
Mg	0,297	-0,981	0,500	-0,445	-0,053	-0,987	-0,605	-0,994	0,992	-1,000	0,559	-0,527	0,682	0,987	0,945	1,000				
S	1,000	-0,112	-0,676	0,721	-0,968	-0,143	0,578	-0,196	0,176	-0,300	-0,623	0,652	0,902	0,145	-0,028	0,300	1,000			
Fe	-0,934	-0,254	0,896	-0,922	0,993	-0,224	-0,833	-0,171	0,191	-0,064	0,863	-0,882	-0,686	0,222	0,387	0,064	-0,933	1,000		
Mn	0,990	-0,246	-0,569	0,620	-0,926	-0,276	0,462	-0,327	0,308	-0,427	-0,511	0,543	0,953	0,278	0,108	0,427	0,991	-0,875	1,000	
Na	-0,850	0,616	0,189	-0,250	0,694	0,640	-0,064	0,681	-0,666	0,756	0,121	-0,158	-0,994	-0,642	-0,500	-0,756	-0,851	0,605	-0,915	1,000

Nota: Os coeficientes de correlação ($p < 0,05$) encontram-se em negrito

Tabela 12 – Autovetores calculados para amostras de CR, analisados com base em suas características físico-químicas: UMI (umidade), CIN (cinzas), PROT (proteína), EE (extrato etéreo), CARB (carboidratos totais), DPPH, ABTS, CFE (compostos fenólicos), FLV (flavonoides), VITC (vitamina C), TAN (taninos), ACFIT (ácido fítico), P (Fósforo), K (Potássio), Ca (Cálcio), Mg (Magnésio), S (Enxofre), Fe (Ferro), Mn (Manganês) e Na (Sódio)

Característica analisada	Fator 1	Fator 2
UMI	-0,081	0,329
CIN	-0,274	-0,129
PROT	0,264	-0,154
EE	-0,255	0,173
CARB	0,148	-0,296
DPPH	-0,270	-0,138
ABTS	-0,278	0,115
CFE	-0,263	-0,155
FLV	0,266	0,149
VITC	-0,247	-0,187
TAN	0,272	-0,133
ACFT	-0,268	0,145
P	0,051	0,337
K	0,270	0,139
Ca	0,287	0,083
Mg	0,247	0,187
S	-0,080	0,329
Fe	0,177	-0,274
Mn	-0,040	0,339
Na	-0,081	-0,329

3 CONCLUSÕES

Casca de romã teve maior rendimento, teor significativo de ácido fítico e os maiores valores para compostos fenólicos e atividade antioxidante.

Casca de romã apresenta baixo teor de flavonoides e vitamina C.

Maior teor de taninos observado na casca de buriti.

Suco enriquecido com extrato de casca de romã mostra aumento de atividade antioxidante e estabilidade oxidativa.

O enriquecimento do suco pronto de goiaba não altera o produto final em nenhum aspecto avaliado pela análise sensorial.

O suco pronto enriquecido não teve alteração quanto ao pH e acidez titulável.

Houve alteração quanto aos sólidos solúveis totais.

O suco enriquecido apresenta alteração insignificante (parâmetro croma), mas não há alteração no parâmetro intensidade de cor (ângulo *Hue*).

Do ponto de vista tecnológico, é viável o enriquecimento de suco pronto com extrato de casca de romã, caracterizando uma inovação tecnológica.

REFERÊNCIAS

ALENCAR, S.M.; OLDONI, T.L.C.; CASTRO, M.L.; CABRAL, I.S.R.; COSTA-NETO, C.M.; CURY, J.A.; ROSALEN, P.L.; IKEGAKI, M. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: Red propolis. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 113, p. 278-283, Jun. 2007.

AMAROWICZ, R.; PEGG, R.B.; RAHIMI-MOGHADDAM, P.; BARL, B.; WEIL, J.A. Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. **Food Chemistry**, Barking, v. 84, p. 551–562, 2004.

ANEKONDA, T.S.; WADSWORTH, T.L.; SABIN, R.; FRAHLER, K.; HARRIS, C.; PETRIKO, B.; RALLE, M.; WOLTJER, R.; QUINN, J.F. Phytic acid as a potential treatment for alzheimer's pathology: evidence from animal and in vitro models, **Journal of Alzheimer's Disease**, Cleveland, v. 23, n. 1, p. 21-35, 2011.

ANVISA (2011). Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução no. 12, de 02 de janeiro de 2001**. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm; Acesso em: 29 maio 2011.

AOAC. Association of official analytical chemists. **Official methods of analysis**. 18th ed. Gaithersburg, 2005.

AOAC. Association of official analytical chemists –. **Official methods of analysis**. 16th ed. Gaithersburg, 1995.

ATKINS, P.; JONES, L. **Princípios de Química**. Porto Alegre, 2001. 914p.

BARBOZA, L.M.V.; FREITAS, R.J.S.; WASZCZYNSKYJ, N. Suco de laranja - reconstituído, enriquecido com cálcio e adoçado artificialmente. **Brasil Alimentos**, São Paulo, n. 21, 2003 Disponível em: <http://www.brasilalimentos.com.br/>.

BENASSI, M.T.; ANTUNES, A.J. A comparison of meta-phosphoric and oxalic acids as extractant solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. Brazilian **Arquive of Biological and Tecnology**, Curitiba v. 31, n. 4, p. 507-513, 1988.

BIBLE, B.B.; SINGHA, S. Copy position influences CIELAB coordinates of peach color. **HortScience**, Alexandria, v.28, p.175-178, 1999.

BOX, G.E.P.; COX, D.R. An analysis of transformations (with discussion). **Journal of the Royal Statistical Society**, Paris, Séries B, v. 26, p. 211-252. 1964.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET C.; Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, London, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Portaria 398 de 30/04/1999**. Disponível em: <http://legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=11297&word=>>. Acesso em: 22 abr. 2011.

_____. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Instrução normativa no. 12 de 4/09/2003**. Disponível em <http://www.google.com.br/search?q=+Instru%C3%A7%C3%A3o+Normativa+n%C2%BA+12%2C+de+4+de+setembro+de+2003&ie=utf-8&oe=utf-8&aq=t&rls=org.mozilla:pt-BR:official&client=firefox-a>. Acesso em: 23 jul. 2011.

_____. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Portaria nº 33, de 13 de janeiro de 1998**. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/33_98.htm; Acesso em: 23 jul.2011.

ÇAM, M.; HIŞIL, Y. Analytical Methods - Pressurised water extraction of polyphenols from pomegranate peels. **Food Chemistry**, Barking, v.123, p. 878-885, Mai 2010.

CELIKTAS, O.Y.; ISLETEN, M.; VARDAR-SUKAN, F. In vitro kinetics of pine bark extract enriched orange juice and the shelf stability. **British Food Journal**, Bradford, v.112, n.10, p.1063-1076, 2010.

CHAVES, M.C.V.; GOUVEIA, J.P.G.; ALMEIDA, F.A.C.; LEITE, J.C.A.L.; SILVA, F.L.H. Caracterização físico-química do suco de acerola. **Revista Biologia e Ciências da Terra**, João Pessoa, v. 4; n. 2, p.123-157, 2004.

COUCEIRO, E.M. Acerola (*Malpighia glabra* L.): Fabulosa fonte de vitamina C natural. In: REUNIÃO NORDESTINA DE BOTÂNICA, 10., 1986. Natal. **Anais...Natal**, RN: RNB, 1986. p. 345-348.

DE ANGELIS, R.C.; Alimentos de origem vegetal são saudáveis: verdades e alguns questionamentos. **Nutrição em Pauta**, São Paulo, v.10, n.57, p.30-34, 2002.

DEL RÍO, J.A.; FUSTER, M.D.; GÓMEZ, P.; PORRAS, I.; GARCÍA-LIDÓN, A.; ORTUÑO, A. Citrus limon: A source of flavonoids of pharmaceutical interest. **Food Chemistry**, Barking, v. 84, n. 3, p. 457–461, 2004.

DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington, D.C: American Public Health Association, 2001. 676 p.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Romã será alvo de pesquisa para produção de ingredientes antioxidantes**. 2011. Disponível em: <http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2011/janeiro/4a-semana/roma-sera-alvo-de-pesquisa-para-producao-de-ingredientes-antioxidantes>. Acesso em: 04 fev.2011.

_____. In: **Tecnohort discute produção integrada de frutas em Teresópolis**. Disponível em: <http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2007/abril/foldernoticia.2007-04-16>. Acesso em: 17 jul.2011.

_____. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS**. Fortaleza, 2007. 4p. Disponível em <http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/artigo.php?op=3&i=34&si=141&ar=3169>. Acesso em: 20 fev.2011.

_____. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +. Comunicado técnico on line 128**, Fortaleza - Ceará, 2007. Disponível em; <http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/artigo.php?op=3&i=34&si=141&ar=3169>. Acesso em: 20fev.2011.

FAO. Food and agriculture organization of the United Nations. **Preliminary 2009 Data Now Available For Selected Countries And Products**. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>. Acesso em: 30 abril 2011.

FETROW, C.W. AVILA, J. R. **Manual de medicina alternativa para o profissional**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan. 2000. p. 590-592.

FISCHER, U.A.; REINHOLD CARLE, R.; KAMMERER, D.R. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD–ESI/MSn. **Food Chemistry**, Barking, v. 127, p. 807-821, Jan. 2011.

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

GONÇALVES, A.A.; LEINDECKER, T.; BIEDRZYCKI, A. Suco de uva em pó fortificado com ferro. **Alimentação e Nutrição**, Araraquara, v.19, n.2, p. 177-181, 2008.

GONÇALVES, A.E.S.S. **Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonoides e vitamina C**. 2008. 88p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

GONDIM, J.A.M.; MOURA, M.F.V.; DANTAS, A.S.; MEDEIROS, R.L.S.; SANTOS, K.M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 825-827, 2005

GONZÁLEZ-BARRIO, R.; VIDAL-GUEVARA, M.L.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; ESPÍN, J.C. Preparation of a resveratrol-enriched grape juice based on ultraviolet C-treated berries. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, v.10, p.374-382, 2009.

GONZÁLEZ-MOLINA, E.; MORENO, D.A.; GARCÍA-VIGUERA, C. Genotype and harvest time influence the phytochemical quality of Fino lemon juice (*Citrus limon* (L.) Burm. F.) for industrial use. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Easton, v. 56, n. 5, p. 1669–1675, 2008.

GONZÁLEZ-MOLINA, E.; MORENO, D.A.; GARCÍA-VIGUERA, C. A new drink rich in healthy bioactives combining lemon and pomegranate juices. **Food Chemistry**, Barking, v. 115, p. 1364–1372, 2009.

GRYNSPAN, F.; CHERYAN, M. Phytate-calcium interaction with soy protein. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Chicago, v.66, n.1, p.93-97, 1989.

HARTLEY, H.O. The use of range in analysis of variance. **Biometrika**, London, v. 37, p. 271–280, 1950.

HENRÍQUEZ, C.; SPEISKY, H.; CHIFFELLE, I.; VALENZUELA, T.; ARAYA, M.; SIMPSON, R.; ALMONACID, S. Development of an ingredient containing apple peel, as a source of polyphenols and dietary. **Journal of Food Science**, Chicago, n.6, v. 75, p. H172-H181, 2010.

IBRAF. **INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS** Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br>>. Acesso em: 24 abr. 2011.

ISHIMOTO, E.Y. **Efeito hipolipemiante e antioxidante de subprodutos da uva em hamsters**. 2008. 195p. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

JARDINI, F.A.; MANCINI, J.F. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica Granatum*, L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 57-64, 2007.

JIA, Z.; TANG, M.; WU, J. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, Barking, v. 64, p. 555–559, 1999.

JURD, L. **Some advances in the chemistry of anthocyanin type plant pigment**. In: **The chemistry of plant pigments**. New York: Academic Press, 1972. p. 123–142.

JURD, L.; GEISSMAN, T.A. Absorption spectral of metal complexes of flavonoids compounds. **Journal of Organic Chemistry**, Baltimore, v.21, n.12, p. 1395-1401, 1956.

KOPPARAPU, N.K.; LIU, Z.; YAN, Q.; JIANG, Z.; ZHANG, S. A novel thermostable chitinase (PJC) from pomegranate (*Punica granatum*) juice. **Food Chemistry**, Barking, v. 127, p. 1569–1575, 2011.

LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I.; PRYME, I.F.; DALE, T.M. Beneficial (antiproliferative) effects of different substances. In: Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds and oilseeds, CONFERENCE 4TH INTERNATIONAL WORKSHOP ON ANTINUTRITIONAL FACTORS IN LEGUME SEEDS AND OILSEEDS BOOK SERIES: **European association for animal production publication**, Toledo, n. 110, p. 123-135, 2004. Disponível em: <http://www.eaap.org/docs/Publications/eaap110%20-%202356849724X.pdf#page=136>. Acesso em: 27 jul. 2011.

LAMSAL, B.P.; FAUBION, J.M. The beneficial use of cereal and cereal components in probiotic foods. **Food Reviews International**, New York, n.25, p.103-114, 2009.

LANSKY, E.P.; NEWMAN, R.A. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, n. 109, p. 177–206, 2007.

LATTA, M.; ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 28, p. 1313–1315, 1980.

LIMA, A.S.; MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M.; SILVA, F.V.G.; FIGUEIREDO, E.A.T. Desenvolvimento de bebida mista à base de água de coco e suco de acerola. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.3, p.683-690, 2008.

LORENZI, H; SOUZA, H.M; CERQUEIRA, L.S.C.; COSTA, J.T. de M.; FERREIRA, E. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: **Instituto Plantarum**, 2004. 321p.

MACHADO, F.S; SILVEIRA, M. Estrutura populacional e aspectos etnobotânicos de *Maritima flexuosa* L. F. (buriti, Arecaceae) na amazônia Sul Ocidental, Acre. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 9., 2009. São Lourenço – MG. **Anais...** São Lourenço – MG, 2009.

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

MELO, P.S. **Composição química e atividade biológica de resíduos agroindustriais**. 2010. 101p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

MENSOR, L.L.; MENEZES, F.S.; LEITAO, G.G.; REIS, A.S.; DOS SANTOS, T.C.; COUBE, C.S.; LEITAO, 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.

MORAES-DE-SOUZA, R.A. **Potencial antioxidante e composição fenólica de infusões de ervas consumidas no Brasil**. 2007. 60p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

MUNIZ, L.B. **Caracterização química, física e de compostos funcionais em cebolas frescas e minimamente processadas**. 2007. 160p. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) - Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

NEVES, L.C.; ALENCAR, S.M.; CARPES, S.T.; Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em amostras de pólen apícola de *Apis mellifera*. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, VII BMCFB, junho 2009. Disponível em: <http://www.ital.sp.gov.br/bj/>. Acesso em; 26 jul. 2011.

NODA, Y.; KANEYUKI, T.; MORI, A. PACKER, L. Antioxidant Activities of Pomegranate Fruit Extract and Its Anthocyanidins: Delphinidin, Cyanidin, and Pelargonidin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, p. 166-171, 2002.

NODA, Y.; KOHNO, M.; MORI, A.; PACKER, L. Automated electron spin resonance free radical detector assays for antioxidant activity in natural extracts. **Methods Enzymology**, New York, v. 299, p. 28-34, 1999.

OOMAH, B.D.; LUC, G.; LEPRELLE, C.; DROVER, J.C.G.; HARRISON, J.E.; OLSON, M. Phenolics, phytic acid, and phytase in canadian-grown low-tannin faba bean (*Vicia faba* L.) Genotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 59, p. 3763–3771, 2011.

OSAWA, C.C.; FERRARI, C.C.; SIQUEIRA, P.B.; BRITO, C.A.K.; SANVIDO, G.B.S.; BOTELHO, A.P.; ALVES, L.R.; CARDOSO, C.F.; MOAIS, V.H.F.; MELO, L.L.M.M.; RIBEIRO, A.P.B.; BOLINI, H.M.A. Avaliação do perfil sensorial de chá light sabor pêssego. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 102-108, dez. 2008.

PARK, Y.K.; HIKEGAKI, M.; ABREU, J.A.S.; ALCICI, N.M.F. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 3, p. 313-318, 1998.

PIMENTEL, C.V.M.B.; FRANCKI, V.M.; GOLLUCKE, A.P.B. **Alimentos funcionais: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos**. São Paulo: Varela, 2005, 95p.

PRADO, A. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. 2009. 107p. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N.P. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v.1; 533p, 1985.

PRICE, M.L.; HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. Tannin content of cowpeas, chickpeas, pigeonpeas and mung beans. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Easton, v.28, n.2, p.459-461, 1980.

RAUPP, D.S.; CARRIJO, K.C.R.; COSTA, L.L.F.; MENDES, S.D.C.; ANZATTO, D.A. Propriedades funcionais-digestivas e nutricionais de polpa-refinada de maçã. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.3, p.395-402, 2000.

RIZZON, L.A.; BERNARDI, J.; MIELE, A. Características analíticas dos sucos de maçã gala, golden delicious e fuji. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.4, p.750-756, 2005.

ROBERFROID, M. Inulin-type fructans: functional food ingredients. **Journal of Nutrition**, Bethesda, n.137, p.2493S-2502S, 2007.

RODRIGUES, B.S. **Resíduos da agroindústria como fonte de fibras para elaboração de pães integrais**. 2010. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

ROESLER, R.; MALTA, L.G.; CARRASCO, L.C.; HOLANDA, R.B.; SOUSA, C.A.S.; PASTORE, G.M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.

ROSS, K.A.; ZHANG, L.; ARNTFIELD, S.D. Understanding water uptake from the induced changes occurred during processing: chemistry of pinto and navy bean seed coats. **International Journal of Food Properties**, London, v. 13, p. 631–647, 2010.

SALGADO, J.M. **Alimentos inteligentes**. São Paulo: Editora Ediouro, 2005. 223p.

SALGADO, J.M. **Faça do alimento seu medicamento**. São Paulo: Editora Madras, 2000, 173p.

SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: USP/ESALQ, 1974. 56p.

SAS INSTITUTE. **SAS/Stat 9.1.3 Service Pack 2**. Cary, 2003. 1 DVD-ROM.

SCHLEIER, R. **Constituintes fitoquímicos de *Vitis vinifera* L.(uva)**. Monografia (especialista em Fitoterapia. 2004. 46 p. - Instituto Brasileiro de Estudos Homeopáticos, São Paulo, 2004.

SILVA; A.R.A; ARAÚJO, D.G.A. Suco tropical enriquecido com polpa de banana (*musa* spp.) verde. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa, v.3, n.2, p.47-55, 2009.

SILVA; M.A.P.; MATOS, F.S.; LUZ, G.R.; SOUZA, S.R.; RODRIGUES, P.L.; NUNES, Y.R.F.; VELOSO, M.D.M. Caracterização biométrica de frutas de *Mauritia flexuosa* L.F (Arecaceae) provenientes de duas veredas em diferentes estágios de conservação localizadas na APA do Rio Pandeiros, Norte de Minas Gerais. In: FÓRUM DE ENSINO, 10., SEMINÁRIO DE PESQUISA, 11., SEMANA DE EXTENSÃO, 5., SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO, 9., CIENTÍFICA, 9., SEMANA DE GESTÃO, 2., ENCONTRO DA UAB, 2., 2010. Minas Gerais. **Anais...** Minas Gerais: 2010. p. 1-3.

SINGH, R.P.; MURTHY, K.N.C.; JAYAPRAKASHA, G.K. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro Models. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Easton, n.50, p.81-86, 2002.

SOARES, L.M.V.; SHISHIDO, K.; MORAES, A.M.M.; MOREIRA, V.A. Composição mineral de sucos concentrados de frutas brasileiras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 2, p. 202-206, 2004.

SUGAI, Á.Y.; SHIGEOKA, D.S.; BADOLATO, G.G.; TADINI, C.C. Análise físico-química e microbiológica do suco de laranja minimamente processado armazenado em lata de alumínio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 3, p. 234-239, 2002.

TRIPATHI, A.K.; MISRA, A.K.; Soybean - a consummate functional food: A review. **Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 42, n. 2, p. 111-119, 2005.

UNICAMP - UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS – **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 2 edição, Campinas, 2006, 113p. Disponível em: <http://www.unicamp.br/nepa/taco/tabela.php?ativo=tabela>. Acesso em: 3 ago. 2011.

VIÉGAS, F.C.P. **A industrialização dos produtos cítricos**. In: RODRIGUEZ, O. 2 ed. Campinas: Fundação Cargill, 1991. p. 898-922.

VIGGIANO, C.E. A segunda era de ouro da nutrição: alimentos funcionais. **Revista Nutrição Profissional**, São Paulo, v. 1, p. 38-39, 2005.

WERKMAN, C.; GRANATO, D.C.; KERBAUY, W.D.; SAMPAIO, F.C.; BRANDÃO, A.A.H.; RODE, S.M. Aplicações terapêuticas da *Punica granatum* L. (romã). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.10, n.3, p.104-111, 2008.

WOLLGAST, J.; ANKLAN, E. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? **Food Research International**, Essex, n.33, p.449-459, 2000.

XLSTAT. **Xlstat-Pro 2010 add-in for Excel**. New York, 2010. Disponível em: <http://www.xlstat.com>. Acesso em: 24 jul. 2011.

YAMAGUCHI, P. **Functional Foods & FOSHU Japan Market & Product Report**, Japan, 2004. Disponível em <http://www.functionalfoods-japan.com>. Acesso em: 21 mar. 2009.

YANG, J.; GADI, R.; PAULINO, R.; THOMSON, T. Total phenolics, ascorbic acid, and antioxidant capacity of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder as affected by illumination during storage. **Food Chemistry**, Barking, v. 122, p. 627-632, 2010.

ZANATTA, C.F.; MITJANS, M.; URGATONDO, V.; ROCHA-FILHO, P.A.; VINARDELL, M.P. Photoprotective potential of emulsions formulated with Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) against UV irradiation on keratinocytes and fibroblasts cell lines. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 48, p. 70–75, 2010.