

Tecnologia de Frutas e Hortaliças: compostos químicos de interesse

Caroline Dellinghausen Borges
Carla Rosane Barboza Mendonça



2021

Tecnologia de Frutas e Hortaliças:

compostos químicos de interesse

Caroline Dellinghausen Borges
Carla Rosane Barboza Mendonça
(Eds)

Canoas
2021



Tecnologia de Frutas e Hortaliças: compostos químicos de interesse

© 2021 Mérida Publishers

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-3-8>

Editores

Caroline Dellinghausen Borges

Carla Rosane Barboza Mendonça

Adaptação da capa e desenho gráfico

Reynaldo Miquel

Foto da capa

klipartz.com



Canoas - RS - Brasil

contact@meridapublishers.com

www.meridapublishers.com

Todos os direitos autorais pertencem a Mérida Publishers. A reprodução total o parcial dos trabalhos publicados, é permitida desde que sejam atribuídos créditos aos autores.



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

T255 Tecnologia de frutas e hortaliças [recurso eletrônico] : compostos químicos de interesse / Organizadoras Caroline Dellinghausen Borges, Carla Rosane Barboza Mendonça. – Canoas, RS: Mérida Publishers, 2021.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-991393-3-8

1. Tecnologia de alimentos. 2. Alimentos - Análise. 3. Bioativos. I. Borges, Caroline Dellinghausen. II. Mendonça, Carla Rosane Barboza.

CDD 631.584

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

Prefácio

Os compostos químicos presentes nas frutas e hortaliças como os carboidratos, as proteínas, os lipídeos, as vitaminas e os minerais, desempenham importantes funções energéticas e regulatórias. Outros compostos oriundos do metabolismo secundário como compostos nitrogenados, fenólicos e terpenos são responsáveis por mecanismos de defesa, em função de suas atividades inseticida, antimicrobiana e antioxidante, assim como pela cor, sabor e aroma dos vegetais.

Alguns desses compostos, quando presentes em determinadas concentrações nos alimentos, produzem efeitos metabólicos e/ou fisiológicos benéficos à saúde, desta forma, a presença destes nos alimentos os caracterizam como funcionais.

O conhecimento das transformações metabólicas ocorridas com os compostos químicos na pós-colheita, assim como, as alterações passíveis de ocorrência no processamento e conservação, são de grande importância na determinação da funcionalidade desses compostos.

Em função das atividades bioativas, diferentes partes vegetais têm sido utilizadas para a elaboração de extratos e extração de óleo, para serem utilizados como aditivos em alimentos.

Aditivos alimentares são ingredientes que não têm o propósito de nutrir, mas são utilizados para alterar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, podendo ser naturais ou sintéticos. Diversos estudos têm associado o consumo excessivo de aditivos sintéticos a problemas relacionados à saúde. Assim, com o propósito de reduzir a utilização de aditivos sintéticos, em função de sua toxicidade, a busca por diferentes compostos presentes naturalmente em alimentos tem sido crescente.

Entretanto, além dos compostos químicos presentes naturalmente e dos adicionados intencionalmente, cabe lembrar que compostos contaminantes também são encontrados, podendo ser oriundos do solo, da água, do processamento, dos equipamentos, entre outros.

Esta obra aborda Trabalhos de Conclusão de Curso da Especialização *Lato sensu* em Ciência dos Alimentos – área de concentração em Tecnologia de Frutas e Hortaliças, da Universidade Federal de Pelotas, na forma de revisões bibliográficas e estudos experimentais, abordando temas relacionados a compostos químicos de interesse em vegetais.

Prof.^a Dr.^a Caroline Dellinghausen Borges

Centro de Ciências Químicas,
Farmacêuticas e de Alimentos,
Universidade Federal de Pelotas,
Campus Capão do Leão, Pelotas, RS, Brasil.

Índice

CAPÍTULO 1.....	7
Avaliação de compostos voláteis em vinhos produzidos com uvas “Niágara Branca” (<i>Vitis labrusca</i>) irradiadas com UV-C	
Simara Somacal, Rodrigo Valvassori Gindri, Fernanda Wouters Franco, Sabrina Somacal, Cláudia Kaehler Sauter, Fabrício da Fonseca Barbosa	
CAPÍTULO 2.....	19
Otimização do solvente para extração de compostos antioxidantes da polpa de abacate utilizando o planejamento de misturas simplex- centroid	
Tahís Regina Baú, Carla Rosane Barboza Mendonça	
CAPÍTULO 3.....	30
Caracterização dos compostos voláteis e óleos essenciais de sete-capotes (<i>Campomanesia guazumifolia</i> (Cambess.) O. Berg)	
Raquel Guidetti Vendruscolo, Roger Wagner, Bruna Tischer, Daniele de Freitas Ferreira, Francine Novack Victoria	
CAPÍTULO 4.....	43
Utilização de espectrometria de fluorescência de raio X em análises de alimentos	
Mariele dos Santos, Francine Novack Victoria	
CAPÍTULO 5.....	60
Compostos bioativos obtidos de subprodutos vegetais com propriedades antimicrobianas	
Nathana Lazzarotto Cristofoli, Francine Novack Victoria	
CAPÍTULO 6.....	76
Caracterização de óleo essencial extraído de folhas de <i>Citrus bergamia</i>	
Franciene Almeida Villanova, Dianini Hüttner Kringel, Roberto Pedroso de Oliveira, Caroline Dellinghausen Borges	
CAPÍTULO 7.....	86
Microextração em fase sólida para obtenção de compostos voláteis em maçãs e derivados	
Jossiê Zamperetti Donadel, Valdecir Carlos Ferri, Roger Wagner, Tassiane dos Santos Ferrão	

CAPÍTULO 8.....104

Propriedades bioativas do mirtilo (*Vaccinium myrtillus*): uma revisão

Angélica Markus Nicoletti, Aline Machado Pereira, Bianca Pio Ávila, Márcia Arocha Gularte

CAPÍTULO 9.....114

Toxicidade dos corantes alimentares artificiais

Josiane Bizzi Schlemmer Braun, Rosane da Silva Rodrigues

CAPÍTULO 10.....140

Características nutricionais e compostos bioativos com atividade antioxidante de frutos nativos do cerrado: uma revisão

Graciele Lorenzoni Nunes, Lucas Nojosa Oliveira, Shamara Ribeiro de Almeida, Márcia Arocha Gularte

CAPÍTULO 1

Avaliação de compostos voláteis em vinhos produzidos com uvas “Niágara Branca” (*Vitis labrusca*) irradiadas com UV-C

Simara Somacal, Rodrigo Valvassori Gindri, Fernanda Wouters Franco, Sabrina Somacal, Cláudia Kaehler Sauter, Fabrício da Fonseca Barbosa

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-3-8.c1>

Resumo

A uva “Niágara Branca” é uma das variedades mais cultivadas no estado do Rio Grande do Sul para a produção de vinhos brancos de mesa. O aroma final de um vinho é formado por um grande número de compostos químicos voláteis, presentes em concentrações variáveis e detectáveis pelo sistema olfativo humano. A radiação ultravioleta do tipo C (UV-C) é um elicitador abiótico capaz de causar pequenos danos em tecidos vegetais, que faz com que as plantas produzam fitoalexinas como mecanismo de defesa, podendo modificar a composição de compostos voláteis desses vegetais. O objetivo deste estudo foi avaliar o teor de compostos voláteis em vinhos produzidos com uvas “Niágara Branca” expostas à UV-C. Os compostos voláteis foram analisados em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas. Foram quantificados 54 compostos voláteis, sendo os ésteres o grupo químico que apresentou o maior aumento de sua concentração (35,7%) nos vinhos produzidos com uvas previamente irradiadas com UV-C, com destaque para o 9-decenoato de etila que teve um aumento de 135,7%. Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que a irradiação de uvas “Niágara Branca” com UV-C gera uma resposta fisiológica que aumenta a concentração de compostos voláteis.

Palavras-chave: aroma, elicitador abiótico, hormese, Niágara, vinhos de mesa.

1. Introdução

A produção de uvas no Brasil está localizada principalmente na região Sul do país. Constitui-se em atividade consolidada, com importância socioeconômica, principalmente nos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, os quais respondem por 73% da produção nacional de vinhos. A uva Niágara Branca é uma das principais cultivares de *Vitis labrusca*, e juntamente com a uva Isabel, são destaques como “uvas comuns”, sendo variedades rústicas e amplamente utilizadas na fabricação de vinhos de mesa. Em 2015, esses mostraram aumento de 7,21% na sua produção, com alta de 7,63% para os tintos e de 5,66% para os brancos (MELLO, 2015).

A cor, o sabor, o aroma e a adstringência são atributos importantes para definir a qualidade de um vinho (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006), podemos destacar o aroma como sendo um dos principais aspectos sensoriais levados em consideração pelos consumidores, sendo diversas as substâncias que compõem os compostos voláteis do vinho e que contribuem para a formação do buquê do mesmo (JIANG *et al.*, 2013; NIU

et al., 2011). Além dos aromas provenientes das uvas, chamados “varietais”, a fração volátil dos vinhos advém também da fermentação por leveduras e outros micro-organismos, envolvendo uma série de reações bioquímicas e, também, o envelhecimento da bebida, tanto em barricas de carvalho como na garrafa (BURIN *et al.*, 20011; MAURIELLO *et al.*, 2009). Atualmente, já foram identificados mais de 800 compostos voláteis em vinhos e sabe-se que somente algumas dezenas são aromas ativos para finalidades de diferenciação (ou seja, estão presentes em concentração acima do limiar de detecção olfativa em vinhos). Esses compostos pertencem a diversas classes químicas e estão presentes em concentrações que vão desde nanogramas a miligramas por litro (BAYONOVE, 2000; FALCÃO *et al.*, 2007).

Hormese é um estímulo de uma resposta positiva por baixas doses de qualquer agente potencialmente nocivo. Um tipo de tratamento pós-colheita, com efeito, hormético é o uso de baixas doses de radiação UV-C, que atua como elicitador, causando danos que ativam mecanismos de reparo aos efeitos da irradiação, estimulando a uva a produzir fitoalexinas, que são metabólitos secundários produzidos pelas plantas em resposta a esse estresse (GOMEZ *et al.*, 2010; LAMIKANRA; RICHARD; PARKER, 2002).

Portanto o objetivo deste estudo foi avaliar produção de vinhos a partir de uvas Niágara Branca submetidos a radiação UV-C.

2. Material e Métodos

2.1. Material

O experimento foi realizado com uvas *Vitis labrusca* da cultivar ‘Niágara Branca’ (aproximadamente 40 kg), provenientes da Vinícola Velho Amâncio (Santa Maria/RS), colhidas em fevereiro de 2011. Após a toaleta, as uvas foram divididas em 2 grupos experimentais: controle (dose de 0 kJ.m⁻²) e irradiadas (dose 3 kJ.m⁻²), com três repetições em cada grupo experimental.

2.2 Métodos

2.2.1 Irradiação ultravioleta do tipo C

O método de irradiação foi empregado conforme Sautter *et al.* (2008). As unidades amostrais foram submetidas a irradiação em uma câmara anti-reflectiva, constituída por fonte ultravioleta com emissão na região do UV-C (marca Phillips® - modelo TUV15W/ G15T8 Longe Life, potência de 15 W) e expostas a uma irradiância de 3,048 W.m² e comprimento de onda de 254 nm (parâmetros previamente aferidos pela empresa Ensoltec®, Porto Alegre). O tempo de exposição das uvas foi de 16,4 min, determinado segundo Diffey (2002) pela relação da dose e irradiância emitida pela lâmpada ultravioleta. Posteriormente, todas as uvas (controle e irradiada) foram mantidas em câmara com controle de temperatura a 20 °C por três dias, para que houvesse uma resposta fisiológica à irradiação UV-C.

2.2.2 Vinificação

A microvinificação foi conduzida conforme Miele e Rizzon (2006) com algumas adaptações. As uvas foram desengaçadas e esmagadas manualmente e o mosto foi acondicionado em microvinificadores de polietileno e adicionada enzima pectinolítica (pectinoesterase) LAFAZYM®CL, marca Laffort® (1 g.L⁻¹). Após 4 h foi realizada a descuba e adicionada a levedura *Saccharomyces cereviseae*, ZYMAFLORE FX10® e o

ativante Bioactiv[®], marca Laffort[®], conforme as especificações do fabricante. A fermentação foi conduzida durante 12 dias em temperatura de 16 °C no laboratório de fermentações no núcleo integrado de desenvolvimento de análises laboratoriais (NIDAL/UFSM). Diariamente foram retiradas alíquotas do mosto para verificar a concentração de sólidos solúveis totais (SST) e a dinâmica da fermentação. A fermentação foi finalizada quando os SST se mantiveram constantes por 2 dias e inferiores a 4 °Brix. A mensuração dos SST foi feita com refratômetro portátil (modelo REF 103, Biobrix[®]) conforme Instituto Adolfo Lutz (2008).

Após este período, os vinhos foram clarificados (bentonite) e sulfitados (60 ppm de SO₂) por um período de 2 semanas. Posteriormente, os vinhos foram trafegados e submetidos à temperatura de 1 °C por 6 meses, em câmara refrigerada para que ocorresse a estabilização tartárica. Passado este período de estabilização, as amostras foram acondicionadas em garrafas de vinho de cor verde com capacidade de 375 mL e tapadas com rolhas de corticeira. As análises cromatográficas foram realizadas após 6 meses do engarrafamento dos vinhos.

2.2.3 Análise de compostos voláteis

A extração das amostras para as análises cromatográficas gasosas tanto qualitativas quanto quantitativas, foi por microextração em fase sólida (SPME), realizada seguindo o método proposto por Tao e Zhang (2010) com adição de padrão interno 3-octanol (4,1 µg.mL⁻¹) e utilizando a fibra DVB/Car/PDMS (divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano, Supelco, 50/30 µm x 20 mm, Supelco), que foi exposta por 30 min ao *Headspace*. A identificação dos compostos voláteis foi feita utilizando cromatógrafo gasoso Shimadzu GC 2010[®], acoplado a espectrômetro de massas (Shimadzu QP 2010 Plus[®]) utilizando uma coluna capilar de polietilenoglicol CP-WAX 52 CB[®] (30,0 m x 0,25 mm x 0,25 µm). O programa de temperatura da coluna foi iniciado a 35 °C, permanecendo por 1 min, e posteriormente aumentando até 240 °C a uma taxa de 4°C.min⁻¹, temperatura que foi mantida por 10 min. O gás de arraste foi o hélio, tendo uma vazão de 2,8 mL.min⁻¹ permanecendo à pressão constante de 61,8 kPa. A temperatura da interface no GC/MS e da fonte de íons foi de 250 °C. A ionização dos compostos foi configurada no modo de ionização por elétrons a 70 eV. O analisador de massas quadrupolos monitorando as massas de íons operou no modo de varredura de 40 a 350 m.z⁻¹. A voltagem aplicada ao detector foi de 0,8 kV. Na identificação dos compostos voláteis foi utilizada a série de alcanos C₆-C₂₂, comparando o espectro de massas com a biblioteca NIST e a confirmação destes dados foi feita por comparação entre os Índices de Kovats (IK) ou Índices de Retenção (IR) dos compostos identificados pelo detector, com os citados pela literatura ou com IK e IR obtidos a partir de análises de padrões.

A quantificação dos compostos voláteis foi realizada em cromatógrafo a gás VARIAN[®], modelo Star 3400 cx, com detector de ionização de chama (GC/FID). O método de extração e as condições das análises cromatográficas foram semelhantes as citadas anteriormente, diferindo-se pelo fato de o gás de arraste ser o hidrogênio em vazão de 2,8 mL.min⁻¹ e pressão constante de 61,8 kPa. Nesta análise também foram aplicadas as séries de alcano C₆-C₂₂ para pareiação através do IK dos analitos identificados no CG. Os resultados foram expressos em equivalentes µg de 3 octanol.mL⁻¹.

2.2.4 Análise estatística

Após a verificação da normalidade dos dados, as médias do grupo controle *versus* médias do grupo irradiado foram comparadas pelo teste t de *Student* a um nível de 5% de significância, utilizando o programa *Statistic* versão 9.0.

3. Resultados e Discussão

As concentrações médias dos compostos voláteis presentes no vinho, produzidos a partir de uvas Niágara Branca irradiadas e não irradiadas com UV-C, se encontram na Tabela 1 divididas por classes químicas, em equivalentes microgramas de 3-octanol.mL⁻¹ de vinho.

Tabela 1. Concentração de compostos voláteis (µg.mL⁻¹) obtidos no vinho da cultivar “Niágara Branca” por tratamentos.

Grupos	IK**	Dose UV-C	
		0 KJ.m ⁻²	3 KJ.m ⁻²
Ácidos			
Ácido acético	1457	1,74 ± 0,39	2,43 ± 0,45
Ácido 2-metil-propanoico	1564	0,97 ±0,12	1,00 ± 0,24
Ácido butírico	1634	0,31 ± 0,01	0,3 ± 0,03
Ácido hexanoico	1854	5,75 ± 0,64	5,60 ± 0,08
Ácido 2-etil hexanoico	1931	0,39 ± 0,01*	0,26 ± 0,01*
Ácido octanoico	2074	12,56 ± 2,52	12,89 ± 0,61
Σ		21,72	22,48
Álcoois			
Isobutanol	1113	27,16 ± 5,76	30,33 ± 4,93
Álcool isoamílico	1236	37,97 ± 0,06*	43,55 ± 1,18*
3-metil-1-pentanol	1327	0,86 ± 0,12	0,70 ± 0,12
1-hexanol	1355	13,67 ± 1,29	11,10 ± 1,39
Cis-3-Hexenol	1394	4,02 ± 0,04	4,10 ± 0,01
3-Octenol	1447	0,96 ± 0,03	0,88 ±0,17
2-etil-1-hexanol	1489	0,74 ± 0,08*	0,32 ± 0,07*
2,3-butanodiol	1544	1,64 ± 0,12	1,31 ± 0,10
1-Octanol	1551	0,83 ± 0,07	0,78 ± 0,10
3-Terpinenol	1580	0,07 ± 0,02	0,11 ± 0,09

2,3-Butanediol	1584	0,38 ± 0,09	0,58 ± 0,24
Propilenoglicol	1604	0,28 ± 0,06	0,38 ± 0,31
1-Nonanol	1667	0,62 ± 0,23	0,21 ± 0,01
Metionol	1725	0,79 ± 0,03*	1,37 ± 0,11*
Álcool Feniletílico	1924	110,48 ± 11,19	130,66 ± 9,24
n-Dodecanol	1964	0,38 ± 0,02	0,34 ± 0,07
Σ		200,47	226,72
Aldeídos			
1,4 butanediol hexadecanal acetal	1159	0,18 ± 0,03	0,22 ± 0,07
Σ		0,18	0,22
Cetonas			
2-Heptanona	1191	0,28 ± 0,12	0,36 ± 0,24
Metil heptanona	1332	0,47 ± 0,27*	0,05 ± 0,01*
Σ		0,75	0,41
Ésteres			
Acetato de isobutílica	1023	0,29 ± 0,05	0,31 ± 0,08
Butanoato de etila	1044	4,99 ± 0,30	4,69 ± 0,29
2-Metilbutanoato de etila	1061	0,71 ± 0,09	0,86 ± 0,1
Isovalerato de etila	1077	1,14 ± 0,13	1,33 ± 0,26
Acetato de isoamila	1129	10,53 ± 1,47	10,46 ± 1,92
trans-Crotonato de etila	1167	15,66 ± 1,46*	12,04 ± 0,51*
4-metil pentanoato de metila	1188	0,14 ± 0,05	0,24 ± 0,07
Hexanoato de etila	1221	497,86 ± 17,04*	585,97 ± 8,54*
2-Hexenoato de etila	1340	2,61 ± 0,065	2,94 ± 0,44
Octanoato de etila	1434	61,29 ± 1,75*	56,68 ± 6,53*
Lactato de isoamila	1571	0,38 ± 0,04	0,49 ± 0,10
2- Furoato de etila	1638	0,15 ± 0,06	0,31 ± 0,23
Decanoato de etila	1645	2,74 ± 0,28	3,73 ± 0,81

Benzoato de etila	1678	0,48 ± 0,06	0,60 ± 0,15
Succinato de dietila	1684	10,79 ± 0,67*	13,54 ± 0,10*
9-Decenoato de etila	1697	0,14 ± 0,04*	0,33 ± 0,06*
Glutarato de dietila	1779	0,35 ± 0,05	0,17 ± 0,06
Acetato de feniletila	1787	2,09 ± 0,05*	2,48 ± 0,04*
3-metil butil butenoato de etila	1913	0,63 ± 0,01*	0,85 ± 0,01*
Σ		612,97	698,02

Éter

Metil2(Z)pentenil eter	1019	0,19 ± 0,02	0,19 ± 0,03
1,1-Dietoxibutano-3 metil	1081	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,02
1-Etoxietoxi-1- pentano	1106	0,18 ± 0,03	0,21 ± 0,07
1,2 Epoxiciclodecano	1623	0,43± 0,01	0,43 ± 0,03
Σ		0,87	0,9

Hidrocarbonetos

Estireno	1256	0,24 ± 0,01*	0,07 ± 0,01*
Σ		0,67	0,5

Terpenos

Óxido de nerol	1464	0,24 ± 0,02	0,26 ± 0,04
Hotrienol	1616	0,17 ± 0,01	0,17 ± 0,02
α-Terpinenol	1705	4,08 ± 1,09	7,06 ± 5,89
Citronelol	1772	0,40 ± 0,06	0,39 ± 0,02
Σ		4,89	7,88

Fenol

4- etil guaiacol	2015	0,91 ± 0,18*	0,26 ± 0,03*
Σ		0,91	0,26

**Índices de Kovats comparados com obtidos por padrões e pela literatura em: ALVES; FRANCO, 2003; ANTALICK; PERELLO; REVEL, 2010; COMUZZO, et al, 2006; GARRUTI *et al.*, 2006; NIU *et al.*, 2011; RIU-AUMATELL *et al.*, 2006; TAO; LIU; LI, 2008; SAN-JUAN *et al.*, 2010; XI *et al.*, 2011. Resultados expressos como média ± erro padrão. *Médias diferem entre si pelo teste de Student-t (linha).

A partir da Tabela 1 pode-se observar que houve alterações em diversos compostos voláteis, dentro de quase todas as classes químicas. Porém não houve diferença significativa na concentração entre grupos, mas este valor não é absoluto, uma vez que alguns compostos encontrados por cromatografia não puderam ser quantificados por GC-FID, pois estes coeluíram entre si ou com o etanol.

Foram encontrados 89 compostos voláteis presentes no vinho, dos quais 54 foram identificados e quantificados, sendo estes: 6 ácidos (11,1%), 16 álcoois (29,6%), 1 aldeído (1,9%), 2 cetonas (3,7%), 19 ésteres (35,1%), 4 éteres (7,4%), 1 hidrocarbonetos (1,9%), 4 terpenos (7,1%) e 1 fenol (1,9%). Deste total, 14 deles apresentaram alguma diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos. Dos seis ácidos identificados, o ácido 2-etil hexanóico apresentou uma redução significativa de 33% em relação a dose de 0 KJ m^{-2} ($p < 0,05$).

Dentre as classes químicas de importância para os aromas dos vinhos, os álcoois superiores são formados principalmente durante a fermentação alcoólica, resultantes da degradação de aminoácidos através do mecanismo de Ehrlich ou catabolismo de açúcares (BOULTON *et al.*, 1996; EBELER, 2001). Entre os dezessete álcoois identificados três apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) na concentração entre os tratamentos. Houve um aumento de 14,7% no álcool isoamílico e de 73,4 % no metionol e redução de 56,7% no 2-metil-1-hexanol quando comparado a dose de 3 KJ.m^{-2} em relação ao controle.

Dentre as cetonas detectadas houve um decréscimo significativo de 89,4% na concentração da metil heptanona na dose 3 kJ.m^{-2} quando comparada a 0 kJ.m^{-2} . A irradiação com UV-C não alterou significativamente ($p < 0,05$) nenhum dos compostos pertencentes a classe dos aldeídos, éteres e terpenos quando comparados ao controle. Já em relação à classe dos hidrocarbonetos, a irradiação com UV-C reduziu 70,8% a concentração do estireno em relação ao controle. A redução deste composto volátil é benéfico ao aroma do vinho pois demonstra que, possivelmente, houve uma redução no aroma pungente do vinho, uma vez que esse tipo de aroma está relacionado a esse hidrocarboneto (WELKE, 2012).

Os vinhos produzidos com uvas Niágara Branca contêm 20 ésteres identificados, destes 7 apresentaram diferença significativa entre os tratamentos. Nos vinhos provenientes de uvas tratadas com UV-C na dose de 3 kJ.m^{-2} houve um aumento de 135,7% no 9-decenoato de etila, 34,9% no succinato de etil 3-metil butila, 25,5% no succinato de dietila, 18,6% no Acetato de feniletila, 17,7% no hexanoato de etila, em relação ao controle. Os ésteres trans-crotonato de etila e octanoato de etila apresentaram uma redução significativa ($p < 0,05$) de 22,6% e 7,5%, respectivamente, quando comparado o tratamento 3 kJ.m^{-2} de irradiação com UV-C ao controle. A classe química dos ésteres foi a que apresentou um maior aumento na concentração de compostos com a irradiação UV-C.

Nos vinhos provenientes de uvas irradiadas nota-se que dois ésteres derivados do ácido succínico, encontram-se aumentados (succinato de dietila e succinato de etil 3-metil butila). Porém, esse ácido não foi mensurado, porque foi coeluído com outros compostos durante a cromatografia gasosa. Ainda, houve o aumento de ésteres formados a partir do álcool isoamílico, que apresentaram concentração média superior nos vinhos produzidos com uvas tratadas com UV-C, no entanto seus ésteres (isovalerato de etila e acetato de isoamila) não se diferiram estatisticamente nos

vinhos produzidos com uvas tratadas com UV-C do grupo controle. Esse aumento pode ser devido ao aumento da concentração de isoleucina e leucina, aminoácidos precursores desse álcool e ácido (FALQUÉ; FERNÁNDEZ; DUBOURDIEU, 2002; PARESTELLO *et al.*, 2006).

O vinho da cultivar “Niágara Branca” produzido com uvas irradiadas com UV-C na dose de 3 kJ.m^{-2} possivelmente apresente notas aromáticas frutais mais pronunciadas que os vinhos controle, pois houve um aumento significativo na concentração de muitos ésteres, como visto na Tabela 1. De acordo com a Tabela 2, que traz dados da literatura referentes às notas aromáticas, a maioria dos compostos que apresentaram aumento significativo de concentração possuem este tipo de aromas. Adicionalmente, houve redução da concentração de compostos voláteis que afetam negativamente o aroma de vinhos, como o 4-etil guaiacol e o ácido 2-etil hexanóico, que tiveram, respectivamente, uma redução de 71,4% e 33% no grupo irradiado com a UV-C. O 4-etil guaiacol quando presente em elevadas concentrações atribui ao vinho aroma de fumaça (CLARKE; BAKKER, 2004) e o ácido 2-etil hexanóico quando em elevadas concentrações confere ao vinho um aroma mais rançoso (gordura) e também pode afetar negativamente o processo fermentativo (CLARKE; BAKKER, 2004). Nossos dados estão de acordo com os estudos de Treptow (2012), que apontam que a irradiação com UV-C em uvas da cultivar “Isabel” intensificaram os compostos voláteis presentes nessa cultivar, sobretudo os ésteres, com destaque para o butanoato de etila (aroma doce), o hexanoato de etila (aroma frutado) e o hexanoato de 2-etila (aroma frutado).

Tabela 2. Notas olfativas de compostos voláteis.

Composto	Aroma ¹
Ácido 2-etil hexanoico	Gordura, levedura, queijo, ranço ⁽¹⁾
Alcool isoamílico	Pungente, álcool, malte, queimado, queijo ^(2,3)
2-etil 1-hexanol	Herbáceo, pungente ⁽³⁾
Metionol	-----
Metil heptanona	Cogumelo, vinil, borracha, amadeirado, groselha ⁽²⁾
trans-Crotonato de etila	-----
Octanoato de etila	Frutado, gordura ⁽³⁾
Hexanoato de etila	Frutado, morango, anis, doce ^(2,3)
Succinato de dietila	Fruta, vinho, fermentado, floral ^(1,2)
9-Decenoato de etila	Frutado ⁽³⁾
Acetato de feniletila	Flor de camomila, aipo, frutado, mofado, chá ⁽¹⁾
Succinato de etil 3-metil butila	-----
Estireno	Pungente, perfumado, assado ⁽³⁾

¹ Notas olfativas descritas na literatura. (1) ANTALICK; PERELLO; REVEL, 2010; (2) NIU *et al.*, 2011; (3) TREPTOW (2012).

4. Conclusão

Foram detectados a presença de 56 compostos voláteis no vinho produzido com uvas Niágara Branca. A irradiação com UV-C provocou um aumento de 13,5% de seus compostos voláteis. Houve um aumento da concentração de 14 compostos voláteis dos 54 presentes nos vinhos Niágara Branca, produzidos com uvas irradiadas. Entre os principais compostos que apresentaram aumento de concentração após o tratamento com a irradiação com UV-C estão o álcool isoamílico, metionol, 9-decenoato de etila, succinato de etil 3-metil butila, succinato de dietila, acetato de feniletila, hexanoato de etila. Assim, espera-se dos vinhos irradiados um aroma mais frutado.

5. Agradecimento

Esse estudo foi parcialmente financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

6. Referências

- ALVES, G. L.; FRANCO, M. R. Headspace gas chromatography–mass spectrometry of volatile compounds in murici (*Byrsonima crassifolia* Rich). **Journal of Chromatography A**, v. 985, p. 297–301. 2003. [http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9673\(02\)01398-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9673(02)01398-5).
- ANTALICK, G.; PERELLO, M. C. REVEL, G. Development, validation and application of a specific method for the quantitative determination of wine esters by headspace-solid-phase microextraction-gas chromatography–mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 121, n.4, p. 1236–1245, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.011>.
- BAYONOVE, C. Aromas. In: FLANZY, C (Ed.). **Enologia, fundamentos científicos y tecnológicos**. Madrid: Mundi-Prensa: AMV Ediciones, 2000. 245-30 p.
- BOULTON, R.B. *et al.* **Principles and practices of winemaking**. Chapman and Hall: New York, p.604, 1996. <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4757-6255-6>.
- BURIN, V. M. *et al.* Cabernet Sauvignon wines from two different clones, characterization and evolution during bottle ageing. **LWT - Food Science and Technology**, v.44, n.9, p.1931-1938, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2011.05.001>.
- CLARKE, R.J.; BAKKER, J. **Wine: flavor chemistry**. Chichester: Wiley-Blackwell, 2004. 336p.
- COMUZZO, P. *et al.* Yeast derivatives (extracts and autolysates) in winemaking: Release of volatile compounds and effects on wine aroma volatility. **Food Chemistry**, v. 99, n.2, p. 217–230, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.049>.
- DIFFEY, L. D. Sources and measurement of ultraviolet radiation. **Methods**, v.28, p.4-13, 2002. [http://dx.doi.org/10.1016/S1046-2023\(02\)00204-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1046-2023(02)00204-9).

EBELER, S. E. Analytical chemistry: unlocking the secrets of wine flavor. **Food Reviews International**, v.17, n.1, p.45-64, 2001. <http://dx.doi.org/10.1081/FRI-100000517>.

FALQUÉ, E.; FERNÁNDEZ, E.; DUBOURDIEU D. Volatile Components of Loureira, Dona Branca, and Treixadura Wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.3, p.538–543, 2002. <https://doi.org/10.1021/jf010631s>.

FALCÃO, L. D. *et al.* A survey of seasonal temperatures and vineyard altitude influences on 2-methoxy-3-isobutylpyrazine, C13 – norisoprenoids and the sensory profile of brazilian Cabernet Sauvignon wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.3605-3612, 2007. <https://doi.org/10.1021/jf070185u>.

GARRUTI, D. S. Assessment of aroma impact compounds in a cashew apple-based alcoholic beverage by GC-MS and GC-olfactometry. **LWT - Food Science and Technology**, v. 39, p. 372–377, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.02.006>.

GOMEZ, P. L. *et al.* Effect of ultraviolet-C light dose on quality of cut-apple: Microorganism, color and compression behavior. **Journal of Food Engineering**, v. 98, p. 60–70, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.12.008>.

INSTITUTO ADOLF LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**, 4. ed. São Paulo, 2008. p. 354, 421 - 425, 564.

JIANG, B. *et al.* Comparison on aroma compounds in Cabernet Sauvignon and Merlot wines from four wine grape-growing regions in China. **Food Research International**, v.51, p.482–489, 2013. <https://doi.org/10.1016/0.1016/j.foodres.2013.01.001>.

LAMIKANRA, O.; RICHARD, O. A.; PARKER, A. Ultraviolet induced stress response in fresh cut cantaloupe. **Phytochemistry**, v.60, n.1, p.27-32, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00048-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00048-1).

MAURIELLO, G. *et al.* SPME–GC method as a tool to differentiate VOC profiles in *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts. **Food Microbiology**, v.26, p.246–252, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.01.003>.

MELLO, L.M.R. Desempenho da vitivinicultura brasileira em 2015. Agroindústria Estudos socioeconômicos e ambientais Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação. Campo & Negócio - HF, Uberlândia, v. 8, n. 128, 2016. p. 108-116.

MIELE, A; RIZZON, L. A. Efeito de elevadas produtividades do vinhedo nas características físico-químicas e sensoriais do vinho Merlot. **Ciência Rural**, v.36, n.1, p.271-278, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782006000100042>.

NIU, Y. *et al.* Characterization of odor-active compounds of various cherry wines by gas chromatography–mass spectrometry, gas chromatography–olfactometry and their correlation with sensory attributes. **Journal of Chromatography B**, v.879, p.2287–2293, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.06.015>.

RIBÉREAU-GAYON, P. *et al.* **Handbook of enology: The chemistry of wine**, v.2. Chichester: John Wiley and Sons, 2006. 450p.

RIU-AUMATELL, M. *et al.* Development of volatile compounds of cava (Spanish sparkling wine) during long ageing time in contact with lees. **Food Chemistry**, v. 95 p. 237–242, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.029>.

SAN-JUAN, F. Producing headspace extracts for the gas chromatography–olfactometric evaluation of wine aroma. **Food Chemistry**, v. 123, p. 188–195, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.129>.

SAUTTER, C. K. *et al.* Síntese de trans-resveratrol e controle de podridão em maçãs com uso de elicitores em pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.9, p.1097-1103, 2008.

TAO, Y.; ZHANG, L. Intensity prediction of typical aroma characters of cabernet sauvignon wine in Changli County (China). **LWT - Food Science and Technology**, v.43, p.1550-1556, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.06.003>.

TAO, Y.S.; LIU, Y.; LI, H. Sensory characters of Cabernet Sauvignon dry red wine from Changli County (China). **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 565-569, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.087>.

TREPTOW, T.C. Radiação UV-C em cultivares de uvas Niágara Branca e Trebbiano, Isabel e Carbenet Sauvignon. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santa Maria, p.83, 2012.

WELKE, J. Uso da microextração em fase sólida e da cromatografia gasosa monodimensional e bidimensional abrangente na caracterização de voláteis de vinhos gaúchos. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.167, 2012.

XI, Z. *et al.* Impact of cover crops in vineyard on the aroma compounds of *Vitis vinifera* L.cv Cabernet Sauvignon wine. **Food Chemistry**, v.127, n. 2, p. 516–522, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.033>.

Autores

Simara Somacal^{1*}, Rodrigo Valvassori Gindri², Fernanda Wouters Franco², Sabrina Somacal², Cláudia Kaehler Sauter³, Fabrício da Fonseca Barbosa⁴

1. Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* em Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Sede, CEP. 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

2. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Sede, CEP. 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

3. Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Sede, CEP. 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

4. Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil.

* Autor para correspondência: s.somacal@gmail.com

CAPÍTULO 2

Otimização do solvente para extração de compostos antioxidantes da polpa de abacate utilizando o planejamento de misturas simplex-centroide

Tahís Regina Baú, Carla Rosane Barboza Mendonça

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-3-8.c2>

Resumo

O abacate é uma fruta tropical com elevado valor nutritivo e fonte de importantes substâncias bioativas, como os compostos fenólicos e antioxidantes. A extração de compostos fenólicos e antioxidantes em alimentos é difícil, devido às diferentes características destes compostos e a complexidade das matrizes alimentares. Objetivou-se com este estudo otimizar as condições de extração de compostos fenólicos e antioxidantes da polpa de abacate da variedade Quintal por meio da aplicação de um planejamento de misturas simplex-centroide. Os compostos fenólicos e antioxidantes foram extraídos da polpa de abacate utilizando como solventes água, acetona, etanol e metanol, em diferentes combinações, totalizando 16 ensaios, conforme o planejamento experimental empregado. As misturas foram analisadas em relação ao teor de compostos fenólicos pelo método de Folin-Ciocalteu e atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH. De acordo com a análise de superfície de resposta e desejabilidade, a combinação de 50% de água e 50% de acetona revelou-se a mais apropriada para a extração de compostos fenólicos e antioxidantes da polpa de abacate variedade Quintal.

Palavras-chave: ABTS, compostos bioativos, DPPH, metodologia de superfície de resposta, solventes, variedade Quintal.

1. Introdução

O abacate (*Persea americana* Mill.) é uma importante fruta tropical comercial (WANG; BOSTIC; GU, 2010), possui forma de drupa com casca delgada, de coloração verde oliva-brilhante, que apresenta elevado teor de água, em torno de 71,51% e óleo de alta qualidade (SAMPAIO; LEONEL, 2008). O abacate é fonte de ácidos graxos insaturados, fibras, potássio, vitamina B (GOMEZ-LOPEZ, 1998) e compostos lipofílicos bioativos, como a vitamina E, carotenoides, esteróis e outros, que tem demonstrado atividade antioxidante (LEE; KOO; MIN, 2004). Segundo a *American Diet Association* (ADA) o abacate pode ser classificado como um alimento funcional, devido ao seu alto valor nutritivo e comprovados efeitos benéficos para a saúde humana (ADA, 1999).

Vários compostos antioxidantes naturais já foram isolados a partir de diferentes tipos de materiais de plantas, tais como oleaginosas, cereais, legumes, frutas, folhas,

raízes, especiarias e ervas (RAMARATHNAM *et al.*, 1995). O abacate é uma importante fonte de compostos bioativos, que protegem as células humanas contra os efeitos prejudiciais dos radicais livres. Além disso, os compostos fenólicos são conhecidos por apresentar outras propriedades benéficas à saúde, como atividade antioxidante, efeito anti-inflamatório, antitumoral e antimicrobiano (LUTHRIA, 2008). Os principais antioxidantes presentes na polpa do abacate são os carotenoides (xantofilas, principalmente a luteína) bem como as vitaminas C e E (JACOBO-VELÁSQUEZ; HERNÁNDEZ-BRENES, 2012; LU *et al.*, 2005). Além disso, a semente do abacate é rica em compostos fenólicos, como a catequina e epicatequina, entre outros (GEISSMAN; DITTMAR, 1965). A capacidade antioxidante de vegetais, como o abacate, pode ser afetada por diversos fatores, como as condições de cultivo, variedade, manipulação pós-colheita e estágio de maturação dos frutos (KEVERS *et al.*, 2007).

A extração de compostos fenólicos e antioxidantes das amostras alimentícias é um processo complexo e desafiador, já que mais de 800 compostos foram isolados de fontes naturais (LUTHRIA, 2006; ROBBINS, 2003). Esses compostos mostram estrutura química variada e podem estar conjugados com diferentes grupos (LUTHRIA, 2008), o que influencia substancialmente a sua polaridade, tornando difícil o desenvolvimento de um método para extração de todos os compostos desta natureza presentes em diferentes matrizes alimentares. Fatores como a composição e polaridade da solução extratora, tempo de extração, temperatura, pH, relação sólido:líquido e tamanho da partícula podem influenciar a eficiência da extração de compostos fenólicos e antioxidantes em frutas (POMPEU; SILVA; ROGEZ, 2009).

A extração de compostos fenólicos e antioxidantes é uma importante ferramenta para recuperação e purificação desses compostos bioativos. A solubilidade dos compostos fenólicos e antioxidantes é governada pela polaridade do solvente extrator utilizado, o que pode influenciar significativamente na eficiência da extração, refletindo na maior ou menor recuperação destes compostos. Neste sentido, é necessário que ocorra uma seleção adequada de solventes para a extração, e um estudo para a otimização da extração destes compostos em cada matriz alimentar, utilizando o tipo e a proporção mais adequada de solventes.

Na literatura existe uma quantidade considerável de trabalhos que avaliam teores de compostos fenólicos e antioxidantes em alimentos, porém, não há uma padronização das condições de extração específicas para cada matriz alimentar. Dessa forma, os resultados obtidos tornam-se difíceis de comparar, pois apenas o conteúdo final extraído de compostos fenólicos e antioxidantes é quantificado (SPIGNO; TRAMELLI; FAVERI, 2007). O processo de extração deve fornecer o máximo rendimento das substâncias de interesse, assim sendo, objetivou-se neste estudo otimizar as condições de extração de compostos fenólicos e antioxidantes da polpa de abacate da variedade Quintal por meio da aplicação de um planejamento simplex-centróide.

2. Material e Métodos

2.1 Material

Os abacates da variedade Quintal foram obtidos no comércio local da cidade de Francisco Beltrão/PR. Foram selecionados frutos maduros, com adequada firmeza da polpa, teor de sólidos solúveis de 7 a 8 °Brix, sendo descartados os que apresentassem injúrias físicas ou contaminação visível.

2.2 Métodos

2.2.1 Planejamento de misturas do tipo simplex-centroide para escolha da mistura de solventes com maior poder extrator dos compostos fenólicos e antioxidantes

Para otimizar a extração de compostos fenólicos e antioxidantes do abacate foi utilizado o planejamento experimental para misturas do tipo simplex-centroide (SCHEFFÉ, 1963) com quatro componentes de diferentes solventes extratores (X_1 = água, X_2 = acetona, X_3 = etanol e X_4 = metanol) totalizando 16 ensaios (Figura 1). O planejamento experimental do tipo simplex-centroide, originalmente descrito por Scheffé (1963) é um planejamento para misturas que pode ser representado por um triângulo, para três componentes ou um tetraedro para quatro componentes. Para explorar as condições de mistura do espaço inteiro, as misturas usadas são os pontos situados nos vértices e no meio das arestas, no qual cada ponto representa uma combinação dos componentes da mistura. Os pontos 1, 2, 3 e 4 (vértices do triângulo) corresponderam aos solventes água, acetona, etanol e metanol, respectivamente. Os pontos 5 a 10 são as misturas binárias de dois solventes. Os pontos 11 a 14 são as misturas ternárias e os pontos 15 e 16 são as misturas quaternárias dos solventes.

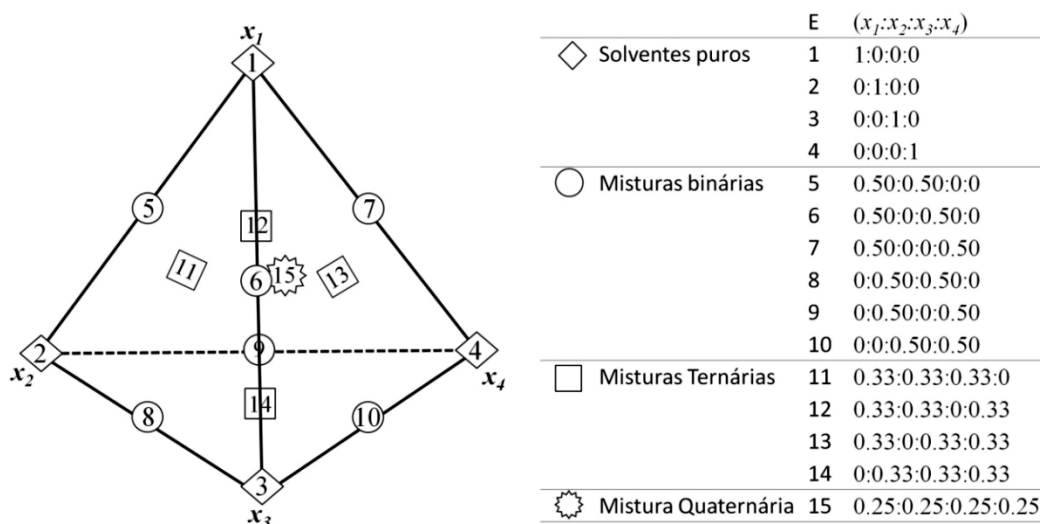


Figura 1. Planejamento experimental simplex-centroide com 4 componentes.
Fonte: SCHEFFÉ, 1963.

2.2.2 Extração e quantificação dos compostos fenólicos e antioxidantes

Foram pesados cerca de 3 g de amostra de abacate *in natura* e adicionados 8 mL de solvente extrator, conforme planejamento experimental (Figura 1). A extração dos compostos fenólicos e antioxidantes foi realizada conforme metodologia descrita por Pereira *et al.* (2013), com modificações. As amostras foram agitadas em *shaker* por 1 h a 150 rpm, seguidas de centrifugação a 3940 g/15 min a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e submetido às determinações de compostos fenólicos e atividade antioxidante.

Os compostos fenólicos foram quantificados de acordo com o método de Folin-Ciocalteu descrito por Swain e Hillis (1959), utilizando curva padrão de ácido gálico

(0,02 a 0,07 mg.mL⁻¹) e o resultado expresso como mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de amostra (mg EAG.100g⁻¹).

A atividade antioxidante dos diferentes extratos foi medida pela capacidade do composto avaliado em doar íons hidrogênio ao radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•) segundo o método descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Foi utilizada uma curva padrão de Trolox (10 a 1000 µmol.L⁻¹) e os resultados foram expressos em µmol Trolox.g⁻¹ de amostra.

A atividade antioxidante também foi avaliada pelo seqüestro do cátion radical ABTS^{•+}, segundo o método proposto por Larrauri, Rupérez e Saura-Calixto (1997). Foi utilizado uma curva padrão de Trolox (100 a 2000 µmol.L⁻¹) e os resultados foram expressos como µmol Trolox.g⁻¹ de amostra.

2.2.3 Análise dos dados

Os 16 ensaios compostos pelas diferentes misturas dos solventes extratores foram avaliados pelas seguintes funções respostas: y_1 = compostos fenólicos (mg EAG.100g⁻¹), y_2 = Atividade antioxidante medida pelo método ABTS (µmol de Trolox.g de amostra⁻¹), y_3 = Atividade antioxidante medida pelo método DPPH (µmol de Trolox.g de amostra⁻¹). O modelo canônico de Scheffé (1963) (Equação 1) foi ajustado aos dados experimentais e testados os modelos linear, quadrático e cúbico para a obtenção dos respectivos coeficientes de regressão.

$$y = \sum_{i=1}^q b_i^* x_i + \sum_{i<j}^q \sum_j^q b_{ij}^* x_i x_j + \sum_{i<j}^q \sum_{j<k}^q \sum_k^q b_{ijk}^* x_i x_j x_k + \dots + b_{12\dots q}^* x_1 x_2 \dots x_q \quad (\text{Equação 1})$$

Em que, y = função da estimativa da resposta, b_i^* coeficientes estimados da regressão, x_i = são os níveis codificados das dependentes, sendo $-1 < x_i < 1$ e $\sum x_i = 0$.

A qualidade do ajuste dos modelos aos dados experimentais foi verificada pela análise de variância (ANOVA) da regressão e coeficiente de determinação (R^2). As repetições forneceram os graus de liberdade para obter o erro puro e conseqüentemente, a análise da falta de ajuste. Todos os cálculos e construções dos gráficos foram realizados utilizando o programa *Statistica* 10.0 (StatSoft Inc, 2011). A partir das funções respostas investigadas as combinações foram otimizadas a partir dos gráficos gerados da superfície de resposta e parâmetros de desejabilidade.

3. Resultados e Discussão

A partir dos valores médios das respectivas funções respostas (Tabela 1) dos 16 ensaios realizados e aplicação do planejamento experimental de misturas simplex-centroide (Figura 1), foram obtidos os modelos das equações $\hat{y}_1$ (teor de compostos fenólicos), $\hat{y}_2$ (atividade antioxidante pelo método ABTS), $\hat{y}_3$ (atividade antioxidante pelo método DPPH) com os seus respectivos coeficientes de regressão e análise de variância dos modelos matemáticos (Tabela 2). Os modelos matemáticos $\hat{y}_1$, $\hat{y}_2$, $\hat{y}_3$, apresentaram efeitos linear, quadrático e cúbicos significativos ao nível de 95% de probabilidade. As equações dos modelos matemáticos não apresentaram falta de ajuste significativa ($p > 0,05$) e os coeficientes de determinação R^2 (Tabela 2) foram respectivamente de 0,99, 0,98 e 0,97. Portanto, estes modelos foram satisfatórios para explicar o efeito dos solventes água, acetona, etanol e metanol na extração dos compostos fenólicos e antioxidantes da polpa do abacate.

Tabela 1. Coeficientes de regressão e análise de variância dos modelos matemáticos.

Ensaio	Variáveis				Funções-resposta*		
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	Y ₁	Y ₂	Y ₃
1	1,00	0,00	0,00	0,00	18,77	1,04	0,42
2	0,00	1,00	0,00	0,00	23,73	2,01	0,74
3	0,00	0,00	1,00	0,00	23,11	1,85	0,98
4	0,00	0,00	0,00	1,00	19,01	2,07	1,19
5	0,50	0,50	0,00	0,00	33,75	2,74	1,44
6	0,50	0,00	0,50	0,00	27,56	2,00	0,82
7	0,50	0,00	0,00	0,50	27,85	2,13	0,00
8	0,00	0,50	0,50	0,00	20,48	1,94	1,05
9	0,00	0,50	0,00	0,50	23,99	1,93	1,14
10	0,00	0,00	0,50	0,50	25,54	2,05	1,15
11	0,33	0,33	0,33	0,00	29,97	2,44	1,07
12	0,33	0,33	0,00	0,33	28,46	2,27	1,26
13	0,33	0,00	0,33	0,33	28,34	2,39	1,34
14	0,00	0,33	0,33	0,33	21,66	1,99	1,08
15	0,25	0,25	0,25	0,25	28,03	2,32	1,29
16	0,25	0,25	0,25	0,25	28,30	2,44	1,24

ajustados às variáveis resposta.

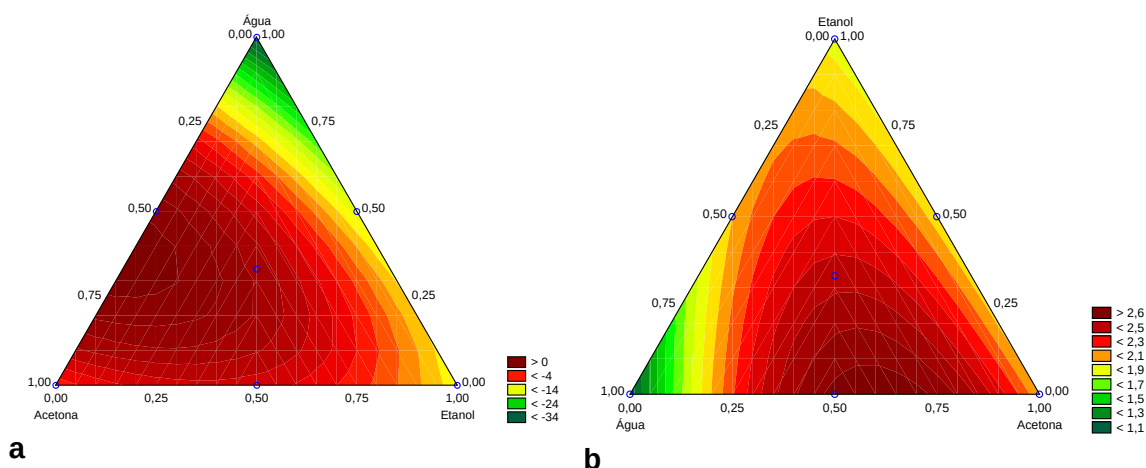
* X₁=Água, X₂=Acetona, X₃=Etanol e X₄=Metanol. **Y₁=Compostos fenólicos (mg EAG.100 g⁻¹), Y₂= Capacidade antioxidante pelo método ABTS (μmol de Trolox/g de amostra) e Y₃= Capacidade antioxidante pelo método DPPH (μmol de Trolox/g de amostra).

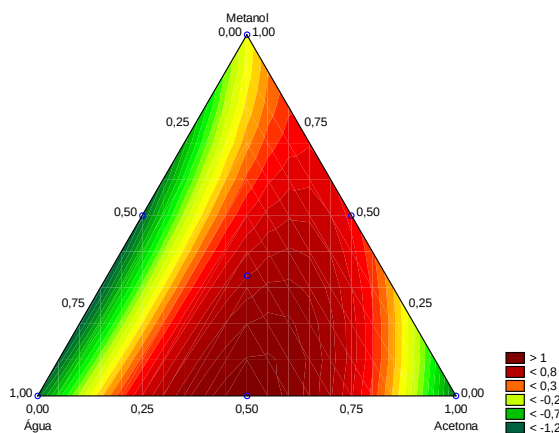
Tabela 2. Coeficientes de regressão e análise de variância dos modelos matemáticos ajustados às variáveis resposta.

Coeficientes	Variáveis Resposta*		
	y ₁	y ₂	y ₃
<i>Linear</i>			
β ₁	18,78*	1,04*	0,45*
β ₂	23,73*	1,97*	0,79*
β ₃	23,12*	1,89*	1,08*
β ₄	19,02*	2,06*	1,19*
<i>Quadrático</i>			
β ₁₂	49,59*	4,90*	3,33*
β ₁₃	26,05*	2,13*	-
β ₁₄	35,43*	2,28*	-3,24*
β ₂₃	-12,16*	-	-
β ₂₄	10,06*	-	0,63
β ₃₄	17,49*	-	-
<i>Cúbico</i>			
β ₁₂₃	36,70*	1,14	-2,95
β ₁₂₄	-	-5,64*	8,80*
β ₁₃₄	-	6,83*	20,21*
β ₂₃₄	-	-	-1,49
R ²	0,99	0,98	0,97
Falta de ajuste (p)	0,14	0,80	0,28

*y₁=Compostos fenólicos (mg EAG.100g⁻¹), y₂= Capacidade antioxidante pelo método ABTS (μmol de Trolox.g⁻¹ de amostra) e y₃= Capacidade antioxidante pelo método DPPH (μmol de Trolox.g⁻¹ de amostra).

Para a função-resposta compostos fenólicos ($\hat{y}_1$), foram considerados os termos lineares, quadráticos e cúbicos significativos. O teor de compostos fenólicos na polpa de abacate variou de 18,77 a 33,75 mg EAG.100g⁻¹ (Tabela 1). Pelos coeficientes da equação ($\hat{y}_1$) as variáveis X_2 (acetona) e X_3 (etanol) apresentaram maior contribuição quando utilizadas sem a combinação com outro solvente, sendo que o efeito das variáveis foi potencializado quando utilizada a combinação das variáveis X_1 (água) e X_2 (acetona), o que pode ser confirmado pelo valor elevado do coeficiente β_{12} (49,59) e pelo valor de compostos fenólicos obtidos no ensaio 5 (Tabela 1) (33,75 mg EAG.100g⁻¹). Isto indica a importância de utilizar a ferramenta de superfície de resposta na otimização da extração, uma vez que é possível investigar toda a região experimental e as diferentes combinações de solventes, com um número reduzido de experimentos. Analisando a superfície de resposta (Figura 2a) observa-se que há uma tendência de aumentar o teor de compostos fenólicos com o aumento na proporção de acetona e água utilizados na mistura de solventes extratores. Em estudo realizado por Soong e Barlow (2004), foi obtido teor de 1,3 mg EAG.g⁻¹ para amostras de abacate, de outra variedade, utilizando os solventes extratores água (50%) e etanol (50%). Wang, Bostic e Gu (2010) analisaram polpa de abacates de diferentes variedades, cujos compostos fenólicos foram extraídos por uma mistura de água, acetona e ácido acético, e obtiveram valores que variaram de 0,6 a 4,9 EAG.g⁻¹, sendo que valores mais elevados de compostos fenólicos foram obtidos na semente (até 51,6 EAG.g⁻¹) e na casca (13,9 EAG.g⁻¹). A composição fenólica dos frutos, como o abacate, é determinada por fatores genéticos e ambientais, e pode ser modificada por reações oxidativas que ocorrem durante a pós-colheita, resultado do processamento e/ou estocagem (TOMÁS-BARBERÁN; ESPÍN, 2001), o que pode explicar os resultados distintos obtidos neste trabalho em relação aos dados da literatura. Além disso, muitos estudos têm mostrado que os compostos fenólicos geralmente diminuem em frutos climatérios durante o amadurecimento, como consequência das condições de armazenamento (HAARD; CHISM, 1996; MITRA; BALDWIN, 1997).





C

Figura 2. Superfície de resposta para y_1 = Compostos fenólicos ($\text{mg EAG} \cdot 100\text{g}^{-1}$) (a), y_2 = Capacidade antioxidante pelo método ABTS ($\mu\text{mol de Trolox} \cdot \text{g de amostra}^{-1}$) (b) e y_3 = Capacidade antioxidante pelo método DPPH ($\mu\text{mol de Trolox} \cdot \text{g de amostra}^{-1}$) (c) para misturas dos solventes água, acetona, etanol e metanol.

A capacidade antioxidante quantificada pelo método ABTS na polpa de abacate variou de 1,04 a 2,74 $\mu\text{mol de Trolox} \cdot \text{g}^{-1}$ de amostra (Tabela 1). Para as diferentes misturas dos solventes extratores água, acetona, etanol e metanol a função-resposta y_2 (atividade antioxidante pelo método ABTS) apresentou os termos lineares, quadráticos e cúbicos significativos, sendo que um dos termos cúbico não foi significativo, mas foi mantido na equação devido a sua contribuição no ajuste do modelo matemático (Tabela 2). A variável X_4 (metanol) apresentou mais expressiva contribuição quando utilizada como solvente único na extração, porém, maior contribuição foi observada quando se utilizou as variáveis X_1 (água) e X_2 (acetona) em combinação (ensaio 5) (Tabela 1). Analisando a superfície de resposta (Figura 2b) observa-se que também há uma tendência de aumentar a atividade antioxidante medida pelo método ABTS com o aumento na proporção de acetona e água utilizados na mistura de solventes extratores. Menor atividade antioxidante medida pelo método ABTS pode ser observada quando foi utilizado apenas água (X_1) como solvente extrator (Figura 2b). Em estudo realizado por Soong e Barlow (2004), foi obtido 4,9 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ para amostras de abacate, de outra variedade, utilizando os solventes extratores água (50%) e etanol (50%), portanto, valores superiores aos encontrados neste estudo com o mesmo par de solventes (2,0 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$).

A capacidade antioxidante quantificada pelo método DPPH na polpa de abacate variou de 0,00 a 1,44 $\mu\text{mol de Trolox} \cdot \text{g}^{-1}$ de amostra (Tabela 1). Para as diferentes misturas dos solventes extratores água, acetona, etanol e metanol a função-resposta y_3 (atividade antioxidante pelo método DPPH) apresentou os termos lineares, quadráticos e cúbicos significativos, sendo que alguns termos quadráticos e cúbicos não foram significativos, mas foram mantidos na equação devido a sua contribuição no ajuste do modelo matemático (Tabela 2). A variável X_4 (metanol) apresentou contribuição mais relevante quando utilizada como solvente único na extração, assim como ocorreu na função resposta y_2 (atividade antioxidante pelo método ABTS). Maior contribuição foi observada quando se utilizou as variáveis X_1 (água) e X_2 (acetona) em combinação (ensaio 5) (Tabela 1) e menor contribuição foi observada para a combinação das variáveis X_1 (água) e X_4 (metanol), indicando que a mistura destes solventes diminui a

extração dos compostos antioxidantes quantificados pelo método DPPH. Ainda, observando os coeficientes do modelo obtido, pode-se observar que maiores teores de compostos antioxidantes são recuperados utilizando uma mistura de solventes X_1 (água), X_2 (acetona) e X_4 (metanol) ou X_1 (água), X_3 (etanol) e X_4 (metanol). Analisando a superfície de resposta (Figura 2c) observa-se que há uma tendência de aumentar a atividade antioxidante medida pelo método DPPH com o aumento na proporção de acetona e água utilizados na mistura de solventes extratores, e que valores elevados de atividade antioxidante também podem ser obtidos com a mistura acetona (X_2) e metanol (X_4) e com a utilização dos demais solventes. Menor atividade antioxidante medida pelo método DPPH foi observada quando foram utilizadas apenas água (X_1) ou acetona (X_2) como solventes extratores (Figura 2c). Wang, Bostic e Gu (2010) analisaram polpa de abacates de diferentes variedades, sendo os compostos antioxidantes extraídos por uma mistura de água, acetona e ácido acético; os autores obtiveram valores de atividade antioxidante, quantificado pelo método DPPH, de 0,4 a 1,4 $\mu\text{mol de Trolox.g}^{-1}$ de amostra, sendo que valores mais elevados de antioxidantes foram obtidos na semente (até 240,2 $\mu\text{mol de Trolox.g}^{-1}$) e na casca (189,8 $\mu\text{mol de Trolox.g}^{-1}$). Apesar do conteúdo de compostos fenólicos totais não necessariamente estar envolvido na quantificação da atividade antioxidante, os resultados obtidos neste estudo apresentaram a mesma tendência, indicando a efetividade de utilizar um método de extração aplicável paralelamente à análise de compostos fenólicos e atividade antioxidante.

Um grande problema na área de alimentos é a multiplicidade de funções-respostas em um planejamento experimental que se deseja otimizar. Quando várias funções-respostas estão envolvidas, como no caso deste estudo, emprega-se o termo otimização de respostas combinadas ou desejabilidade para determinar a mistura que proporcione as melhores propriedades. O gráfico da desejabilidade (Figura 3) apresenta as proporções ótimas dos solventes água, acetona, etanol e metanol para extração de compostos fenólicos e compostos antioxidantes quantificados pelos métodos ABTS e DPPH da polpa do abacate.

Como estas quantificações são realizadas, geralmente, a partir de um único extrato do alimento, é necessário encontrar uma condição que seja ótima para todas as funções-respostas avaliadas. Neste sentido, foi possível prever uma região ótima de mistura dos solventes para extração dos compostos de interesse partir da análise das funções resposta estimadas $\hat{y}_1$, $\hat{y}_2$, $\hat{y}_3$ (Tabelas 1 e 2), superfície de resposta (Figura 2) e parâmetros de desejabilidade (Figura 3). A desejabilidade global da mistura de solventes com maior poder extrator (Figura 3) ocorreu quando $x_1=0,5$, $x_2=0,5$ e $x_3=0$ e $x_4=0$, que corresponde a condição de 50% de água, 50% de acetona, 0% de etanol e 0% de metanol, que coincidiu com o ensaio 5 (Tabela 1) e, portanto, não houve a necessidade de validar o modelo proposto.

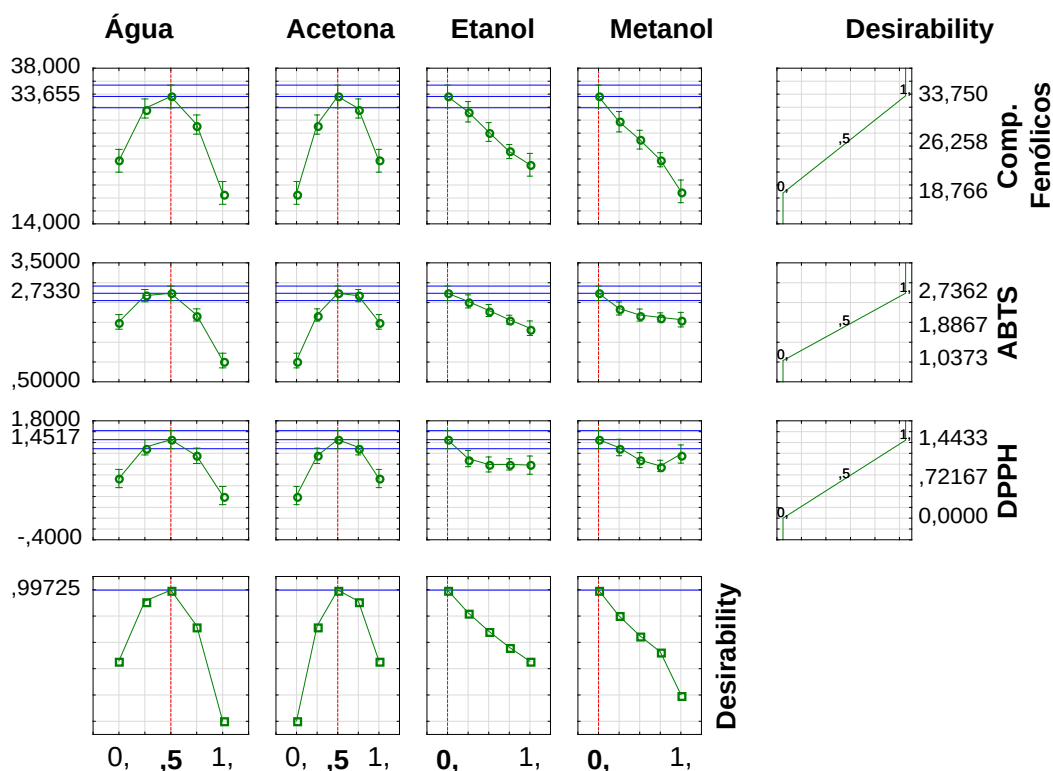


Figura 3. Proporções ótimas dos solventes: água, acetona, etanol e metanol para a extração de compostos fenólicos (y_1), capacidade antioxidante por ABTS (y_2) e capacidade antioxidante por DPPH da polpa do abacate utilizando o parâmetro de desejabilidade.

4. Conclusão

O planejamento experimental para misturas do tipo simplex-centroide demonstrou ser aplicável e de grande utilidade para avaliação de compostos bioativos em polpa de abacate. A partir da otimização de respostas combinadas foi possível determinar a combinação de solventes mais efetiva para extração de compostos fenólicos e antioxidantes da polpa de abacate variedade Quintal. A mistura de 50% de água e 50% de acetona revelou-se a mais apropriada para os propósitos avaliados.

5. Referências

- ADA. American Dietetic Association. Position of The American Dietetic Association: Functional foods. **Journal of the American Dietetic Association**, v.99, p.1278–1285, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(99\)00314-4](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(99)00314-4).
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**, v.28, p.25-30, 1995. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- GEISSMAN, T. A.; DITTMAR, H. F. K. A proanthocyanidin from avocado seed. **Phytochemistry**, v.4, p.359–368, 1965. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)86188-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)86188-9).

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M. Characterization of avocado (*Persea americana* Mill.) varieties of very low oil content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p.3643-3647, 1998. <https://doi.org/10.1021/jf9706890>.

JACOBO-VELÁZQUEZ, D.A.; HERNÁNDEZ-BRENES, C. Stability of avocado paste carotenoids as affected by high hydrostatic pressure processing and storage. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.16, p.121–128, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.05.001>.

KEVERS, C. *et al.* Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.21, p.8596–8603, 2007. <https://doi.org/10.1021/jf071736j>.

HAARD, N. F.; CHISM, G. W. Characteristics of edible plant tissues. In: DAMODARAN, S. **Fennema's food chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1996, p.943-1011.

LARRAURI, J.A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 45, p.1390-1393, 1997. <https://doi.org/10.1021/jf960282f>.

LEE, J.; KOO, N.; MIN, D. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.3. n.1, p.21–33, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2004.tb00058.x>.

LU, Q.Y. *et al.* Inhibition of prostate cancer cell growth by an avocado extract: Role of lipid-soluble bioactive substances. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.16, p.23–30, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2004.08.003>.

LUTHRIA, D. L. Significance of sample preparation in developing analytical methodologies for accurate estimation of bioactive compounds in functional foods. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v.86, p.2266-2272, 2006. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2666>.

LUTHRIA, D.L. Influence of experimental conditions on the extraction of phenolic compounds from parsley (*Petroselinum crispum*) flakes using a pressurized liquid extractor. **Food Chemistry**, v.107, p.745–752, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.074>.

MITRA, S. K.; BALDWIN, E. A. Mango. In: MITRA, S. K. (Ed.). **Postharvest physiology storage of tropical and subtropical fruit**. New York: CAB Internacional, 1997. 431 p

PEREIRA, M.C. *et al.* Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of three Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.29, p.19-24, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2012.07.013>.

POMPEU, D. R.; SILVA, E. M.; ROGEZ, H. Optimization of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology. **Bioresource Technology**, v.100, p.6076-6082, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.03.083>.

RAMARATHNAM, N. *et al.* The contribution of plant food antioxidants to human health. **Trends in Food Science and Technology**, v.6, p.75–82, 1995. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)88967-0](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)88967-0).

- ROBBINS, R. J. Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.51, p.2866-2887, 2003. <https://doi.org/10.1021/jf026182t>.
- SAMPAIO, A. C.; LEONEL, S. **Abacate: aspectos técnicos da produção**. Universidade Estadual Paulista: Cultura Acadêmica Editora, São Paulo, SP, 2008.
- SCHEFFÉ, H. The simplex-centroid design for experiments with mixtures. **Journal of the royal statistical society. Series B (Methodological)**, 25, n.2, p.235-263, 1963. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1963.tb00506.x>.
- SOONG, Y.Y.; BARLOW, P.J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**, v.88, p.411–417, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.003>.
- SPIGNO, G.; TRAMELLI, L.; FAVERI, D.M. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. **Journal of Food Engineering**, v.81, p.200–208, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.021>.
- SWAIN, T.; HILLIS, W. T. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. **Journal of Science and Food Agriculture**, v.10, p.135-144, 1959. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>.
- TOMÁS-BARBERÁN, F.; ESPÍN, J. C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, p. 853- 876, 2001. <https://doi.org/10.1002/jsfa.885>.
- WANG, W.; BOSTIC, T.R.; GU, L. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. **Food Chemistry**, v.122, n.4, p.1193–1198, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.114>.

Autores

Tahís Regina Baú¹, Carla Rosane Barboza Mendonça^{2,*}

1. Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* em Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil; Instituto Federal de Santa Catarina, CEP 89900-000, São Miguel do Oeste/SC, Brasil

2. Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil

*Autor para correspondência: carlaufpel@hotmail.com

CAPÍTULO 3

Caracterização dos compostos voláteis e óleos essenciais de sete-capotes (*Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg)

Raquel Guidetti Vendruscolo, Roger Wagner, Bruna Tischer, Daniele de Freitas Ferreira, Francine Novack Victoria

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-3-8.c3>

Resumo

O sete-capotes (*Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg) é um fruto nativo típico da América do Sul, pertencente à família das Mirtáceas, de cor verde-amarelado, pequeno, de polpa subglobosa que possui sabor e aroma intensos. Contudo, existem poucos relatos na literatura sobre a caracterização da fração volátil de sete-capotes. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi analisar os compostos voláteis presentes na polpa e dos óleos essenciais das cascas e sementes dos frutos de sete-capotes. As amostras foram coletadas na flora nativa da cidade de Tuparendi, Rio Grande do Sul - Brasil. Os compostos voláteis da polpa foram extraídos pela técnica de SPME (DVB/Car/PDEM). Os óleos essenciais foram extraídos a partir de 100 g de casca e 50 g de semente em aparato do tipo Clevenger. Ambas frações voláteis foram dessorvidas em cromatógrafos de fase gasosa equipado com um detector de ionização de chama (CG-DIC) e espectrômetro de massas (CG/EM) para a quantificação e identificação, respectivamente. Foram identificados 81 compostos no *headspace* da polpa pertencentes a diferentes classes químicas. A classe dos terpenos foi a que apresentou maior número de compostos, como (E) β -ocimeno, L-mentol e linalol. Enquanto o 1-hexanol, o hexanal e o (E)-2-hexenol, compostos de degradação dos ácidos linoleico e linolênico, foram os compostos majoritários, representando 41,58% da área total do cromatograma. Foram detectados cerca de 60 compostos nos óleos essenciais de sete-capotes, destes 24 foram identificados. Os óleos das cascas e sementes foram qualitativamente semelhantes, apresentando predominância de monoterpenos hidrocarbônicos. Os compostos majoritários foram β -ocimeno (Z), o nerolidol (E) e o limoneno. Assim, o perfil volátil de sete-capotes se mostrou rico em compostos descritores de odores herbáceo, amadeirado e floral.

Palavras-chave: cromatografia gasosa, micro extração em fase sólida, mirtácea, óleos essenciais.

1. Introdução

O Brasil apresenta a flora mais diversificada do mundo, constituída por uma infinidade de espécies frutíferas nativas com potencial para alimentação e industrialização. Porém, muitas dessas espécies são pouco exploradas e têm seu consumo restrito as áreas em que se desenvolvem naturalmente (INFANTE *et al.*, 2016). Por outro lado, há um grande interesse por parte dos consumidores em frutos de sabores e aromas

diferenciados, principalmente quando aliados a elevado valor nutricional e a propriedades funcionais (AYSELI; AYSELI, 2016).

A família das Mirtáceas se destaca no Brasil por apresentar o maior número de espécies com potencial alimentar, mas sua exploração comercial ainda é restrita (PEREIRA *et al.*, 2012). A goiaba (*Psidium guajava* L.), a pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e a jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) são amplamente difundidas no mercado, mas representam uma pequena fração do potencial econômico desta família, visto que uma grande quantidade de frutos é produzida por espécies não comerciais ou pouco conhecidas (FERREIRA *et al.*, 2016), como a *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg.

A espécie *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg (Figura 1) comumente conhecida por sete-capotes, distribui-se de forma natural no Nordeste da Argentina, Leste do Paraguai e no Brasil, do Rio Grande do Sul a Bahia (LIMA; GOLDENBERG; SOBRAL, 2011). A espécie se apresenta na forma de arbustos ou árvores, possui frutos pequenos, do tipo baga, subglobosos, de cor verde-amarelado quando atingem a maturação, sua casca possui sabor amargo, porém sua polpa é carnosa e apresenta aroma intenso e agradável (CARVALHO, 2008; LORENZI, 2002).



Figura 1. *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O.Berg.
Fonte: ROTHER, 2008.

Atualmente, o interesse pelos frutos das espécies da família das Mirtáceas tem aumentado, devido a seu aroma exótico, baixo custo, alto teor de vitaminas e ampla aplicabilidade industrial (MARIN *et al.* 2008). Destaca-se também a presença de óleos essenciais, metabólitos secundários de elevado impacto odorífero, que além de contribuir para o aroma dos frutos, apresentam atividade antibacteriana, anti-inflamatória, fungicida, antiviral e antioxidante (SIDDIQUE *et al.* 2017).

O odor dos frutos de diversas espécies da família das Mirtáceas, está relacionado a compostos voláteis como ésteres, aldeídos, álcoois, terpenos e seus derivados (FERREIRA *et al.*, 2016; JÓRDAN *et al.*, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2006; QUIJANO; PINO, 2007), constituintes que vem a contribuir significativamente para a caracterização e identificação da espécie vegetal, como também em sua avaliação sensorial e aceitação pelos consumidores (BICAS *et al.*, 2011). Entretanto, não foram encontrados na literatura estudos a respeito da caracterização da fração volátil dos frutos de *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg.

Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi realizar a caracterização dos compostos voláteis da polpa e do óleo essencial das cascas e sementes dos frutos de sete-capotes.

2. Material e Métodos

2.1 Material

Os frutos de sete-capotes foram colhidos em dezembro de 2011 na cidade de Tuparendi, Rio Grande do Sul, Brasil, localizada na latitude 27° 51' 52,47" Sul, longitude 54° 28' 10,30" oeste. As amostras foram mantidas congeladas a -20 °C até a realização das análises. Anteriormente a extração dos compostos voláteis da polpa e dos óleos essenciais, os frutos foram descascados congelados e a polpa separada das sementes manualmente. Após, a polpa foi homogeneizada em multiprocessador e centrifugada a 670×g em centrífuga MTD III *Plus* (Logen Cientific, Brasil). Parte do sobrenadante da polpa centrifugada foi disposto em frasco de amostragem de *headspace*, já as cascas e sementes destinadas a extração dos óleos essenciais.

2.2 Métodos

2.2.1 Extração dos compostos voláteis da polpa

Os compostos voláteis da polpa foram isolados pela técnica de microextração em fase sólida aplicada ao *headspace* (HS-SPME). Assim, cerca de 10 mL de amostra centrifugada foram adicionados de 3,0 g de NaCl em frasco âmbar de 20 mL e tampado com septo de PTFE. A extração foi realizada pela exposição da fibra DVB/Car/PDEM (Divinylbenzene/ Carboxen/Polydimethylsiloxane, 50/30 µm × 20 mm) (Supelco, Bellefonte, PA, USA) no *headspace* do frasco contendo a amostra por 45 min a 35 °C, sob agitação constante. A extração da amostra foi precedida de 5 min de equilíbrio sem a exposição da fibra, também sob agitação e mesma temperatura de extração.

2.2.2 Análises cromatográficas dos compostos voláteis da polpa

A análise quantitativa dos compostos voláteis (CV) foi realizada em um cromatógrafo a gás equipado com detector de ionização em chama (CG-DIC) da marca Varian, modelo Star 3400CX (CA, USA). Os compostos voláteis da fibra de SPME foram dessorvidos termicamente em um injetor do tipo *split/splitless*, operando no modo *splitless* (por 2 min) e temperatura de 230 °C. A fibra permaneceu exposta no injetor nestas condições por 10 min para minimizar o efeito *carry-over* de uma amostra para outra. A separação dos CV ocorreu em uma coluna capilar CP-WAX (Middelburg, Netherlands) (60 m × 0,25 mm × 0,25 µm). A temperatura inicial da coluna foi mantida a 35 °C por 1 min e após foi aumentada até 120 °C com a rampa de temperatura de 2 °C/min. Após a temperatura foi elevada a 230 °C com rampa de 5 °C/min, onde permaneceu em isoterma por 5 min. Foi utilizado gás hidrogênio como gás de arraste com pressão constante de 30 psi. A temperatura do detector de ionização em chama foi mantida a 250 °C. Os resultados foram expressos em áreas percentuais da área total do cromatograma.

A análise qualitativa foi realizada em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (CG/EM) da marca Shimadzu, modelo CG/EM QP-2010 *Plus* (Kyoto, Japan), utilizando a mesma coluna e condições cromatográficas descritas anteriormente, porém o gás hélio foi utilizado como gás de arraste. O detector de massas foi operado no modo de ionização por elétrons a +70 eV, com o analisador de massas do tipo quadrupolo no modo de varredura na faixa de 35 a 350 m/z. A identificação dos compostos voláteis foi realizada através da comparação dos espectros de massas com aqueles fornecidos pela biblioteca NIST, além da

comparação dos índices de Kovats experimentais com os disponíveis na literatura (ACREE; HEINRICH, 2004; EL-SAYED, 2013).

2.2.3 Extração dos óleos essenciais das cascas e sementes

Os óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação em aparato do tipo Clevenger por 3 h. Para a extração das cascas foram utilizados 100 g de amostra e 400 mL de água destilada, já para as sementes 50 g de amostra e 300 mL de água destilada. Os óleos essenciais extraídos foram acondicionados em frascos do tipo Eppendorf e armazenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização das análises.

2.2.4 Análises cromatográficas dos óleos essenciais das cascas e sementes

A quantificação foi realizada pela injeção de $1\text{ }\mu\text{L}$ de óleo essencial diluído em hexano na proporção de 1:100 (volume/volume) em cromatógrafo a gás equipado com detector de ionização em chama (CG-DIC) da marca Varian, modelo Star 3400 (CA, USA). Os analitos foram separados em coluna capilar RTX-5EM (Restek-USA) ($30\text{ m} \times 0,25\text{ mm} \times 0,25\text{ }\mu\text{m}$). O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio à pressão constante de 25 psi. O injetor manteve-se no modo *split* com razão 30:1 e temperatura de $250\text{ }^{\circ}\text{C}$. A temperatura inicial da coluna foi de $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, onde permaneceu por 1 min, aumentando para $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ com taxa de $3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Após, com taxa de $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até atingir $125\text{ }^{\circ}\text{C}$ e então até $230\text{ }^{\circ}\text{C}$ com taxa de $15\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ mantendo-se em isoterma por 5 min. O detector manteve-se na temperatura de $230\text{ }^{\circ}\text{C}$. Os resultados foram expressos em áreas percentuais da área total do cromatograma.

A identificação dos compostos foi realizada pela análise em cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (CG/EM) da marca Shimadzu, modelo CG/EM QP-2010 *Plus* (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), utilizando a mesma coluna e condições cromatográficas descritas anteriormente, já o gás hélio foi utilizado como gás de arraste. O detector de massas foi operado no modo de ionização por elétrons a $+70\text{ eV}$, com o analisador de massas do tipo quadrupolo no modo de varredura na faixa de 35 a 350 m/z . A identificação dos compostos voláteis foi realizada através da comparação dos espectros de massas com aqueles fornecidos pela biblioteca NIST, além da comparação dos índices de Kovats experimentais com os disponíveis na literatura (ACREE; HEINRICH, 2004; EL-SAYED, 2013).

3. Resultados e Discussão

3.1 Compostos voláteis da polpa

Na polpa de sete-capotes foram detectados 175 picos por CG-DIC e destes, 81 foram identificados por CG/EM. Os compostos identificados foram classificados em sete classes químicas: terpenos (29 compostos), álcoois (16 compostos), ésteres (15 compostos), aldeídos (8 compostos), cetonas (7 compostos), ácidos (5 compostos) e furano (1 composto) (Tabela 1). Os compostos majoritários na polpa de sete-capotes foram o 1-hexanol (19,28%), hexanal (13,82%), (E)-2-hexenol (8,48%), etanol (7,11%), ácido hexanoico (4,74%), (E)-2-hexenal (4,65%), (Z)-3-hexenol (3,38%), (E)- β -ocimeno (3,15%), acetato de etila (2,24%) e o mentol (2,35%) (Figura 2).

Tabela 1. Compostos voláteis da polpa dos frutos de sete-capotes.

IK exp.	Composto	Área*	Área Relativa
Terpenos			

1151	α felandreno	3,12	0,15
1155	β mirceno	4,25	0,2
1183	Limoneno	3,94	0,19
1191	Sabineno	1,17	0,06
1197	1,8 cineol	13,12	0,63
1225	(Z) ocimeno	0,53	0,03
1242	(E) β ocimeno	65,26	3,15
1435	(Z) óxido de linalol	2,99	0,14
1547	Linalol	39,78	1,92
1559	(Z) sabineno	1,18	0,06
1581	(E) β cariofileno	3,4	0,16
1599	Terpineol	30,29	1,46
1644	Mentol	2,7	0,13
1662	α humuleno	2,06	0,1
1667	β ferneseno	3,03	0,15
1732	(E) oxido de linalol	1,15	0,06
1749	Farneseno	2,49	0,12
1752	δ cadineno	11,42	0,55
1781	L-mentol	48,73	2,35
1788	γ isogeraniol	2,02	0,1
1808	Isogeraniol	5,22	0,25
1822	(E) carveol	3,96	0,19
2024	β nerolidol	3,41	0,16
2037	Cubenol	2,51	0,12
2041	Epicubenol	5,24	0,25
2047	Globuol	1,43	0,07
2129	Elemol	2,72	0,13
2140	Espatulenol	0,45	0,02
2201	α cadinol	4,09	0,2
Área Total		271,66	13,1
Álcoois			
935	2-propanol	0,86	0,04
944	Etanol	147,41	7,11
1049	3-metil-2-buten-1-ol	37,02	1,79
1172	Penten-3-ol	12,16	0,59
1267	1-pentanol	6,53	0,31
1317	(Z)-2-penten-1-ol	19,66	0,95
1353	1-hexanol	399,75	19,28
1361	(E)-3-hexen-1-ol	41,06	1,98
1380	(Z)-3-hexen-1-ol	70	3,38
1402	(E)-2-hexen-1-ol	175,92	8,48
1405	5-hexen-1-ol	4,04	0,19
1410	(Z)-2-hexen-1-ol	4,71	0,23
1483	2-etil-1-hexanol	9,21	0,44
1542	2,3-butanediol	4,04	0,19

1556	1-octanol	1,88	0,09
1650	4-nonanol	5,04	0,24
Área Total		939,27	45,3

Ésteres

834	Acetato de metila	2,12	0,1
895	Acetato de etila	51,81	2,5
1020	Acetato de isobutila	10,34	0,5
1043	Butanoato de etila	40,3	1,94
1080	Acetato de butila	1,85	0,09
1167	2-butanoato de etila	18,87	0,91
1185	Hexanoato de metila	14,98	0,72
1230	Hexanoato de etila	15,48	0,75
1293	Acetato de hexila	29,48	1,42
1299	(Z)-3-hexanoato de etila	2,19	0,11
1296	3-hexanoato de etila	0,51	0,02
1308	Acetato de (Z)-3- hexen-1-ol	17,58	0,85
1327	Acetato de (E)-2-hexenil	9,6	0,46
1515	3-hidroxibutanoato de etila	7,87	0,38
1627	Benzoato de metila	7,39	0,36
Área Total		230,36	11,11

Aldeídos

817	2-metil propanal	6,69	0,32
888	2-metil 2-propenal	7,47	0,36
918	2-metil butanal	2,55	0,12
922	3-metil butanal	2,68	0,13
1091	Hexanal	286,45	13,82
1220	(E) 2-hexenal	96,43	4,65
1491	(E) 2,4-heptadienal	4,07	0,2
1520	Benzaldeído	0,97	0,05
Área Total		407,3	19,64

Cetonas

823	2-propanona	18,2	0,88
909	2-butanona	1,16	0,06
984	2-pentanona	20,48	0,99
1258	3-octanona	16,79	0,81
1296	3-hidroxi-2-butanona	3,86	0,19
1660	1-fenil etanona	1,67	0,08
1675	Criptona	2,64	0,13
Área Total		64,79	3,12

Ácidos

1630	Ácido butanoico	11,78	0,57
------	-----------------	-------	------

1824	Ácido hexanoico	98,34	4,74
1938	(E) 2-ácido hexanoico	26,85	1,29
2032	Ácido octanoico	2,77	0,13
2167	Ácido nonanoico	1,17	0,06
Área Total		140,92	6,8

Furano			
1162	2- propil furano	19,1	0,92
Área Total		19,1	0,92

IK Exp. - Índice de Kovats experimental
Área* - área x10⁻⁴

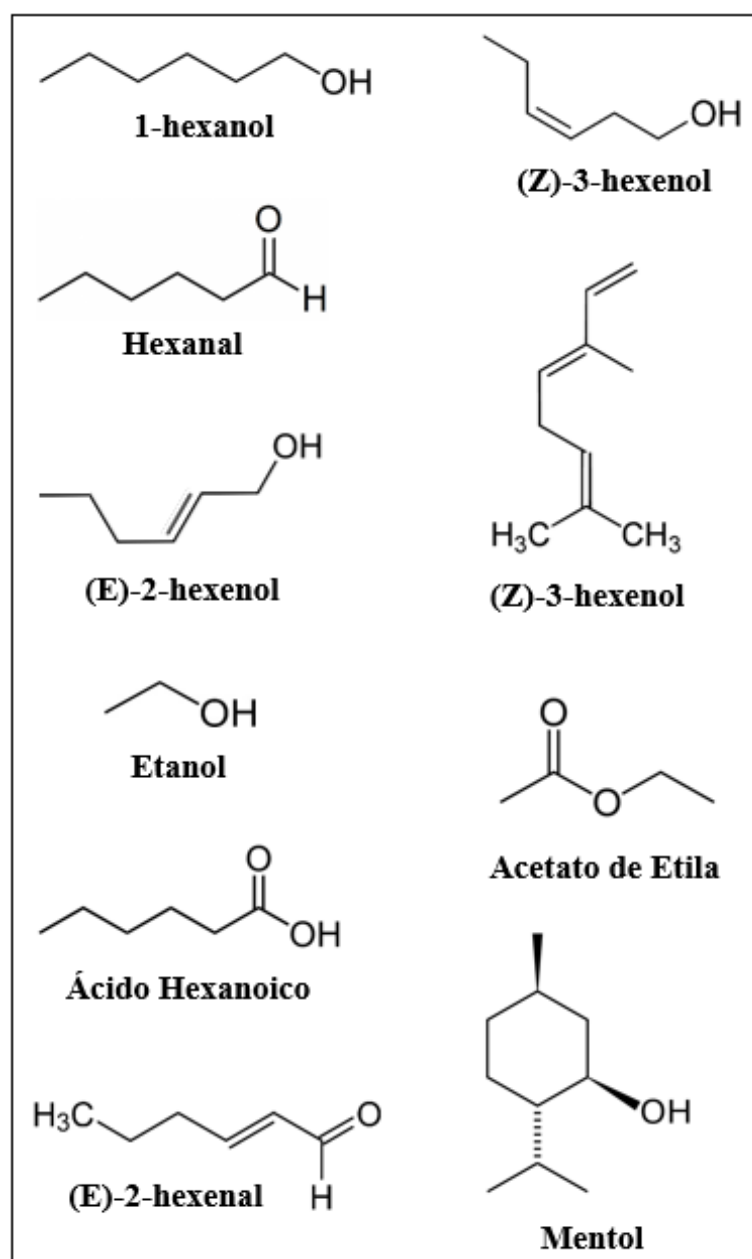


Figura 2. Estruturas químicas dos compostos majoritários da fração volátil da polpa de sete-capotes.

A classe dos terpenos foi a que apresentou o maior número de compostos na fração volátil da polpa de sete-capotes determinados pela técnica de HS-SPME. Os terpenos são comumente encontrados em frutos da família das Mirtáceas, visto que estes apresentam capacidade de síntese e armazenamento de óleos essenciais principalmente em suas cascas e sementes (FIGUEIREDO *et al.*, 2008). Os terpenos são formados a partir do metabolismo de carboidratos através da via isoprenoide ou ainda pela degradação de carotenoides (THOLL, 2006).

O terpeno majoritário presente na polpa de sete-capotes, o (E) β -ocimeno também foi reportado por Oliveira *et al.* (2006) como um dos compostos majoritários desta classe em pitangas. Apesar de o (E) β -ocimeno apresentar maior área, outros terpenos identificados na polpa de sete-capotes são reportados por apresentarem impacto odorífero superior, como L-mentol, linalol e 1,8-cineol, que apresentam odor de menta, floral e eucalipto, respectivamente (AMIRA *et al.*, 2011; MARIN *et al.*, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2006). Nos frutos de sete-capotes, esses compostos podem estar contribuindo com notas de odor herbáceo, floral e amadeirado.

Por outro lado, a classe majoritária da fração volátil em relação à área total dos compostos foi a dos álcoois (45,30%), seguida pelos aldeídos (19,64%). A formação dos álcoois, aldeídos, como também das cetonas ocorre pelo metabolismo de ácidos graxos através da via das lipoxigenases. Essa via de degradação origina compostos C6, C8 e C9, os compostos C6 e C9 são aldeídos e álcoois primários, enquanto os compostos C8 são cetonas e álcoois secundários, já que os aldeídos e cetonas são convertidos em álcoois correspondentes, que, normalmente, apresentam limiar de detecção mais elevado e odores mais fortes do que os compostos carbonílicos precursores. E os álcoois, por sua vez, originam os ésteres (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; ZHANG *et al.*, 2009).

Dentre os álcoois foram detectados em maior concentração o 1-hexanol (19,28%), o (E)-2-hexen-ol (8,48%) e o (Z)-3-hexen-1-ol (3,38%), já reportados como álcoois majoritários em frutos de goiaba (SCHREIER; IDSTEIN, 1985). Além destes, o etanol apresentou elevada concentração (7,11%), entretanto, pode ser proveniente da fermentação dos frutos durante as etapas do preparo de amostra.

O aldeído encontrado em maior concentração na fração volátil da polpa de sete-capotes, o hexanal também foi reportado por Macleod e Troconis (1982) como um dos compostos majoritários encontrados na composição volátil de goiaba. Além do hexanal, vários outros compostos C6, C8 e C9 provenientes da via das lipoxigenases são encontrados em abundância em outras mirtáceas como goiaba (JORDAN *et al.*, 2003), pitanga (OLIVEIRA *et al.*, 2006), jabuticaba (PLAGEMANN *et al.*, 2012) e araçá (PINO; MARBOT; VÁZQUEZ, 2001).

Embora os álcoois e aldeídos contribuam diretamente para o odor de frutas, os ésteres podem representar até 98% dos voláteis totais emitidos por frutas maduras sadias e são responsáveis por notas frutais e doces (VILLATORO *et al.*, 2008). Os ésteres podem ser formados a partir dos álcoois e estes por sua vez são provenientes da degradação de ácidos graxos ou ainda de aminoácidos. Dentre os ésteres destacaram-se o acetato de etila e o butanoato de etila.

A composição volátil da polpa de sete-capotes se assemelha qualitativamente a da *Campomanesia xantocarpa*, comumente conhecida como guabiroba. Alguns dos compostos 10 majoritários são comuns às duas espécies, como (E)-2-hexenal, etanol, hexanal, ácido hexanoico, 1-hexanol e (E)-2-hexenol (FERREIRA *et al.*, 2016). Neste mesmo estudo, foi realizada a análise olfatométrica através da técnica Osme e os

provadores associaram os aldeídos principalmente a notas verdes, já os álcoois receberam uma variedade de descrições como plástico, remédio, queimado, verde e floral.

3.2 Composição química dos óleos essenciais

A extração em aparato do tipo Clevenger foi realizada para as cascas, sementes e também para polpa dos frutos de sete-capotes, entretanto apenas cascas e sementes apresentaram óleos essenciais. A partir de 3 h foi atingindo o rendimento máximo na extração, 0,3% para as cascas e 1% para as sementes em base úmida. A quantidade de óleo essencial obtida para as cascas está de acordo com dados reportados na literatura para frutos de guabiroba (0,31%) (OLIVEIRA *et al.*, 2017), de jaboticaba (0,37%) (DUARTE *et al.*, 2010) e de pitanga (0,30%) (RODRIGUES *et al.*, 2013). Rendimentos superiores foram encontrados para goiaba (0,6%) (FASOLA; OLOYEDE; BABALOLA, 2011) e para araçá (0,8%) (ADAM *et al.*, 2011), mas ainda inferiores aos obtidos para sementes de sete-capotes.

Foram detectados cerca de 60 compostos nos óleos essenciais de sete-capotes, destes 24 foram identificados por CG/EM (Tabela 2). Os óleos essenciais das cascas e sementes apresentaram uma predominância de monoterpenos hidrocarbônicos (82,25 e 72,53%, respectivamente), seguida por sesquiterpenos oxigenados (14,50 e 18,70%, respectivamente), sesquiterpenos hidrocarbônicos (1,90 e 7,89, respectivamente) e baixas concentrações de monoterpenos oxigenados (1,35 e 0,88%, respectivamente).

Qualitativamente os óleos essenciais das cascas e sementes foram semelhantes, os compostos majoritários foram o β -ocimeno (Z), o nerolidol (E) e o limoneno. Foram observadas diferenças na concentração dos compostos entre os óleos obtidos, principalmente para os compostos α -copaeno, α -umuleno, α -amorfeno e γ -cadineno, presentes em concentrações superiores no óleo das sementes. Limberger *et al.* (2001) extraíram óleo essencial das folhas de sete-capotes e os compostos majoritários foram o nerolidol (E) (28,8%), espatulenol (27,7%) e mirceno (11,5%).

Tabela 2. Principais compostos do óleo essencial da casca e da semente de sete-capotes.

IK.exp	Composto	Área a*	Área Relativa a	Área b*	Área Relativa b
Monoterpenos Hidrocarbônicos					
923	α -tujeno	9,68	0,24	10,55	0,23
930	α -pineno	92,36	2,29	86,31	1,84
987	Mirceno	37,15	0,92	34,98	0,75
998	α -felandreno	141,41	3,51	162,72	3,47
1020	p-cimeno	46,43	1,15	26,91	0,57
1025	Linoneno	459,1	11,39	434,48	9,27
1049	β -ocimeno (Z)	2525,81	62,66	2621,06	55,92
1363	α -copaeno	3,65	0,09	22,51	0,48
Monoterpenos Oxigenados					
1379	p-menta-2,8-dien1-ol	54,25	1,35	41,32	0,88
Sesquiterpenos Hidrocarbônicos					

1404	Cariofileno (E)	40,06	0,99	116,68	2,49
1438	α -umuleno	10,89	0,27	68,88	1,47
1464	α -amorfenos	7,96	0,20	40,92	0,87
1498	γ -cadineno	11,31	0,28	98,1	2,09
1522	α -cadineno	2,62	0,06	25,98	0,55
1538	Germacreno B	3,83	0,10	19,5	0,42
Sesquiterpenos Oxigenados					
1557	Nerolidol (E)	458,53	11,38	770,84	16,45
1560	Espatuleno	32,03	0,79	7,99	0,17
1564	Óxido de cariofileno	34,26	0,85	5,9	0,13
1583	Viridiflorol	5,72	0,14	10,92	0,23
1589	Epóxido de humuleno	5,99	0,15	5,79	0,12
1596	Epicubenol	3,9	0,10	10,78	0,23
1633	1,10-Di-epi-cubenol	11,24	0,28	10,48	0,22
1663	α -muurolol	8,71	0,22	16,47	0,35
1672	Cadin-4-en-10-ol	24,05	0,60	37,23	0,79

IK Exp. - Índice de Kovats experimental

Área a*- área compostos casca x 10^{-3}

Área b*- área compostos semente x 10^{-3}

As mirtáceas são amplamente utilizadas na medicina popular, devido a isso muitos trabalhos estão verificando a atividade biológica das espécies pertencentes a esta família. Foram verificadas propriedades antifúngicas, antibacterianas e antioxidantes, tais bioatividades estão sendo relacionadas aos terpenos oxigenados (STEFANELLO; PASCOAL; SALVADOR, 2011). Neste sentido o óleo essencial das sementes de sete-capotes apresentou concentração superior de terpenos oxigenados (19,58%) do que o óleo das cascas (14,50%).

4. Conclusão

Através da análise cromatográfica do *headspace* da polpa de sete-capotes por HS-SPME foram identificados 81 compostos. A classe que apresentou maior número de compostos foi a dos terpenos, porém foram álcoois e aldeídos que apresentam maior somatório de áreas no cromatograma. Os álcoois e aldeídos apresentam como característica notas verdes e possivelmente os responsáveis pelo odor herbáceo do sete-capotes.

As cascas e principalmente as sementes de sete-capotes se mostraram uma fonte abundante de óleos essenciais, os quais são constituídos majoritariamente por monoterpenos hidrocarbônicos. Alguns dos terpenos encontrados nos óleos essenciais também foram detectados no *headspace* da polpa dos frutos de sete-capotes e podem estar relacionados a notas amadeiradas e florais.

5. Referências

ACREE, T.E.; HEINRICH, A. **Flavornet and human odor space, gas chromatography –olfactometry (CG-O) of natural products**. 2004. Disponível em: http://www.flavornet.org/f_kovats.html. Acesso em: 18 set 2017.

ADAM, F. *et al.* Aromatic plants of French Polynesia. V. Chemical composition of essential oils of leaves of *Psidium guajava* L. and *Psidium cattleianum* Sabine. **Journal of Essential Oil Research**, v. 23, n. 1, p. 98-101, 2011. <https://doi.org/10.1080/10412905.2011.9700433>.

AMIRA, E. A. *et al.* Chemical and aroma volatile compositions of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits at three maturation stages. **Food Chemistry**, v. 127, p. 1744–1754, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.051>.

AYSELI, M. T.; AYSELI, Y. İ. Flavors of the future: health benefits of flavor precursors and volatile compounds in plant foods. *Trends in Food Science & Technology*, v. 48, p. 69-77, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.005>.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. 1. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. 3, 2008. 593 p.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artemed, p. 517, 2010.

DUARTE, A. R. *et al.* Environmental influence on phenols and essential oils of *Myrciaria cauliflora* leaves. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 9, 1672-1680, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532010000900011>.

EL-SAYED, A. M. **The pherobase**. Disponível em: <http://www.pherobase.com/database/kovats/kovats-index.php>. Acesso em: 18 set 2013.

FASOLA, T. R.; OLOYEDE, G. K.; APONJOLOSUN, B. S. Chemical composition, toxicity and antioxidant activities of essential oils of stem bark of Nigerian species of Guava (*Psidium guajava* Linn.). **Excli Journal**, v.10, p. 34-43, 2011.

FERREIRA, D. D. F. *et al.* Characterization of odor-active compounds in gabioba fruits (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg). **Journal of Food Quality**, v. 39, p. 90-97, 2016. <https://doi.org/10.1111/jfq.12177>.

FIGUEIREDO, A. C. *et al.* Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, p. 213-226, 2008. <https://doi.org/10.1002/ffj.1875>.

INFANTE, J. *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory activities of unexplored Brazilian native fruits. **Plos One**, v. 11, p. 1-13, 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152974>.

LIMA, D. F.; GOLDENBERG, R.; SOBRAL, M. O gênero *Campomanesia* (Myrtaceae) no estado do Paraná, Brasil. **Rodriguésia**, v. 62, p. 683-693, 2011. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201162313>.

LIMBERGER, R. P. *et al.* Chemical composition of essential oils from some *Campomanesia* Species (Myrtaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 13, n. 2, p. 113-115, 2001. <https://doi.org/10.1080/10412905.2001.9699630>.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**, v. 1. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 368p.

MACLEOD, A. J.; TROCONIS, N. G. Volatile flavour components of guava. **Phytochemistry**, v. 21, p. 1339-1342, 1982. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(82\)80138-6](https://doi.org/10.1016/0031-9422(82)80138-6).

MARIN, R. *et al.* Volatile components and antioxidant activity from some Myrtaceous fruits cultivated in Southern Brazil. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.27, p.172-177, 2008.

OLIVEIRA, A. L. *et al.* Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L). **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 1-5, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.012>.

OLIVEIRA, J. D. *et al.* Chemical composition of essential oil extracted from leaves of *Campomanesia adamantium* subjected to different hydrodistillation times. **Ciência Rural**, v.47, n. 1, e20151131, 2017. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20151131>.

PEREIRA, M. C. *et al.* Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 12, p. 3061-3067, 2012. <https://doi.org/10.1021/jf205263f>.

PINO, J. A.; MARBOT, R.; VÁZQUEZ, C. Characterization of volatiles in strawberry guava (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5883-5887, 2001. <https://doi.org/10.1021/jf010414r>.

PLAGEMANN, I. *et al.* Volatile constituents of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O. Berg) fruits. **Journal of Essential Oil Research**, v. 24, p. 45-51, 2012. <https://doi.org/10.1080/10412905.2012.645651>.

QUIJANO, C. E.; PINO, J. Analysis of volatile compounds of camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) McVaugh) fruit isolated by different methods. **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, p. 527–533, 2007. <https://doi.org/10.1080/10412905.2007.9699323>.

RODRIGUES, K. A. F. *et al.* *Eugenia uniflora* L. essential oil as a potential anti-leishmania agent: effects on *Leishmania amazonensis* and possible mechanism of action. **Journal of Evidence-Based Complementary Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1–10, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/279726>.

ROTHER, M. S. *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O.Berg. 2008. Disponível em: http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=394. Acesso em: 05 dez 2013.

SCHREIER, P.; IDSTEIN, H. Volatile constituents from Guava (*Psidium guajava* L.) fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.33, p.138-143, 1985. <https://doi.org/10.1021/jf00061a039>.

SIDDIQUE, S. *et al.* Chemical composition and insecticidal activities of essential oils of Myrtaceae against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Environmental Studies**, v.26, n. 4, p. 1653-1662, 2017. <https://doi.org/10.15244/pjoes/73800>.

STEFANELLO, M. E. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential oils from neotropical Myrtaceae: chemical diversity and biological properties. **Chemistry & Biodiversity**, v. 8, p. 73–94, 2011. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201000098>.

THOLL, D. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 9, p. 297-304, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.03.014>.

VILLATORO, C. *et al.* Changes in biosynthesis of aroma volatile compounds during on-tree maturation of “Pink Lady” apples. *Postharvest Biology and Technology*, v. 47, p. 286–295, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.07.003>.

ZHANG, X. R. *et al.* Lipoxygenase gene expression in ripening kiwifruit in relation to ethylene and aroma production. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 2875–2881, 2009. <https://doi.org/10.1021/jf9000378>.

Autores

Raquel Guidetti Vendruscolo¹, Roger Wagner², Bruna Tischer², Daniele de Freitas Ferreira², Francine Novack Victoria^{3,*}

1. Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* em Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil; Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, Prédio 42, sala 3210 Camobi, CEP. 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

2. Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, Prédio 42, sala 3210, Camobi, CEP. 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

3. Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil.

*Autor para correspondência: francinevictoria@yahoo.com.br

CAPÍTULO 4

Utilização de espectrometria de fluorescência de raio X em análises de alimentos

Mariele dos Santos, Francine Novack Victoria

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-3-8.c4>

Resumo

O alimento é a principal fonte de elementos químicos essenciais, majoritários e traços para animais e seres humanos. A presente revisão reúne pesquisas atuais que usam espectrometria de fluorescência de raios X para análise elementar aplicada em alimentos. Essa análise é fundamental para a avaliação da segurança, já que alguns elementos potencialmente tóxicos, perigosos para a saúde humana podem contaminar os alimentos, entrando na cadeia alimentar a partir do ambiente, do processamento e/ou armazenamento. São necessárias técnicas analíticas rápidas e sensíveis, capazes de detectar elementos maiores e traços na busca de informações da composição multi-elementar e rastreio das fontes de contaminação do produto. A técnica de espectrometria de fluorescência de raio X é uma excelente ferramenta para a análise elementar de alimentos, uma vez que fornece a identificação simultânea de múltiplos elementos em amostras líquidas e sólidas. Diversas matrizes podem ser analisadas obtendo resultados com uma boa precisão e exatidão.

Palavras-chave: alimento, análise elementar, elementos químicos, fluorescência de raio X.

1.Introdução

Muitos físicos eminentes no final do século XIX acreditavam que a natureza do mundo físico estava substancialmente esclarecida. Entretanto, este paradigma foi rompido já nesta época por uma série de descobertas em um curto intervalo de tempo. Muitas dessas descobertas envolviam inovações científicas provenientes do estudo de radiações e ondas eletromagnéticas. Neste período, ocorreu a descoberta dos raios X em 1895 por Wilhelm Conrad Roentgen, da radioatividade por Henri Becquerel em 1896 e do elétron por Joseph John Thomson em 1897.

Em relação a radiação de raios X, quando um raio incide em matéria, vários fenômenos acontecem e o feixe é atenuado, tanto por espalhamento como por absorção. A absorção é mais significativa e é diretamente proporcional ao número atômico (Z) dos elementos químicos, quanto maior o Z , maior a absorção de raios X. Sendo assim, materiais heterogêneos apresentam diferentes atenuações, as quais dependem do número atômico médio das diferentes áreas irradiadas (RATTI, 2015). De acordo com Saitovich (1995) entre as descobertas e acontecimentos científicos marcantes que ocorreram nesta época, talvez possa ser dito que a descoberta que possuiu a maior importância para a origem e desenvolvimento das tecnologias baseadas em raios X, tenha sido a de Wilhelm Conrad Roentgen a partir do

experimento com raios catódicos.

As aplicações do raio X foram surgindo com o tempo, tanto baseadas no fenômeno de absorção, como no de espalhamento.

Atualmente as instrumentações que se baseiam em técnicas de raios X deixaram de ser utilizadas apenas para a realização de diagnósticos médicos, essas tecnologias passaram a ser utilizadas na produção de ligas metálicas, tecidos, cerâmicas, entre outros materiais. Além disso, os raios X possuem como característica a capacidade de determinar a porosidade, espessuras de camada, variações de densidade, falhas, inclusões de trincas e outros parâmetros muito utilizados na avaliação do controle de qualidade de diferentes materiais. Hoje são utilizadas no estudo de inúmeras aplicações de diversas áreas da química, biologia, meio ambiente e ciência dos materiais e ciência e tecnologia de alimentos. Podemos dizer, por exemplo, que a técnica de fluorescência de raios X (XRF, sigla em inglês) passou a chamar a atenção de diferentes áreas em virtude do alto potencial que esta técnica possui de fornecer informações de maneira não invasiva, ou seja, por ser uma técnica não destrutiva (NASCIMENTO-DIAS; OLIVEIRA; DOS ANJOS, 2017).

Na área de ciência e tecnologia de alimentos, estas técnicas são muito utilizadas para o controle de qualidade dos alimentos. A qualidade de um alimento e/ou produto alimentício engloba vários parâmetros, como: tamanho, forma, cor, brilho, consistência, origem, textura, sabor, aspectos nutricionais, métodos de processamento, e, também a contaminação, descoloração, odores indesejáveis e deterioração. Além disso, essas técnicas são importantes para a elaboração de tabelas de composição alimentar, pois a tabela é indispensável no fornecimento de informações para uma dieta balanceada, e a identificação e quantificação dos nutrientes presentes é imprescindível na elaboração da mesma. Outro ponto importante é que existem diferenças nos teores dos nutrientes de uma mesma amostra, devido a fatores de origem da amostra, ambientais e de processamento, sendo assim o controle de qualidade e da composição das amostras é uma ferramenta importante dentro da área de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

As técnicas analíticas mais utilizadas para quantificação de nutrientes inorgânicos em alimentos são as que envolvem espectrometria atômica. Geralmente, essas técnicas exigem prévia destruição total ou parcial da matéria orgânica presente na amostra, porém o procedimento oficial de destruição da matéria orgânica, calcinação, requer um tempo relativamente longo para sua execução, além de propiciar perdas dos elementos voláteis, o que tem levado à busca de alternativas mais rápidas

Ao referir-se a todos os perigos que podem tornar os alimentos prejudiciais para a saúde dos consumidores, a segurança dos alimentos é a ferramenta mais utilizada e confiável para garantir a inocuidade e segurança de qualquer alimento ou produto alimentício. Portanto, a definição da qualidade dos alimentos é ampla e envolve a produção, os impactos, os nutrientes e a composição (BORGESSE *et al.*, 2015; FAO/WHO, 2003).

Nesse contexto, a composição elementar de alimentos é fundamental para avaliar a presença de elementos nutrientes e a ausência de contaminantes. De La Guardia e Garrigues (2015) propõem a composição elementar dos alimentos baseada em duas classes distintas: elementos traço (faixas de concentrações que variam na ordem de mg.kg^{-1}) e ultratraços (concentrações de microgramas por quilograma – $\mu\text{g.kg}^{-1}$), como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação dos elementos químicos em traços e ultratraços.

Elemento	Essenciais	Potencialmente Essenciais	Potencialmente Tóxicos
Traço	F, I, Fe, Si, Zn	B, Ti, Sb, As, Ba, Ce, GE, Rb, Sr	Al, As, Sb, Cd, Cr, Cu, Pb, Hg, Th, Sn, U
Ultratraço	Cr, Co, Cu, Mn, Mo, Ni, SE, V		

Fonte: REDÍGOLO, 2011.

Os macronutrientes como Na, Ca, Mg, K e Cl, requerem uma maior quantidade para uma nutrição saudável, enquanto os micronutrientes como F, V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Se, Mo e I, são essenciais para nutrição de seres vivos, porém quantias excessivas podem determinar efeitos tóxicos. Por exemplo, Zn e Mn são tóxicos quando o nível diário de biodisponibilidade é extrapolado. Outros elementos como Cd, As, Hg e Pb são tóxicos mesmo em nível traço e não devem entrar na cadeia alimentar, sob o risco de causar efeitos crônicos a saúde (BAHADIR *et al.*, 2015; DE LA GUARDIA; GARRIGUES, 2015; MONNOT *et al.*, 2016). Indiscutivelmente, a determinação da composição elementar de alimentos é pré-requisito para fazer recomendações a sua ingesta, com destaque no que diz respeito às crianças, gestantes e pessoas com alergias a elementos específicos (ALMEIDA *et al.*, 2008; ANTOINE *et al.*, 2012; MOTAWEL; GOUDA, 2016; SANTOS DA COSTA *et al.*, 2002).

Convém citar a respeito do sentimento comum de que vegetais cultivados em hortas particulares são mais seguros, porém a total falta de controle das áreas de solo privado muitas vezes pode levar a situações de risco exposto (FERRI *et al.*, 2012). O controle, prevenção e monitoramento de elementos tóxicos em alimentos, seja pela contaminação ambiental ou de processamento fazem a análise elementar, cada vez mais necessária na agricultura e na indústria alimentícia. É perceptível que artigos dedicados para a composição elementar de alimentos têm aumentado nos últimos anos e inúmeras fontes de elementos traço foram consideradas (BAHADIR *et al.*, 2015; BILO *et al.*, 2015; BORGES *et al.*, 2014; DALIPI *et al.*, 2016; DE LA CALLE *et al.*, 2013a; GALLARDO *et al.*, 2016; GEBREKIDAN *et al.*, 2013; SMAGUNOVA; PASHKOVA, 2013).

Com base nesses argumentos, existe uma forte necessidade de ferramentas e técnicas de rastreio com uma ampla faixa de concentração e alta sensibilidade. A espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) é a técnica padrão para a análise elementar de alimentos atualmente. A AOAC, nos métodos oficiais de vigilância para monitoramento de rotina, desenvolveu normas e requisitos de desempenho de método para metais pesados em uma variedade de alimentos e bebidas, definindo os valores desejados para o limite de quantificação, repetibilidade, reprodutibilidade, e recuperação. A espectrometria de fluorescência de raio X (XRF) atende esses requisitos para a maioria dos elementos potencialmente tóxicos. É uma das técnicas analíticas quantitativas apropriadas para realizar a análise de elementos principais e traços em alimentos. Muitos estudos demonstram a sua utilização com sucesso para a análise de alimentos (AOAC, 2012; BRUNETTI *et al.*, 2016; GEORGIEVA *et al.*, 2013; JASTRZEBSKA *et al.*, 2003; VIVES *et al.*, 2006; ZARAZUA *et al.*, 2006).

2. Sistemas de espectrometria de fluorescência de raio X

Os raios X são radiações eletromagnéticas com frequências superiores à $3 \times 10^{18} \text{ s}^{-1}$ e são produzidos quando elétrons são acelerados em direção a um alvo metálico. O choque do feixe de elétrons (que saem do cátodo com energia de dezenas de KeV) com o ânodo (alvo) produz dois tipos de raios X. Um deles constitui o espectro contínuo, e resulta da desaceleração do elétron durante a penetração no ânodo. O outro tipo é o raio X característico do material do ânodo, espectro característico. Assim, cada espectro de raios X é a superposição de um espectro contínuo e de uma série de linhas espectrais características do ânodo, como pode ser visto na Figura 1.

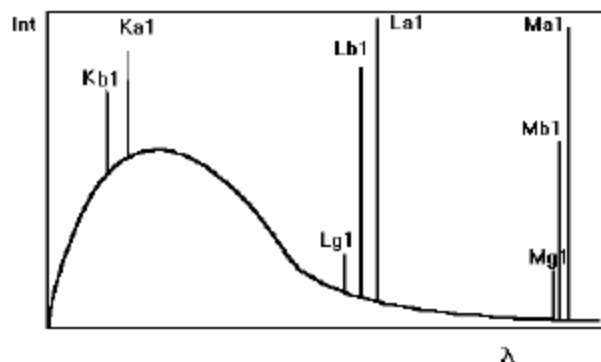


Figura 1. Espectro de comprimentos de onda correspondentes aos raios X.
Fonte: RATTI, 2015.

O espectro contínuo é simplesmente uma curva de contagens por segundo *versus* comprimento de onda do raio X, ou seja, Intensidade *versus* λ , como pode ser observado na Figura 2A, neste, todas as curvas têm em comum o fato de que há um comprimento de onda mínimo, abaixo do qual não se observa qualquer raio X.

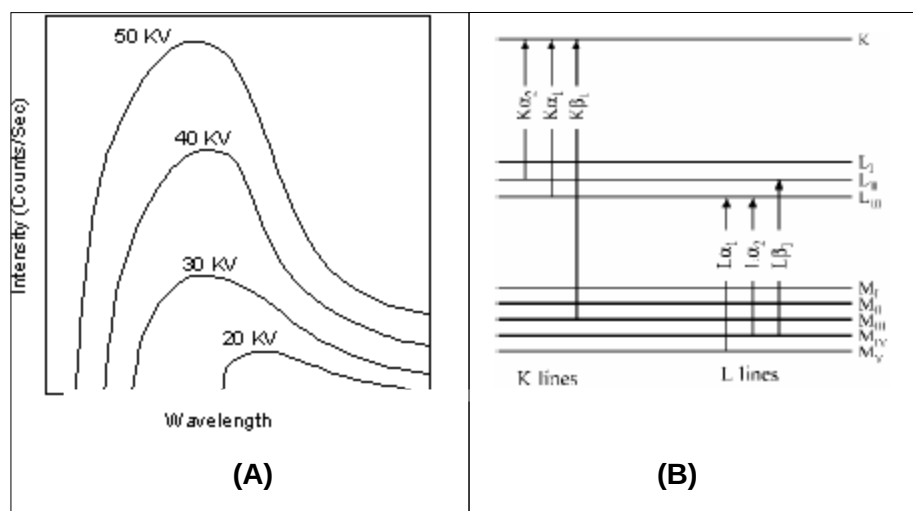


Figura 2. (A) - Espectro contínuo obtido com ânodo de tungstênio (W)
(B) Espectro característico resultante da queda de elétrons alvo
Fonte: <http://www.tulane.edu/~sanelson/eens211/x-ray.htm>.

O espectro característico mostra o rearranjo eletrônico resultante da queda de elétrons-alvo excitados ao nível fundamental. A Figura 2B, apresenta um modelo de espectro característico, neste as linhas de emissão, discretas e superpostas entre si, estas linhas, possuem comprimentos de onda correspondentes aos níveis de E

envolvidos e são representadas por letras do alfabeto grego (camadas envolvidas) e números (subcamadas). As linhas traduzem o ponto em que a Energia (E) foi suficiente para remover completamente um dos elétrons-alvo e mostram que outro elétron ocupou o seu lugar, emitindo um fóton de radiação X, com comprimento de onda correspondente aos níveis de E envolvidos e, desta maneira, correspondente ao elemento alvo.

Esse fenômeno pode ser produzido experimentalmente em instrumentos científicos, no interior de um de seus componentes constituídos por um pequeno envoltório de vidro a vácuo chamado de ampola de raios X. Dessa maneira, a produção de raios X acontece quando existe a incidência de fótons sobre um anteparo com frequências acima desse valor anteriormente citado e são freados subitamente, passando então para um estado de repouso. Os raios X também podem ser gerados a partir de um alvo material bombardeado por partículas carregadas, como elétrons e prótons, como pode ser observado na Figura 3.

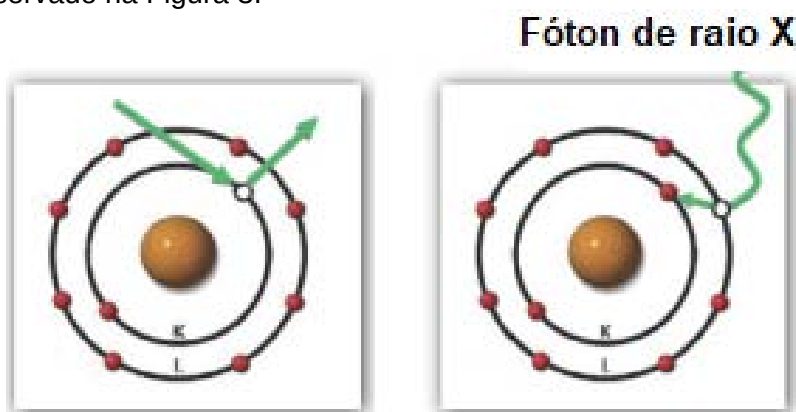


Figura 3. Representação do raio X.

Fonte: Manual ARL 9900 Intellipower Series, Nº AA83654-02, Thermo Fisher Scientific, 2007.

Neste sentido, o fenômeno de produção de raios X pode gerar um espectro de energia (E) duas formas distintas: contínua ou discreta; a forma energética irá depender do tipo de interação que irá ocorrer. O espectro de energia contínua ocorre em função da desaceleração brusca das partículas carregadas e é chamado de efeito brehmsstrahlung, enquanto a forma discreta ocorre em função de uma reorganização das camadas eletrônicas dos átomos do material do alvo, chamada raios X característicos.

O princípio básico da técnica XRF, é o uso de um feixe de raios X para produzir ionização nas camadas internas dos átomos presentes na amostra devido à absorção fotoelétrica. As energias ou comprimentos de onda da emissão dos raios X são então usados para identificar os elementos presentes na amostra. Normalmente, espectrômetros XRF são divididos em duas categorias principais dependendo dos fundamentos do sistema de detecção, são eles: Sistemas de comprimento de onda dispersivo (WDXRF) e sistemas de energia dispersiva (EDXRF e TXRF) (MARGUÍ; ZAWISZA; SITKO, 2014). O arranjo geométrico dos componentes dos sistemas pode ser visto na Figura 4 a seguir.

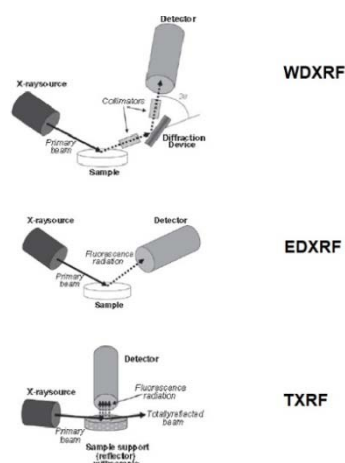


Figura 4. Esquema básico dos sistemas WDXRF, EDXRF e TXRF.

Fonte: MARGUÍ; ZAWISZA; SITKO, 2014.

WDXRF emprega difração por um sistema de dispersão para separar os comprimentos de onda característicos emitidos pela amostra. A fonte de raios X irradia a amostra e uma parte da radiação de fluorescência característica da espécie é passada através de um colimador sobre a superfície do dispositivo de difração, onde os comprimentos de onda individuais são difratados para o detector de acordo com a Lei de Bragg. Um goniômetro é usado para manter o ângulo necessário entre o dispositivo de difração e o detector. Devido à potência de alta resolução de cristais e estruturas em camadas múltiplas, fótons correspondentes a linhas características com energias podem ser detectados sem interferir uns nos outros, proporcionando assim uma elevada especificidade na análise. Como interferências espectrais são evitadas, a detecção pode ser realizada utilizando detectores de contador proporcional, com grande eficiência (MARGUÍ; ZAWISZA; SITKO, 2014; SITKO; ZAWISZA, 2005).

Espectrômetros EDXRF, diferente dos sistemas WDXRF, contam com duas unidades básicas: a fonte de excitação e o sistema de detecção. A resolução do seu sistema de energia dispersiva equivale diretamente com a resolução do detector, um detector semicondutor de alta resolução intrínseca. A utilização desse tipo de detector em combinação com um analisador multicanal permite a determinação de todos os raios X emitidos pela amostra ao mesmo tempo, dando uma maior velocidade na aquisição e visualização de dados. Porém, na prática, existe um limite para a taxa de contagem máxima que o detector semicondutor pode manipular. Por esta razão, modificadores de origem, tais como filtros, são geralmente colocados entre a fonte de raio X e a amostra para evitar a saturação do detector. Outra opção é a introdução de um elemento puro ou composto alvo entre a fonte primária e a amostra de tal maneira que somente uma faixa de energia de fótons secundários seja selecionada e incida sobre a amostra, para que ocorra a excitação seletiva em um determinado intervalo de energia. Ambas as configurações, WDXRF e EDXRF, tem sido amplamente utilizadas para a análise de amostras sólidas ou líquidas após o procedimento de pré-concentração. A seleção da configuração mais adequada é conforme o propósito. Então, os sistemas de EDXRF são preferidos para informação multi-elementar e WDXRF geralmente é selecionado para uma determinação rápida e precisa de alguns elementos (MARGUÍ; ZAWISZA; SITKO, 2014; SITKO, 2009).

A espectrometria de reflexão total de raios-X (TXRF) é uma variação do sistema EDXRF. Onde o feixe primário atinge a amostra a um ângulo de visão inferior a $0,1^\circ$, e não no ângulo típico EDXRF de cerca de 40° com pouca profundidade de penetração.

Além disso, devido ao ângulo raso de excitação incidente, o detector pode ser posicionado muito perto da amostra levando a um grande ângulo sólido para a detecção do sinal de fluorescência. Uma melhoria na sensibilidade de sistemas TXRF comparados com espectrômetros EDXRF convencionais são percebidas. TXRF é uma técnica analítica bem estabelecida para a determinação dos elementos em vários tipos de amostras, especialmente amostras líquidas, pós ou micro. Para realizar a análise sob condições de reflexão total, as amostras devem estar como películas finas. Para amostras líquidas, isto é feito por deposição de 5-50 μL de amostra no suporte refletivo com subsequente secagem da gota (BORGESSE *et al.*, 2014; MARGUÍ; ZAWISZA; SITKO, 2014; PESSANHA *et al.*, 2010).

Os sistemas de bancada e TXRF portáteis disponíveis atualmente oferecem procedimentos de operação simples e limite de detecção comparável com dispositivos de grande escala. É possível usar pouca amostra, possibilita calibração linear através da adição de padrão interno, nenhum consumo de gases ou de água de resfriamento e tempo de análise entre 100-1000 s. Infelizmente, pode haver sobreposição de picos, que diminui a precisão da análise quantitativa e o limite no elemento em identificação. As melhores condições de medição são definidas conforme os elementos em questão (BAIRI *et al.*, 2016). A Figura 5 apresenta um modelo de espectro de XRF obtido em um sistema portátil.

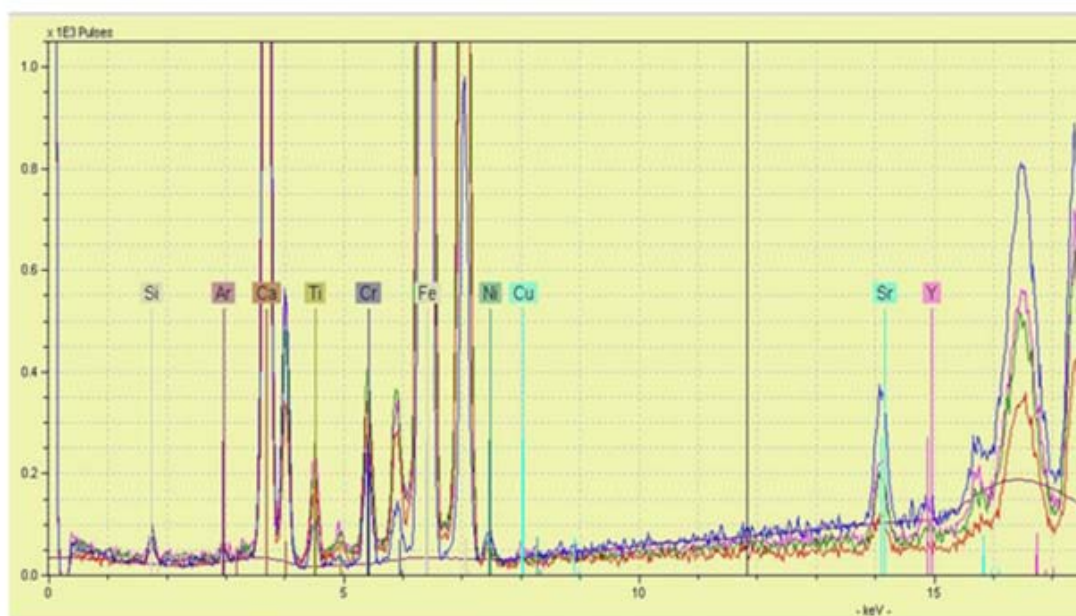


Figura 5. Imagem do espectro de XRF de um modelo portátil.
Fonte: NASCIMENTO-DIAS; OLIVEIRA; DOS ANJOS, 2017.

Pré-tratamentos da amostra são geralmente necessários para conseguir uma película fina em matrizes complexas. Os métodos de pré-tratamento da amostra mais comuns são: mineralização, deposição direta da amostra sobre o refletor (suporte) sem ou com tratamento mínimo, suspensões sólidas e extração. Todas essas estratégias permitem realizar análise da maioria dos gêneros alimentícios com boa precisão e exatidão por TXRF. Na análise quantitativa por TXRF é normalmente realizada por calibração com padrão interno. Esse método é simples e fiável, podendo ser empregado para soluções e suspensões. O elemento de padrão interno é normalmente adicionado numa fase inicial de preparação da amostra, mas também pode ser adicionado à amostra depositada sobre o suporte. A confiabilidade da análise quantitativa é

estimada a partir de precisão e exatidão dos resultados (BAHADIR *et al.*, 2015; DE LA CALLE *et al.*, 2013a; MARGUÍ *et al.*, 2013).

3. Aplicações

Encontram-se várias referências que aplicaram a análise multi-elementar quantitativa em bebidas, como por exemplo, água mineral, leite, infusões de chá, café e bebidas alcoólicas. Os elementos principais são geralmente na faixa por cento, enquanto traço e elementos ultra-traço têm concentração em ppm até ppb. O conteúdo dos elementos essenciais é muito diferente em amostras de alimentos, mesmo em matrizes semelhantes (DE LA CALLE *et al.*, 2013b; HASWELL; WALMSLEY, 1998). A seguir serão relatados trabalhos que aplicaram a espectrometria XRF em alimentos visando a composição elementar. Os mesmos estão citados na Tabela 2, a seguir.

Tabela 2. Trabalhos que aplicaram espectrometria de fluorescência de raio X para análise elementar em alimentos.

Referências	Elementos	Amostras
HASWELL; WALMSLEY, 1998	K, Ca, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br,	Café
	Rb	Vinho
XIE <i>et al.</i> , 1998	P, S, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Se, Rb, Sr, Ba, Pb	Chá
ANJOS <i>et al.</i> , 2004	V, Fe, Ni, Cu, Zn, Mo, Pb	Vinho
ANJOS <i>et al.</i> , 2003	P, S, Cl, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr	Água
GIORGIEVA <i>et al.</i> , 2013	S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Br, Rb, Ba	Água
BORGESE <i>et al.</i> , 2014	Cl, K, Ca, Ni, Sr, Ba, Br	Água
MISRA <i>et al.</i> , 2009	Cl	Água
HATZISTAVROS; KALLITHRAKAS-KONTOS, 2011	ClO_4^-	Água
BAHADIR <i>et al.</i> , 2015	Cr	Leite
SANTOS DA COSTA <i>et al.</i> , 2002	Fe, Cu, Zn	Maçã

BAT <i>et al.</i> , 2012	Mn	Abacaxi
PATZ <i>et al.</i> , 2013	Mn	Cebola
ALVAREZ <i>et al.</i> , 2003	Ca, K, Mn, Fe, Cu, Zn	Pepino
VARGA; ZÁRAY; FODOR, 2002	Cd, Ni, Pb, Fe	Batata
		Banana
		Chuchu
		Laranja
VIVES <i>et al.</i> , 2006	Al, P, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Br, Mo, Ba, Pb	Alface
		Arroz
		Rúcula
		Feijão

Haswell e Walmsley, em 1998, analisaram 11 elementos (Br, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Ni, Rb, Sr e Zn) por TXRF em amostras de café e vinho de diversos países para que aliado a técnicas multivariadas pudesse determinar suas origens. Seis réplicas foram corridas com um tempo de 500 s por amostra. As determinações tiveram vanádio (V) como padrão interno. A análise do componente principal demonstrou uma separação entre as amostras de vinho, mas isso não aconteceu para as amostras de café, talvez por ter sido misturado durante o seu processamento a outras amostras de diferentes origens.

Análises multi-elementares em 39 amostras de chá *Camellia sinensis* (infusões de 0,5 a 85%) por TXRF demonstraram teores médios entre 0,1 e 30 $\mu\text{g g}^{-1}$, possibilitando o estudo da influência da origem, tipo e qualidade das amostras de chá. O conteúdo de selênio (Se) das amostras de chás cultivados em regiões ricas desse elemento foi elevado (7,5 $\mu\text{g g}^{-1}$), contrastando com a concentração de apenas 0,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ de Se nos demais chás examinados (XIE *et al.*, 1998).

Amostras de vinho dos tipos *Cabernet Sauvignon*, *Cabernet Franc*, *Merlot*, *Chardonnay*, *Semillon* e *Riesling* obtidas no mercado local na cidade do Rio de Janeiro foram estudadas no sentido de realizar determinação simultânea de elementos traço. Após digestão ácida, as amostras tiveram seu pH ajustado para 3,0 e sofreram adição de solução pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC) (1%). Depois, as amostras foram filtradas a vácuo e consideradas como um filme para serem analisadas pelo método EDXRF, preliminarmente validado. O espectro foi acumulado por 4000 s. Porém, o uso do agente quelante limitou o número de elementos analisados, pois alguns elementos de interesse não pré-concentraram, ficando em níveis abaixo do esperado na literatura. Foi possível determinar V, Fe, Ni, Cu, Zn, Mo, a Pb simultaneamente nas amostras de vinho. Os elementos traço no vinho devem ser consequência da composição do solo de origem da videira (ANJOS *et al.*, 2004).

Para determinar simultaneamente a concentração elementar de P, S, Cl, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr em 27 amostras de vinhos tintos e brancos comerciais através de TXRF foi usado solução de gálio (Ga) como padrão interno. Os teores encontrados foram menores do que os limites estabelecidos pela OIV para vinhos

(ANJOS *et al.*, 2003).

Várias marcas de água potável engarrafadas (de mesa, de nascente e mineral) da Bulgária foram analisadas por TXRF usando gálio (Ga) como padrão interno. O teor de S, Cl, K e Ca foi no nível mg L^{-1} , enquanto que Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Br, Rb e Ba foi inferior ao nível de $\mu\text{g L}^{-1}$. O conteúdo dos elementos das águas minerais ao longo de um período de armazenamento de aproximadamente 2,5 anos após engarrafamento não apresentaram diferença significativa. Os resultados indicaram que as águas de mesa, de nascente e mineral engarrafadas da Bulgária são um produto de alta qualidade para o mercado búlgaro e europeu das águas potáveis. Também, o método utilizado se mostrou adequado para a análise de elementos traço de rotina das águas potáveis engarrafadas de vários tipos e composição mineral (GEORGIEVA *et al.*, 2013).

Através da técnica de TXRF foi avaliada quantitativamente a composição elementar de amostras de água potável, águas residuais industriais e água dessalinizada MilliQ em 18 laboratórios de 10 países. Ao apresentar e discutir os resultados, a comparação inter-laboratorial teve como objetivo desenvolver diretrizes e uma metodologia padrão para a análise biológica e ambiental, por meio da técnica analítica TXRF. Foram detectados metais e não metais, de alto e baixo peso atômico na evolução dos resultados, mas apenas os elementos Cl, K, Ca, Ni, Sr, Ba e Br foram considerados para comparar com os dados obtidos através da utilização de espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) por dois diferentes laboratórios em dois países. As principais fontes de erro identificadas foram o tipo de amostra, a preparação da espécie e o procedimento de detecção e quantificação. A fim de reduzir os erros sistemáticos é proposto o uso de massa, no lugar de volume, no preparo da amostra e na adição de padrão interno. O estudo enfatiza a importância da limpeza durante os procedimentos. Os dados e a discussão dos resultados geraram um documento de especificação técnica. O plano futuro é definir uma Internacional Standard Organization (ISO) para análises de água potável por TXRF (BORGESE *et al.*, 2014).

O cloro é adicionado como desinfetante na água de beber para matar bactérias e pode reagir com metais presentes na água para formar cloretos. Acima do limite, o Cl torna-se perigoso para a saúde humana. Seu limite estabelecido pela OMS na água potável é de 5 mg L^{-1} . Um estudo determinou Cl em água potável por TXRF através da adição de um excesso conhecido de AgNO_3 para precipitar todo Cl contido como AgCl . Essa metodologia pode ser aplicada em soluções que contêm mais de $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Cl. O teor de Cl nas amostras analisadas foi de 1,6 a $56 \mu\text{g mL}^{-1}$. Foi usada solução de cádmio (Cd) como padrão interno e o tempo de análise do espectro foi de 1500 s (MISRA *et al.*, 2009; WHO, 2011).

Um método para a determinação seletiva de ânions perclorato (ClO_4^{2-}) em nível traço após a remoção do cloreto foi estudado, alcançando boa seletividade com o uso de membranas. Ânions perclorato foram concentrados sobre membranas aniônicas preparadas na superfície de refletores de quartzo para TXRF. Várias substâncias de complexação foram usadas nas membranas. Os refletores foram imersos em soluções de água contendo nanogramas por mililitro (ng mL^{-1}) ou partes por bilhão (ppb) de perclorato. Após esse passo, os refletores foram retirados da solução e analisados por TXRF. Foram examinados os efeitos de vários parâmetros experimentais e a possibilidade de discriminação entre os ânions cloreto e o perclorato. Os limites mínimos de detecção foram inferiores a 1 ng mL^{-1} e concentrações entre 1 e 50 ng mL^{-1} foram alcançadas. O método é aplicável para a análise de perclorato em amostras de água (HATZISTAVROS; KALLITHRAKAS-KONTOS, 2011).

Determinações de cromo (Cr) hexavalente (IV) em água mineral e água da torneira por TXRF detectaram o teor mínimo de $3\mu\text{g L}^{-1}$ realizando pré-tratamento da amostra por microextração com nanotubos de carbono de multicamadas modificadas (MWCNT) e solução de ítrio (Y) como padrão interno. Esse valor é cerca de 20 vezes menor do que o teor máximo de cromo hexavalente admissível em águas de beber, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS). Conforme os autores, entre os parâmetros que afetam o processo de extração estão o pH e volume da amostra aquosa, a quantidade de MWCNT e o tempo de extração, enquanto que na análise por TXRF são muito importantes o volume de padrão interno, o volume da suspensão depositada sobre o refletor, modo de secagem, e os parâmetros instrumentais (BAHADIR *et al.*, 2015; WHO, 2011).

A composição elementar do leite humano tem atraído o interesse de pesquisadores, uma vez que representa a mais completa nutrição para o recém-nascido e crianças até dois anos de idade. Uma pesquisa mediu a concentração de Fe, Cu e Zn em amostras de colostro de 50 mulheres brasileiras. O pré-tratamento da amostra consistiu em digestão ácida, adição de padrão interno (Ga) e secagem a vácuo no suporte. Cada suporte foi medido por 300 s no TXRF. Os seguintes valores foram obtidos: $1,72\text{ mg L}^{-1}$ de Fe; $0,54\text{ mg L}^{-1}$ de Cu; $6,97\text{ mg L}^{-1}$ de Zn. As concentrações dos elementos determinados foram comparáveis com os valores encontrados nas referências. Concluindo que TXRF é uma técnica adequada para avaliar elementos inorgânicos no colostro, fornecendo uma análise multi-elementar em uma única medida, podendo ser otimizada, a fim de avaliar uma vasta gama de elementos traço no leite humano (SANTOS DA COSTA *et al.*, 2002).

Em vegetais, frutas, ervas e temperos também são encontradas investigações recentes através de procedimentos de preparo de amostra e aplicação de XRF. A maioria utiliza digestão ácida, análise direta, extração ultrassônica ou digestão assistida por micro-ondas na preparação. A seguir algumas pesquisas recentes são reportadas.

Suco de maçã adicionado de padrão de Ga, através de análise direta, após a homogeneização em banho ultrassônico por uma hora, foi submetido à TXRF para determinação multi-elementar em maçãs da Eslovênia. As frações médias em massa dos elementos seguiram a ordem: $\text{K} > \text{P} > \text{Ca} > \text{S} > \text{Cl} > \text{Rb} > \text{Zn} > \text{Mn}$. Maçãs Gala tiveram as maiores frações médias de massa de P e K e as menores de Mn, Zn e Rb. Maçãs Goldrush apresentaram as maiores frações médias de massa de S, Cl e Zn e a menor fração média massa de K. Foram observadas as maiores frações médias de massa de Ca, Mn e Rb em maçãs Topaz, Gloster e Golden Delicious, respectivamente. Através de análise discriminante linear, os teores de Mn, Zn e Rb apontaram maior contribuição com a origem botânica, enquanto os teores de Rb e S contribuíram para distinguir as regiões geográficas de origem das maçãs. As indicações geográficas são cada vez mais usadas como ferramentas de *marketing*, pois podem agregar valor econômico aos produtos agrícolas por transmitir uma identidade cultural através dos produtos (BAT *et al.*, 2012).

O elemento manganês (Mn) é essencial para a nutrição humana e é encontrado no abacaxi em concentrações elevadas. Com base nisso, o teor de manganês do abacaxi, do suco, concentrado e purê de abacaxi foram analisados por espectrometria de fluorescência de raios X com reflexão total para análise elementar. As amostras foram trituradas, filtradas e homogeneizadas num banho ultrassônico durante 5 min. Selênio (Se) foi adicionado como padrão interno numa concentração final de 5 mg kg^{-1} . Duas gotas de $5\mu\text{L}$ das amostras preparadas foram colocadas sobre o suporte de quartzo e secas a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ para submeter a TXRF. As concentrações de manganês

variaram bastante em frutas inteiras, contudo, a casca apresentou maior concentração comparada a polpa da fruta. Os processados de abacaxi, como purês, tem o menor teor de manganês com uma mediana de $4,9 \text{ mg kg}^{-1}$ em comparação com sucos de abacaxi, $10,5 \text{ mg kg}^{-1}$ e concentrados $15,5 \text{ mg kg}^{-1}$. Dependendo da concentração do produto, a ingestão diária tolerável de manganês é praticamente atingida com apenas com um copo de 200 mL de suco de abacaxi (PATZ *et al.*, 2013).

A cebola (*Allium cepa* L) é um dos cultivares mais importantes do mundo. Sua caracterização química é importante para a melhoria da eficiência de produção visto que a qualidade e estado de conservação dos produtos agrícolas são associados à sua composição química. A técnica de fluorescência de reflexão total de raios X (TXRF) foi aplicada com sucesso para a determinação simultânea dos elementos Ca, K, Mn, Fe, Cu e Zn em dois cultivares de cebola, com foco para o desenvolvimento de um procedimento de preparo da amostra que envolve a extração ácida dos analitos a partir de amostras cruas por meio de um banho de ultrassom. As técnicas de espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e espectrometria de absorção atômica com chama e injeção em fluxo foram empregadas para fins de comparação entre os teores dos elementos. Os níveis de K, Mn e Zn foram significativamente superiores no cultivar 438 Granex, enquanto que os níveis de Ca, Fe e Cu foram significativamente maiores no cultivar Yellow Granex PRR 502. O método de preparação proposto foi o mais confiável, simples, rápido e usa menos produtos químicos e vidrarias, quando comparado com os métodos clássicos de calcinação por via úmida ou seca, proporcionando qualidade analítica similar. A técnica TXRF permitiu quantificar os elementos Cu, Fe e Mn, não realizado pela técnica FIAAS e em comparação com a técnica FAAS permitiu a quantificação de Cu (ALVAREZ *et al.*, 2003).

A distribuição de Cd, Ni, Pb e Fe entre o citoplasma e a parede celular de raízes e folhas da planta do pepino foi determinado por espectrometria de reflexão total de fluorescência de raios-X, usando gálio (Ga) como padrão interno, após o preparo da amostra por digestão assistida por micro-ondas. O suporte com amostra seca foi irradiado por 500 s. Nas raízes a maior parte da Pb foi encontrado na parede celular, enquanto Ni e Cd no citoplasma. Nas folhas, o citoplasma continha de 50-60% do teor de Pb, 60-80% de Fe e praticamente todo o teor Cd, enquanto, cerca de 30-40% de Ni estava na parede celular. Uma vantagem da técnica TXRF utilizada é a possibilidade de analisar pequena quantidade de amostra (VARGA; ZÁRAY; FODOR, 2002).

Os resultados de uma pesquisa indicaram que algumas espécies analisadas estavam contaminadas por Cr, Cu, Zn e Pb, com concentrações muito mais elevadas do que os valores permitidos pela legislação brasileira. O estudo utilizou fluorescência de raios X por reflexão total para a determinação simultânea e multi-elementar (Al, P, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Br, Mo, Ba e Pb) de alimentos disponíveis para a população em estabelecimentos comerciais, a fim de avaliar os riscos de contaminação por esses produtos. Os limites máximos permitidos de acordo com a ANVISA para Cr, Ni, Cu, Zn e Pb são: 0,1, 5, 30, 50 e $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente e para Al $5 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$. Os alimentos analisados e os elementos que estavam acima do limite permitido nas amostras foram: arroz, Cr, Cu e Pb; feijão, Pb e Al; batata, Cr, Pb e Al; banana, Cu e Pb; chuchu, Pb; laranja, Pb e Al; alface, Cr; rúcula, Cr, Cu e Pb (VIVES *et al.*, 2006).

4. Considerações finais

As técnicas de espectrometria de fluorescência de raio X é uma técnica analítica não destrutiva, com baixo custo de análise, baixo consumo de reagentes e vidraria, gera

pouco ou nenhum resíduo, sendo uma boa solução para as análises de rotina. Uma das vantagens da TXRF em relação à WDXRF e EDXRF é que a técnica não requer métodos para correção do efeito matriz, pois são utilizadas quantidades muito pequenas das amostras, as quais são depositadas em um suporte, formando um filme fino. Graças a fina espessura da amostra e alta energia dos raios X utilizados na excitação, não há ocorrência do efeito de absorção e, por isso, não é necessária a correção para o efeito matriz.

A análise elementar dos produtos alimentares tem significativa importância, já que a toxicidade dos elementos inorgânicos pode ocorrer em níveis pouco acima da ocorrência natural. Logo, o consumo de alimentos com uma alta concentração desses elementos pode causar intoxicação aguda ou crônica. A técnica de espectrometria de fluorescência de raio X oferece uma rápida e confiável análise quantitativa. A sua utilização na determinação de elementos majoritários, essenciais e traços em bebidas e alimentos, trazendo avanços tecnológicos na instrumentação e a combinação do aprimoramento do pré-tratamento da amostra foram apresentados nesta revisão.

Será necessário desenvolver diretrizes para procedimentos experimentais, padrões de processamento de dados e de amostras referência. Assim como, iniciativas interlaboratoriais para avaliar as abordagens analíticas e a reprodutibilidade dos protocolos. Isso porque, apesar do desenvolvimento de pesquisas e publicações de procedimentos, protocolos e resultados confiáveis, a análise quantitativa por espectrometria de fluorescência de raio X é ainda limitada a investigação, principalmente devido à falta de métodos padrão reconhecidos.

5. Referências

ALMEIDA, A. A. *et al.* Trace elements in human milk: Correlation with blood levels, inter-element correlations and changes in concentration during the first month of lactation. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 22, n. 3, p. 196–205, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2008.03.007>.

ALVAREZ, J. *et al.* Determination of calcium, potassium, manganese, iron, copper and zinc levels in representative samples of two onion cultivars using total reflection X-ray fluorescence and ultrasound extraction procedure. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 58, n. 12, p. 2183–2189, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(03\)00222-2](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(03)00222-2).

ANJOS, M. J. *et al.* Trace elements determination in red and white wines using total-reflection X-ray fluorescence. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 58, p. 2227–2232, 2003. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2003.07.004>.

ANJOS, M. J. *et al.* EDXRF analysis of red and white wines from Brazil. **X-Ray Spectrometry**, v. 33, n. 6, p. 407–409, 2004. <https://doi.org/10.1002/xrs.737>.

ANTOINE, J. M. R. *et al.* Dietary intake of minerals and trace elements in rice on the Jamaican market. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 26, n. 1, p. 111–121, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.01.003>.

AOAC. Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements. **AOAC Official Methods of Analysis**, p. 1–17, 2012.

BAHADIR, Z. *et al.* Determination of trace amounts of hexavalent chromium in drinking waters by dispersive microsolid-phase extraction using modified multiwalled carbon

nanotubes combined with total reflection X-ray fluorescence spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 107, p. 170–177, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2015.03.010>.

BAIRI, V. G. *et al.* Portable X-ray fluorescence spectroscopy as a rapid screening technique for analysis of TiO₂ and ZnO in sunscreens. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 116, p. 21–27, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2015.11.008>.

BAT, K. B. *et al.* Characterization of Slovenian apples with respect to their botanical and geographical origin and agricultural production practice. **Food Technology and Biotechnology**, v. 50, n. 1, p. 107–116, 2012.

BILO, F. *et al.* Evaluation of heavy metals contamination from environment to food matrix by TXRF: The case of rice and rice husk. **Journal of Chemistry**, v. 2015, p. 1–12, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/274340>.

BORGESE, L. *et al.* First Total Reflection X-Ray Fluorescence round-robin test of water samples: Preliminary results. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 101, p. 6–14, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2014.06.024>.

BORGESE, L. *et al.* Total reflection X-ray fluorescence as a tool for food screening. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 113, p. 1–15, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2015.08.001>.

BRUNETTI, A. *et al.* X-ray fluorescence spectroscopy (XRF) and Monte Carlo characterization of a unique nuragic artifact (Sardinia, Italy). **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 121, p. 18–21, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2016.04.007>.

DALIPI, R. *et al.* Analytical performance of benchtop total reflection X-ray fluorescence (TXRF) instrumentation for multielemental analysis of wine samples. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 120, p. 37–43, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2016.04.001>.

DE LA CALLE, I. *et al.* Sample pretreatment strategies for total reflection X-ray fluorescence analysis: A tutorial review. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 90, p. 23–54, 2013a. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2013.10.001>.

DE LA CALLE, I. *et al.* Fast method for multielemental analysis of plants and discrimination according to the anatomical part by total reflection X-ray fluorescence spectrometry. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 234–241, 2013b. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.105>.

DE LA GUARDIA, M.; GARRIGUES, S. **Handbook of Minerals Elements in Food**. [s.l.] Chichester: Willey Blackwell, 2015. 772p.

FAO/WHO. **Assuring Food Safety and Quality: Guidelines for strenghtening national food control systems**. Rome: Joint FAO/WHO Publication, 2003.

FERRI, R. *et al.* Heavy metals in soil and salad in the proximity of historical ferroalloy emission. **Journal of Environmental Protection**, v. 3, p. 374–385, 2012. <https://doi.org/10.4236/jep.2012.35047>.

GALLARDO, H. *et al.* Bromine and bromide content in soils: Analytical approach from

total reflection X-ray fluorescence spectrometry. **Chemosphere** **156**, v. 156, p. 294–301, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.136>.

GEBREKIDAN, A. *et al.* Toxicological assessment of heavy metals accumulated in vegetables and fruits grown in Ginfel river near Sheba Tannery, Tigray, Northern Ethiopia. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 95, p. 171–178, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.05.035>.

GEORGIEVA, R. *et al.* Total reflection X-ray fluorescence analysis of trace elements in Bulgarian bottled mineral waters of low and high mineral content. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 93, n. 10, p. 1043–1051, 2013. <https://doi.org/10.1080/03067319.2013.775277>.

HASWELL, S. J.; WALMSLEY, A. D. Multivariate data visualisation methods based on multi-elemental analysis of wines and coffees using total reflection X-ray fluorescence analysis. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 13, n. 2, p. 131–134, 1998. <https://doi.org/10.1039/A705317G>.

HATZISTAVROS, V. S.; KALLITHRAKAS-KONTOS, N. G. Determination of trace perchlorate concentrations by anion-selective membranes and total reflection X-ray fluorescence analysis. **Analytical Chemistry**, v. 83, n. 9, p. 3386–3391, 2011. <https://doi.org/10.1021/ac103295a>.

JASTRZEBSKA, A. *et al.* Determination of phosphorus in food samples by X-ray fluorescence spectrometry and standard spectrophotometric method. **Food Chemistry**, v. 83, p. 463–467, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00225-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00225-5).

MARGUÍ, E. *et al.* Liquid phase microextraction strategies combined with total reflection X-ray spectrometry for the determination of low amounts of inorganic antimony species in waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 786, p. 8–15, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.05.006>.

MARGUÍ, E.; ZAWISZA, B.; SITKO, R. Trace and ultratrace analysis of liquid samples by X-ray fluorescence spectrometry. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 53, p. 73–83, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.09.009>.

MISRA, N. L. *et al.* A novel approach for chlorine determination in acidic medium by total reflection x-ray fluorescence. **X-Ray Spectrometry**, v. 38, n. 3, p. 182–185, 2009. <https://doi.org/10.1002/xrs.1139>.

MONNOT, A. D. *et al.* Risks associated with arsenic exposure resulting from the consumption of California wines sold in the United States. **Food Chemistry**, v. 211, p. 107–113, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.013>.

MOTAWEI, S. M.; GOUDA, H. E. Screening of blood levels of mercury, cadmium, and copper in pregnant women in Dakahlia, Egypt: New attention to an old problem. **Biological Trace Element Research**, v. 171, n. 2, p. 308–314, 2016. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0525-y>.

NASCIMENTO-DIAS, B.L.; OLIVEIRA, D.F.; DOS ANJOS, M.J. A utilização e a relevância multidisciplinar da fluorescência de raios X. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 39, n 4, p. 4308, 2017. <https://doi.org/10.1590/1806-9126-rbef-2017-0089>.

PATZ, C.-D. *et al.* Manganese screening of pineapple by total-reflection X-ray fluorescence (TXRF) spectroscopy. **Deutsche Lebensmittel-Rundschau**, v. 109, n. 6, p. 315–319, 2013.

PESSANHA, S. *et al.* Quantitative determination on heavy metals in different stages of wine production by Total Reflection X-ray Fluorescence and Energy Dispersive X-ray Fluorescence: Comparison on two vineyards. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 65, n. 6, p. 504–507, 2010. <https://doi.org/10.1016/J.SAB.2010.04.003>.

RATTI, G. **Técnicas de análise química de compostos inorgânicos**. 2015

REDÍGOLO, M.M. Determinação de elementos químicos inorgânicos em amostras de sangue total humano e de animais de experimentação (hamster dourado e cavalo de raça crioula) pela técnica de fluorescência de raio X (EDXRF). Dissertação (Instituto de Pesquisas Nucleares e Energéticas). Universidade de São Paulo, 2011.

SAITOVITCH, H. Cem anos da descoberta dos raios-X: Caracterização estrutural de sólidos. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 17, n. 3, 1995.

SANTOS DA COSTA, R. S. *et al.* Trace Elements Content of Colostrum Milk in Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, n. 1, p. 27–33, p.203, 2002. <https://doi.org/10.1006/jfca.2001.1038>.

SITKO, R. Quantitative X-ray fluorescence analysis of samples of less than “infinite thickness”: Difficulties and possibilities. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 64, p. 1161–1172, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2009.09.005>.

SITKO, R.; ZAWISZA, B. Calibration of wavelength-dispersive X-ray spectrometer for standardless analysis. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 60, p. 95–100, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2004.11.004>.

SMAGUNOVA, A. N.; PASHKOVA, G. V. Choice of optimal conditions for X-ray fluorescence analysis of milk products with varying fat content. **X-Ray Spectrometry**, v. 42, n. 6, p. 546–551, 2013. <https://doi.org/10.1002/xrs.2519>.

VARGA, A.; ZÁRAY, G.; FODOR, F. Determination of element distribution between the symplasm and apoplasm of cucumber plant parts by total reflection X-ray fluorescence spectrometry. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 89, n. 1, p. 149–154, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0162-0134\(01\)00397-X](https://doi.org/10.1016/S0162-0134(01)00397-X).

VIVES, A. E. S. *et al.* Synchrotron radiation total reflection X-ray fluorescence (SR-TXRF) for evaluation of food contamination. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 270, n. 1, p. 147–153, 2006. <https://doi.org/10.1007/s10967-006-0322-3>.

WHO. **Guidelines for drinking-water quality**. Fourth ed. Geneva: World Health Organization, 2011.

XIE, M. *et al.* Multielement analysis of Chinese tea (*Camellia sinensis*) by total-reflection X-ray fluorescence. **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A**, v. 207, n. 1, p. 31–38, 1998. <https://doi.org/10.1007/s002170050291>.

ZARAZUA, G. *et al.* Analysis of total and dissolved heavy metals in surface water of a Mexican polluted river by total reflection X-ray fluorescence spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 61, n. 10, p. 1180–1184,

2006. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2006.06.010>.

Autores

Mariele dos Santos¹, Francine Novack Victoria^{2,*}

1. Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* em Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil; Instituto Federal Farroupilha Campus São Vicente do Sul, Diretoria de Produção, Rua 20 de Setembro, 2616, CEP 97420-000, São Vicente do Sul, RS, Brasil.

2. Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil.

*Autor para correspondência: francinevictoria@yahoo.com.br

CAPÍTULO 5

Compostos bioativos obtidos de subprodutos vegetais com propriedades antimicrobianas

Nathana Lazzarotto Cristofoli, Francine Novack Victoria

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-3-8.c5>

Resumo

Frutas e vegetais são os produtos alimentares mais consumidos globalmente. *In natura* ou minimamente processados são ricos em nutrientes que auxiliam na saúde do consumidor. Bagaço, folhas, cascas e sementes são subprodutos com significativa quantidade de compostos bioativos, que desempenham atividade antimicrobiana, antiinflamatória, antioxidante, entre outras, sendo viável o uso de tecnologias existentes para o aproveitamento sustentável. A tendência atual de substituir os conservantes sintéticos despertou o interesse em procurar conservantes alternativos mais naturais que sejam eficientes contra uma gama de micro-organismos e que não prejudicam o meio ambiente tornando viável a exploração de subprodutos para esses fins. Esta revisão tem como objetivo reunir estudos que destaquem a atividade antimicrobiana obtida do aproveitamento de subprodutos vegetais, bem como discutir seu potencial como conservante de alimentos e os métodos de obtenção desses compostos naturais.

Palavras-chave: aditivo alimentar, extratos naturais, fitoquímicos, plantas medicinais, subproduto orgânico.

1. Introdução

O processamento de frutas e vegetais gera uma grande quantidade de subprodutos, como sementes e cascas, representando em média 30% do total de produção, os quais são normalmente descartados como resíduos (FILHO; FRANCO, 2015; SAGAR *et al.*, 2018). Porém, esses possuem em sua composição importantes compostos, que podem estar relacionados a melhoria e manutenção da qualidade da saúde humana (KIM *et al.*, 2011; O'SHEA; ARENDT; GALLAGHER, 2012; WANG *et al.*, 2007). O uso desses subprodutos como aditivo alimentar tem possibilitado evitar ou retardar a deterioração dos alimentos na forma de antioxidantes, corantes, aromatizantes, agentes espessantes e antimicrobianos. Sabe-se atualmente que os aditivos sintéticos comumente usados pela indústria de alimentos, tem despertado preocupação quanto a possível toxicidade, sendo comprovado em diversos estudos *in vitro* e *in vivo* o desenvolvimento de câncer devido a exposição excessiva e/ou prolongada a esses compostos (LIU; MABURY, 2020). Nesse contexto, há uma crescente demanda dos consumidores por alimentos que contenham menos aditivos sintéticos (DAVID; STEENSON; DAVIDSON, 2013; RIBEIRO *et al.*, 2019).

As especiarias com fins medicinais são usadas há muitos anos e consideradas uma alternativa para a obtenção de extratos com propriedades antioxidantes e

antimicrobianas usadas para preservar os alimentos (MARTIN *et al.*, 2012; SZABO *et al.*, 2010; YAHIA, 2017). O alho (*Allium sativum*), por exemplo, pode ser utilizado como aditivo natural, no qual sua casca apresenta substâncias biologicamente ativas capazes de inibir o crescimento de bactérias patogênicas, destacando a tecnologia de aproveitamento de resíduos agroindustriais como promissora (KALLEL *et al.*, 2014). Esta revisão tem como objetivo reunir estudos que destaquem a atividade antimicrobiana obtida do aproveitamento de subprodutos vegetais, bem como discutir suas possíveis aplicações em alimentos e os métodos de obtenção desses compostos naturais.

2. Compostos bioativos em subprodutos vegetais

2.1 Potencial biológico de subprodutos de origem vegetal

Resíduos ou subprodutos hortícolas são as partes de uma matéria-prima vegetal sem valor comercial, descartadas desde a cadeia de abastecimento até o consumidor final (FAO, 2014). O crescimento populacional é um dos responsáveis pelo grande aumento de geração de resíduos em todo o mundo, seja através do consumo de alimentos *in natura* ou pelas indústrias processadoras (SAGAR *et al.*, 2018). Esses resíduos são muitas vezes utilizados como ração animal, por conter nutrientes ou são eliminados no meio ambiente causando problemas ambientais e aumento nos custos do produto final (ANGULO *et al.*, 2012). Bagaço, caule, folhas, cascas e sementes são exemplos de subprodutos, sendo os dois últimos os de maior disponibilidade e que tem apresentado extratos com bons resultados em relação à atividade antioxidante (O'SHEA; ARENDT; GALLAGHER, 2012; VAN DER GOOT *et al.*, 2016).

Os subprodutos vegetais apresentam como potencial biológico atividade antioxidante e antimicrobiana, servindo como fonte de compostos bioativos (CHANDA *et al.*, 2010; RUBILAR *et al.*, 2007; SAGAR *et al.*, 2018). Esses compostos estão presentes em pequenas quantidades nos alimentos e exercem efeito benéfico à saúde humana, como a redução do risco do desenvolvimento de doenças crônicas (ALMEIDA *et al.*, 2011; YAHIA, 2017). Dentre eles estão os carotenoides e compostos fenólicos, que englobam os flavonoides, ácidos fenólicos e taninos (MATTILA *et al.*, 2011).

Pesquisas têm sido realizadas a fim de desenvolver novos produtos com maior valor agregado, utilizando-os na indústria farmacêutica, alimentícia e de cosméticos (SAGAR *et al.*, 2018; TREMOCOLDI *et al.*, 2018; VAN DER GOOT *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2007). A recuperação de compostos bioativos e a utilização nas diversas áreas se faz necessária para diminuir o impacto ambiental e econômico. A Tabela 1 apresenta algumas das atividades biológicas relacionadas aos compostos bioativos de fontes vegetais.

Tabela 1. Atividade biológica de compostos bioativos obtidos de fontes vegetais.

Atividade Biológica	Compostos	Fonte	Referência
Antibacterino	Flavonoides (Resveratrol, Quercetina)	Subproduto de goiaba, polpa de acerola	(DA SILVA <i>et al.</i> , 2014)
	Composto fenólico (Cumarina)	Subproduto de maracujá	(LEE <i>et al.</i> , 2011)
	Flavonoide (Floreína)	Maçã	

	Ácidos fenólicos, flavonoides, taninos	Berries	(CÔTÉ <i>et al.</i> , 2011)
Antiviral	Flavonoides (Flavanas)	Chás	(FRIEDMAN, 2007)
	Flavonoides (Flavonas)	Figo, amora, jaca	(ARIF <i>et al.</i> , 2009)
	Flavonoides (Flavonol)	Própolis	(ARIF <i>et al.</i> , 2009)
Antifúngico	Flavonoides (Naringina, hesperidina, neo- hesperidina)	Citrus	(SALAS <i>et al.</i> , 2011)
	Ácidos fenólicos Flavonóides	Cascas de frutas cítricas	(FAVA <i>et al.</i> , 2013)
	Flavonoides (Catequina, Isoflavona)	Chá verde, soja	(SERGENT <i>et al.</i> , 2010)
	Flavonoides (Catequina, Epicatequina)	Subproduto de abacate	(TREMOCOLDI <i>et al.</i> , 2018)
Anti-inflamatório	Polifenóis	Aveia	(GUO; KONG; MEYDANI, 2009)
	Flavonoides (Quercetina)	Cebola, chá, maçã	(CHEN; ZHOU; JI, 2010)
	Flavonoides (resveratrol)	Vinho e berries	(BISHT; WAGNER; BULMER, 2010)
	Carotenoides (Licopeno)	Tomate	(KONG <i>et al.</i> , 2010)
	Compostos fenólicos (Catequina)	Chá verde	(IGNAT; VOLF; POPA, 2011)
	Polifenóis	Aveia	(GUO; KONG; MEYDANI, 2009)
Anticancerígeno	Flavonoides (Quercetina)	Cebola, chá, maçã	(CHEN; ZHOU; JI, 2010; EKSTRÖM <i>et al.</i> , 2011)
	Carotenoides (Licopeno)	Tomate	(KONG <i>et al.</i> , 2010)
	Compostos fenólicos (Catequina)	Chá verde	(IGNAT; VOLF; POPA, 2011)
	Polifenol (Resveratrol)	Vinho	(GRESELE <i>et al.</i> , 2011)
Efeitos cardioprotetores	Polifenóis	Cacau, vinho, semente de uva, soja, romã	(GHOSH; SCHEEPENS, 2009)
	Polifenóis	Bagaço de uva	(FERRI <i>et al.</i> , 2016)

Anti colesterol	Flavonoides Taninos Antocianinas
-----------------	--

Côte *et al.* (2011) comprovaram que a incorporação de antimicrobianos naturais extraídos de *cramberry* são eficientes para inibir *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, podendo ser usada como uma barreira adicional pela indústria de alimentos.

Salas *et al.* (2011) avaliaram o efeito da incorporação de extratos de Citrus, como a naringina, hesperidina e neo-hesperidina, em diferentes fungos (*Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium semitectum* e *Penicillium expansum*), observando efeito anfúngico.

Chen, Zhou e Ji (2010) relataram que a quercetina, proveniente de extratos de cebola, chá e maçã exibem ação antioxidativa, efeitos anti-inflamatórios e vasodilatadores, além de reduzir a indução de câncer de cólon em ratos.

A presença de compostos fenólicos (procianidina B1 e B2, ácido trans-5-O-cafeoil-D-quínico, epicatequina e catequina) com propriedades antioxidantes e antiinflamatórias na casca e semente do abacate apresentam potencial uso na indústria alimentícia e farmacêutica (TREMOCOLDI *et al.*, 2018). Esses compostos também são relacionados ao potencial terapêutico, protegendo as células contra os danos causados pelos radicais livres, levando ao aumento da expectativa de vida devido a redução do risco de doenças (BISHT; WAGNER; BULMER, 2010).

Além das propriedades biológicas citadas na Tabela 1, esses compostos podem contribuir inversamente com a obesidade e diabetes, além de distúrbios neurológicos (JOSEPH *et al.*, 2009; SZKUDELKA; SZKUDELSKI, 2010).

Os produtos e subprodutos de origem vegetal são atraentes fontes de compostos bioativos, apresentando diversificada atividade biológica que proporciona embasamento para pesquisas mais aprofundadas sobre o potencial desses extratos, bem como sua aplicação em outros produtos.

3. Antimicrobianos naturais

3.1 Doenças Transmitidas por Alimentos

Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) são adquiridas através da ingestão de alimentos contendo agentes contaminantes, como micro-organismos patogênicos, toxinas bacterianas ou produtos químicos, em quantidades que afetem a saúde do consumidor (BRASIL, 2010).

O aumento de patógenos resistentes a agentes antimicrobianos é um agravante que torna os tratamentos de doenças infecciosas ineficazes, sendo associado ao uso incorreto de antibióticos na medicina humana, veterinária e na agricultura (WHO, 2020). Como exemplo podemos citar o uso difundido de fluoroquinolonas em animais como aves e suínos, possibilitando o aparecimento de bactérias resistentes na alimentação humana (HSUEH *et al.*, 2004).

3.2 Atividade antimicrobiana de subprodutos vegetais

Os agentes antimicrobianos são compostos químicos presentes naturalmente ou adicionados aos alimentos com a finalidade de inibir ou destruir micro-organismos

patogênicos ou deteriorantes, garantindo assim a segurança microbiológica e evitando perdas (DAVID; STEENSON; DAVIDSON, 2013).

Os extratos obtidos a partir de materiais vegetais (folhas, sementes, cascas, raízes, óleos) apresentam atividade antimicrobiana para uma vasta gama de micro-organismos e são relatados em diversos estudos científicos (AGOURRAM *et al.*, 2013; AL-ZOREKY, 2009; ČANADANOVIĆ-BRUNET *et al.*, 2011; CHUTIA *et al.*, 2009; CRISTOFOLI *et al.*, 2018; DU *et al.*, 2009; ESPINA *et al.*, 2011; FRIEDMAN, 2007; GALVÃO *et al.*, 2010; HAYRAPETYAN; HAZELEGER; BEUMER, 2012; KALLEL *et al.*, 2014; KANATT; CHANDER; SHARMA, 2010; KANATT; ARJUN; SHARMA, 2011; KATALINIĆ *et al.*, 2010; KOOLEN *et al.*, 2013; MAHMUD *et al.*, 2009; MANDALARI *et al.*, 2007, 2010; MARTIN *et al.*, 2012; MARTINI *et al.*, 2009; PERUMALLA; HETTIARACHCHY, 2011; SAGDIC *et al.*, 2011; SUDJANA *et al.*, 2009; TAVEIRA *et al.*, 2010; WONGHIRUNDECHA; SUMPAVAPOL, 2012). Alguns destes são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Subprodutos vegetais com atividade antimicrobiana.

Subproduto	Micro-organismo	Referência
Bagaço de azeitona (<i>Olea europaea</i>)	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella enterica</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	(FRIEDMAN, 2007)
Bagaço de goiaba (<i>Psidium guajava</i>)	<i>S. aureus</i> , <i>L. monocytogenes</i>	(MARTIN <i>et al.</i> , 2012)
Bagaço de uva (<i>Vitis vinífera</i> , <i>Vitis labrusca</i>)	<i>S. aureus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Enterococos</i> , aeróbios mesófilos totais e bactérias psicrótróficas, bolores e leveduras	(MARTIN <i>et al.</i> , 2012; SAGDIC <i>et al.</i> , 2011)
Cascas de alho (<i>Allium sativum</i> L.)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>S. aureus</i>	(KALLEL <i>et al.</i> , 2014)
Cascas de amendoim (<i>Arachis hypogaea</i>)	<i>S. aureus</i> , <i>L. monocytogenes</i>	(MARTIN <i>et al.</i> , 2012)
Casca de bergamota (<i>Citrus bergamia</i> Risso)	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Pseudomonas putida</i>	(MANDALARI <i>et al.</i> , 2007)
Casca de coco (<i>Cocos nucifera</i> Linn.)	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Vibrio cholera</i>	(WONGHIRUNDECHA; SUMPAVAPOL, 2012)
Casca de grão de bico (<i>Cicer arietinum</i>)	<i>Bacillus cereus</i> , <i>S. aureus</i>	(KANATT; ARJUN; SHARMA, 2011)
Casca de limão (<i>Citrus acida</i>)	<i>B. subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>S. Typhimurium</i> , <i>Aspergillus ficuum</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Fusarium saloni</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Pencillium digitatum</i> , <i>Candida utilis</i>	(MAHMUD <i>et al.</i> , 2009)
Casca de maçã (<i>Malus</i>)	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>	(AGOURRAM <i>et al.</i> , 2013; DU <i>et</i>

<i>domestica</i>)		<i>al.</i> , 2009)
Casca de mangostão (<i>Garcinia mangostana</i> Linn.)	<i>B. cereus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>V. cholerae</i>	(WONGHIRUNDE CHA; SUMPAPAPOL, 2012)
Casca de maracujá (<i>Passiflora edulis</i>)	<i>Candida albicans</i>	(GALVÃO <i>et al.</i> , 2010)
Casca de romã (<i>Punica granatum</i>)	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i>	(AL-ZOREKY, 2009; HAYRAPETYAN; HAZELEGER; BEUMER, 2012; KANATT; CHANDER; SHARMA, 2010)
Casca da uva (<i>Vitis vinifera</i>)	<i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Salmonella infantis</i> , <i>Campylobacter coli</i>	(KATALINIĆ <i>et al.</i> , 2010)
Folha de amora (<i>Rubus ulmifolius</i>)	<i>Helicobacter pylori</i>	(MARTINI <i>et al.</i> , 2009)
Folha de buriti (<i>Mauritia flexuosa</i> L. f.)	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i>	(KOOLEN <i>et al.</i> , 2013)
Folha de cajá (<i>Spondias mombin</i>)	<i>B. cereus</i> , <i>L. innocua</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	(CRISTOFOLI <i>et al.</i> , 2018)
Folhas de caju (<i>Anacardium occidentale</i>)	<i>B. cereus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. Typhimurium</i> , <i>V. cholera</i>	(WONGHIRUNDE CHA; SUMPAPAPOL, 2012)
Folhas de oliveira (<i>Olea europaea</i>)	<i>Campylobacter jejuni</i> , <i>H. pylori</i> , <i>S. aureus</i>	(SUDJANA <i>et al.</i> , 2009)
Folha de videira (<i>Vitis vinifera</i> L.)	<i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>E. coli</i> e <i>Salmonella infantis</i>	(KATALINIĆ <i>et al.</i> , 2010)
Óleo da casca de tangerina (<i>Citrus reticulata</i>)	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Curvularia lunata</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Helminthosporium oryzae</i>	(CHUTIA <i>et al.</i> , 2009)
Óleos essenciais de laranja (<i>Citrus sinensis</i>), limão (<i>Citrus limon</i>) e tangerina (<i>Citrus reticulata</i>)	<i>Enterococcus faecium</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. enterica</i> , <i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i>	(ESPINA <i>et al.</i> , 2011)
Pele de amêndoa (<i>Prunus dulcis</i>)	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i>	(MANDALARI <i>et al.</i> , 2010)
Raiz de beterraba (<i>Beta vulgaris</i>)	<i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i>	(DJILAS; MARKOV, 2011)

Semente de maracujá (<i>Passiflora edulis</i>)	<i>C. albicans</i>	(GALVÃO <i>et al.</i> , 2010)
Semente de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	<i>S. aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>C. albicans</i>	(TAVEIRA <i>et al.</i> , 2010)
Semente de uva (<i>Vitis vinífera</i> , <i>Vitis labrusca</i>)	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. Typhimurium</i> , <i>E. coli</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> <i>S. aureus</i> <i>Pseudomonas spp.</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>Shewanella putrefaciens</i> , <i>Enterobacteriaceae family</i>	(PERUMALLA; HETTIARACHCH, 2011) (MARTIN <i>et al.</i> , 2012) (KAKAEI; SHAHBAZI, 2016)
Talos de beterraba (<i>Beta vulgaris</i>)	<i>S. aureus</i> , <i>L. monocytogenes</i>	(MARTIN <i>et al.</i> , 2012)

Kallel *et al.* (2014) estudaram a atividade antimicrobiana de extratos de casca de alho (*Allium sativum* L.) e demonstraram que o extrato inibiu o crescimento de bactérias patogênicas. Essa propriedade pode ser atribuída aos compostos fenólicos identificados nos extratos, tais como ácido cafeico, p-cumárico, ferúlico e di-ferúlico.

Extratos de folhas de amora (*Rubus ulmifolius*) e os seus principais componentes foram testados quanto à sua atividade antibacteriana contra *Helicobacter pylori*. O extrato mostrou um elevado teor de ácido elágico, quercetina 3-O-β-d-glucopyranoside e rutina. A Concentração Bactericida Mínima (CBM) para o extrato da folha após 48 h de exposição foi de 134 µg/mL. Para os compostos isolados, após 48 h, o ácido elágico e campferol apresentaram as menores concentrações, 2 e 6 µg/mL, respectivamente (MARTINI *et al.*, 2009). Os efeitos antibacterianos estão relacionados com diferentes propriedades biológicas (alvos celulares) sendo específicos para cada composto. A CBM para o extrato da folha de amora pode ser explicado devido a baixa concentração dos compostos individuais no extrato e a presença de outros componentes que podem não ter atividade antibacteriana.

Extratos da folha de cajá apresentaram concentração mínima inibitória (CMI) para a *E. coli* e *S. cerevisiae* de 15,6 e 250 µg/mL, respectivamente, sendo o primeiro estudo com esta matéria-prima a apresentar inibição para levedura. Os solventes orgânicos permitiram a extração do ácido cafeico, elágico, gálico, catequina e rutina, enquanto o fluido supercrítico permitiu a obtenção do ácido elágico, gálico, vanílico e catequina, ressaltando a importância da tecnologia utilizada para obtenção de extratos de acordo com a atividade biológica desejada (CRISTOFOLI *et al.*, 2018).

A atividade antimicrobiana de extratos ricos em flavonoides a partir da pele de amêndoa e casca de bergamota foi avaliada e comparada com os compostos orgânicos puros de cada subproduto. Extratos obtidos da pele de amêndoa foram inibitórios para *L. monocytogenes*, *S. aureus* e *S. enterica* ssp. *enterica* ser. Typhimurium nas concentrações de 250, 250 e 500 µg/mL, respectivamente. Entre os compostos puros, a naringenina apresentou a maior atividade com concentração mínima de 250-500 µg/mL, seguido de epicatequina, ácido protocatecuico, catequina e Isoramnetina-3-O-glucoside, estes dois últimos inibindo apenas *L. monocytogenes* e *S. enterica*, respectivamente (MANDALARI *et al.*, 2010). Já os extratos da casca de bergamota apresentaram inibição do crescimento das bactérias Gram-negativas (*E. coli*, *S. enterica* ser. Typhimurium, *P. putida*). Em relação aos

compostos puros o eriodictiol foi o mais ativo e inibiu as bactérias Gram-negativas já citadas, além de *B. subtilis*, *L. innocua*, *L. lactis*, *S. aureus* e *S. cerevisiae* com concentração mínima inibitória na faixa de 250 a 800 µg/mL. O composto naringenina foi o segundo mais eficaz (MANDALARI *et al.*, 2007).

Martin *et al.* (2012) avaliando a concentração mínima inibitória (CMI) e a concentração bactericida mínima (CBM) de subprodutos contra *S. aureus* e *L. monocytogenes*. Os extratos etanólico e metanólico de casca de amendoim (*Arachis hypogaea*) apresentaram os menores valores para *S. aureus*, com valores de 0,78 e 1,56 mg/mL para CMI e CBM, respectivamente. Para *L. monocytogenes* o extrato etanólico de bagaço de goiaba (*Psidium guajava*) obteve o menor CMI (1,56 mg/mL) embora tenha apresentado potencial bactericida reduzido com elevado valor de CBM (12,5 mg/mL).

Extratos da casca de grão de bico (*Cicer arietinum*) na concentração de 0,1% inibiram completamente *B. cereus* (KANATT; ARJUN; SHARMA, 2011). Já o extrato da casca de romã (*Punica granatum*) apresentou boa atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *B. cereus* possuindo CMI de 0,01% (KANATT; CHANDER; SHARMA, 2010). Esses resultados devem estar relacionados à maior quantidade de taninos, flavonoides e glicosídeos presentes no extrato metanólico da casca de romã e mostram que extratos obtidos de subprodutos vegetais são eficientes conservantes naturais.

4. Métodos de obtenção de antimicrobianos vegetais

O processo de extração dos compostos bioativos de resíduos de alimentos pode ser realizado por diversas metodologias. Essas têm o objetivo de não afetar as propriedades funcionais dos compostos e manter os padrões de qualidade e segurança. A substância a ser extraída e o rendimento do processo são os principais itens a serem observados na escolha da metodologia mais apropriada, assim como o solvente utilizado (CRISTOFOLI *et al.*, 2018; GIL-CHÁVEZ *et al.*, 2013).

Entre as técnicas convencionais de extração temos o Soxhlet, que é uma extração simples e requer pouco treinamento. Diversos tipos de solventes podem ser usados nesse processo que apresenta como vantagem o baixo custo do equipamento sendo possível realizar extrações simultâneas (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010). Como desvantagens desse processo têm-se o longo tempo de extração e o uso de temperaturas elevadas, podendo resultar na decomposição de compostos termolábeis, além do uso elevado de solventes, sendo necessária uma etapa posterior para eliminação deste, podendo ainda, obter extratos não livres de solventes (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

Tecnologias não térmicas apresentam vantagens quanto aos processos convencionais, otimizando a eficiência do processamento (GAÑÁN; BRIGNOLE, 2011), pois proporcionam maior seletividade, menor tempo de extração e uso de baixas temperaturas, preservando a qualidade de compostos termo sensíveis, além de não utilizar solventes orgânicos tóxicos (DÍAZ-REINOSO *et al.*, 2006; HERRERO *et al.*, 2010).

5. Possibilidade de aplicação dos extratos de subprodutos

Estudos científicos com compostos antimicrobianos mostram que esses apresentam uma alternativa emergente para a conservação dos alimentos.

Osaili *et al.* (2021) reportaram que a adição de especiarias (sal, pimenta, gengibre, jalapenho, limão e alho) e óleos essenciais (carvacrol, cinamaldeído e timol) em peito

de frango foi capaz de reduzir o número de *Salmonella* e *E. coli* durante o armazenamento a 4 e 10 °C. Esse comportamento está relacionado com as propriedades antimicrobianas desses ingredientes.

Abdalla *et al.* (2007) estudando o efeito antimicrobiano do extrato de sementes de manga (*Mangifera indica*) em leite de vaca cru constataram que, após 6 h de incubação a 25 °C, a adição de 3000 ppm do extrato resultou na redução da contagem bacteriana de $9,9 \times 10^8$ para $5,0 \times 10^3$ UFC/mL, enquanto que o crescimento de coliformes foi completamente inibida.

O extrato da casca de romã (*Punica granatum*) foi adicionado em pasta de carne e foi avaliado o efeito inibidor contra *L. monocytogenes*. A partir de uma contagem inicial de 3,5 log UFC/g, o extrato da romã armazenado a 4 °C permitiu o crescimento de 1,5 log ao fim do experimento (46 dias), enquanto que o controle atingiu 9,2 log no dia 18, demonstrando que o extrato pode servir como um aditivo com ação dupla, incorporando atividade antioxidante para a manutenção da cor do produto e exercendo efeito antibacteriano (HAYRAPETYAN; HAZELEGER; BEUMER, 2012).

Em estudo com extrato da casca de romã (*Punica granatum*) adicionado em produtos à base de frango foi comprovado o aumento da vida útil de 7 para 20 dias durante o armazenamento refrigerado (KANATT; CHANDER; SHARMA, 2010).

Al-Zoreky (2009) avaliou a eficácia do extrato da casca de romã contra *L. monocytogenes* em pedaços de peixe fresco. Os resultados revelaram que o extrato impediu a proliferação do patógeno, onde o número de células permaneceu abaixo do nível inoculado, 3 log UFC/g, até o fim do armazenamento (dia 6).

Em outro estudo, a adição de extrato de semente de uva em filmes de colza proteína-gelatina inibiu o crescimento de *E. coli* e *L. monocytogenes* após 14 dias de armazenamento (JANG; SHIN; SONG, 2011).

Os óleos essenciais de bergamota, limão e chá verde quando incorporados à filmes de polissacarídeos inibiram o crescimento bacteriano de *L. monocytogenes*, *E. coli* e *S. aureus* durante 12 dias, comprovando sua eficácia nesse tipo de produto (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2011). Além disso, filmes e revestimentos comestíveis ajudaram a reduzir as preocupações ambientais criados por embalagens de plástico convencional. Filmes de quitosana incorporado com extrato de semente de uva apresentaram efeitos benéficos no retardo da oxidação lipídica e crescimento de *Listeria monocytogenes* em truta refrigerada a 4 °C, auxiliando na manutenção da qualidade do produto e aumento da sua vida útil (KAKAEI; SHAHBAZI, 2016).

Extratos com propriedades antimicrobianas também são incorporados em sachês que são adicionados às embalagens normalmente utilizadas ou são aplicados diretamente em biofilmes para a preservação de carne, peixe, aves, pães, queijos, frutas e produtos hortícolas (CHIU; LAI, 2010; DA SILVEIRA *et al.*, 2014; HOSSEINI *et al.*, 2020; OSAILI *et al.*, 2021; SHIEKH; BENJAKUL; SAE-LEAW, 2019; TIWARI *et al.*, 2009; ZINOVIADOU; KOUTSOUMANIS; BILIADERIS, 2009).

A utilização de compostos bioativos a partir de resíduos vegetais em outros alimentos serve como conservante natural, preservando e aumentando a vida útil dos produtos, além de contribuir para a redução de perdas pós-colheita e incrementar a economia do país.

6. Considerações finais

A recuperação de compostos bioativos de resíduos vegetais se torna pertinente, uma vez que esses produtos são obtidos de fontes naturais e econômicas que não teriam mais utilidade, contribuindo para a redução de danos ao meio ambiente e possibilitando a conservação de outros alimentos através de um aditivo natural. Fazem-se necessárias mais pesquisas que possam abranger outros compostos presentes nestes alimentos, como fibras e vitaminas explorando novas possibilidades de uso na indústria alimentar, farmacêutica, cosmética e os benefícios destes compostos na saúde humana.

7. Referências

- ABDALLA, A. E. M. *et al.* Egyptian mango by-product 2: Antioxidant and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel. **Food Chemistry**, v. 103, n. 4, p. 1141–1152, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.026>.
- AGOURRAM, A. *et al.* Phenolic content, antioxidant potential, and antimicrobial activities of fruit and vegetable by-product extracts. **International Journal of Food Properties**, v. 16, n. 5, p. 1092–1104, 2013. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.576446>.
- AL-ZOREKY, N. S. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. **International Journal of Food Microbiology**, v. 134, n. 3, p. 244–248, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.07.002>.
- ALMEIDA, M. M. B. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2155–2159, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.051>.
- ANGULO, J. *et al.* Nutritional evaluation of fruit and vegetable waste as feedstuff for diets of lactating Holstein cows. **Journal of Environmental Management**, v. 95, n. SUPPL., p. S210–S214, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.06.050>.
- ARIF, T. *et al.* Natural products - Antifungal agents derived from plants. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 11, p. 631–638, 2009. <https://doi.org/10.1080/10286020902942350>.
- BISHT, K.; WAGNER, K. H.; BULMER, A. C. Curcumin, resveratrol and flavonoids as anti-inflammatory, cyto- and DNA-protective dietary compounds. **Toxicology**, v. 278, n. 1, p. 88–100, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.11.008>.
- BRASIL. Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília.
- ČANADANOVIĆ-BRUNET, J. M. *et al.* Antioxidant and antimicrobial activities of beet root pomace extracts. **Czech Journal of Food Science**, v. 29, n. 6, p. 575–585, 2011. <https://doi.org/10.17221/210/2010-CJFS>.
- CHANDA, S. *et al.* Fruit and vegetable peels - strong natural source of antimicrobics. In: MENDEZ-VILAS (org.). **Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology**. Badajoz: FORMATEX Research Center, 2010. p. 444–450.

CHEN, C.; ZHOU, J.; JI, C. Quercetin: A potential drug to reverse multidrug resistance. *Life Sciences*, **Life Science**, v.87, n. 11-12, p.333-338, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2010.07.004>.

CHIU, P. E.; LAI, L. S. Antimicrobial activities of tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum coatings containing green tea extracts in fruit-based salads, romaine hearts and pork slices. **International Journal of Food Microbiology**, v. 139, n. 1-2, p. 23-30, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.010>.

CHUTIA, M. *et al.* Antifungal activity and chemical composition of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against phytopathogens from North East India. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 3, p. 777-780, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.09.015>.

CÔTÉ, J. *et al.* Antimicrobial effect of cranberry juice and extracts. **Food Control**, v. 22, n. 8, p. 1413-1418, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.02.024>.

CRISTOFOLI, N. L. *et al.* Antioxidant and antimicrobial potential of cajazeira leaves (*Spondias mombin*) extracts. **Separation Science and Technology**, v. 54, n. 4, p. 580-590, 2018. <https://doi.org/10.1080/01496395.2018.1508233>.

DA SILVA, L. M. R. *et al.* Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 143, p. 398-404, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.001>.

DA SILVEIRA, S. M. *et al.* Chemical composition and antibacterial activity of *Laurus nobilis* essential oil towards foodborne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7°C. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 86-93, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.032>.

DAVID, J. R. D.; STEENSON, L. R.; DAVIDSON, P. M. Expectations and applications of natural antimicrobials to foods: A guidance document for users, suppliers, research and development, and regulatory agencies. **Food Protection Trends**, v. 33, n. 4, p. 241-250, 2013.

DÍAZ-REINOSO, B. *et al.* Supercritical CO₂ extraction and purification of compounds with antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 7, p. 2441-2469, 2006. <https://doi.org/10.1021/jf052858j>.

DU, Y. *et al.* Preparation of water-soluble chitosan from shrimp shell and its antibacterial activity. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, n. 1, p. 103-107, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.07.004>.

EKSTRÖM, A. M. *et al.* Dietary quercetin intake and risk of gastric cancer: Results from a population-based study in Sweden. **Annals of Oncology**, v. 22, n. 2, p. 438-443, 2011. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdq390>.

ESPINA, L. *et al.* Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. **Food Control**, v. 22, n. 6, p. 896-902, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.11.021>.

FAO. **Definitional Framework Of Food Loss Global Initiative on Food Loss and Waste Reduction**. Rome, Italy. 2014. Disponível em: www.fao.org/publications. Acesso em: 11 nov. 2020.

FAVA, F. *et al.* New advances in the integrated management of food processing by-products in Europe: Sustainable exploitation of fruit and cereal processing by-products with the production of new food products (NAMASTE EU). **New Biotechnology**, v. 30, n. 6, p. 647–655, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2013.05.001>.

FERRI, M. *et al.* Recovery of polyphenols from red grape pomace and assessment of their antioxidant and anti-cholesterol activities. **New Biotechnology**, v. 33, n. 3, p. 338–344, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2015.12.004>.

FILHO, W. B.do N.; FRANCO, C. R. Avaliação do potencial dos resíduos produzidos através do processamento agroindustrial no Brasil. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, 2015. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150116>.

FRIEDMAN, M. Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 51, p. 116–134, 2007. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600173>.

GALVÃO, K. C. S. *et al.* Análise da atividade inibitória de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* sobre *Candida albicans*. **Revista Biociências**, v. 16, p. 80–85, 2010.

GAÑÁN, N.; BRIGNOLE, E. A. Fractionation of essential oils with biocidal activity using supercritical CO₂ - Experiments and modeling. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 58, n. 1, p. 58–67, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2011.04.010>.

GHOSH, D.; SCHEEPENS, A. Vascular action of polyphenols. **Molecular Nutrition and Food Research**, v.53, p. 322–331, 2009. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200800182>.

GIL-CHÁVEZ, G.J. *et al.* Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food Ingredients: An Overview. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 1, p. 5–23, 2013. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12005>.

GRESELE, P. *et al.* Effects of resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: An update. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.22, p. 201–211, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.07.004>.

GUO, W.; KONG, E. H.; MEYDANI, M. Dietary polyphenols, inflammation, and cancer. **Nutrition and cancer**, v. 61, p. 807–810, 2009. <https://doi.org/10.1080/01635580903285098>.

HAYRAPETYAN, H.; HAZELEGER, W. C.; BEUMER, R. R. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by pomegranate (*Punica granatum*) peel extract in meat paté at different temperatures. **Food Control**, v. 23, n. 1, p. 66–72, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.06.012>.

HERRERO, M. *et al.* Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2495–2511, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.12.019>.

HOSSEINI, M. *et al.* Effect of sodium alginate coating containing clove (*Syzygium Aromaticum*) and lemon verbena (*Aloysia Citriodora*) essential oils and different packaging treatments on shelf life extension of refrigerated chicken breast. **Journal of Food Processing and Preservation**, 2020. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfpp.14946>. Acesso em: 11 nov. 2020.
<https://doi.org/10.1111/jfpp.14946>.

HSUEH, P. R. *et al.* Ciprofloxacin-resistant *Salmonella enterica* Typhimurium and *Choleraesuis* from pigs to humans, Taiwan. **Emerging Infectious Diseases**, v. 10, n. 1, p. 60–68, 2004. <https://doi.org/10.3201/eid1001.030171>.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v.126, p. 1821-1835, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>.

JANG, S-A.; SHIN, Y-J.; SONG, K. B. Effect of rapeseed protein-gelatin film containing grapefruit seed extract on “Maehyang” strawberry quality. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 3, p. 620–625, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02530.x>.

JOSEPH, J. *et al.* Nutrition, brain aging, and neurodegeneration. In: JOURNAL OF NEUROSCIENCE 2009, **Anais [...]**. : J Neurosci, 2009. p. 12795–12801. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19828791/>. Acesso em: 14 nov. 2020. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3520-09.2009>.

KAKAEI, S.; SHAHBAZI, Y. Effect of chitosan-gelatin film incorporated with ethanolic red grape seed extract and *Ziziphora clinopodioides* essential oil on survival of *Listeria monocytogenes* and chemical, microbial and sensory properties of minced trout fillet. **LWT - Food Science and Technology**, v. 72, p. 432–438, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.05.021>.

KALLEL, F. *et al.* Garlic (*Allium sativum* L.) husk waste as a potential source of phenolic compounds: Influence of extracting solvents on its antimicrobial and antioxidant properties. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 34–41, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.07.047>.

KANATT, S. R.; CHANDER, R.; SHARMA, A. Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, n. 2, p. 216–222, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02124.x>.

KANATT, S. R.; ARJUN, K.; SHARMA, A. Antioxidant and antimicrobial activity of legume hulls. **Food Research International**, v. 44, n. 10, p. 3182–3187, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.08.022>.

KATALINIĆ, V. *et al.* Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). **Food Chemistry**, v. 119, n. 2, p. 715–723, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.019>.

KIM, Il S. *et al.* Antioxidant activities of hot water extracts from various spices. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 6, p. 4120–4131, 2011. <https://doi.org/10.3390/ijms12064120>.

KONG, K. W. *et al.* Revealing the power of the natural red pigment lycopene. **Molecules**, v. 15, n. 2, p. 959–987, 2010. <https://doi.org/10.3390/molecules15020959>.

KOOLEN, H. H. F. *et al.* Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC-ESI-MS/MS. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p. 467–473, 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.039>.

LEE, J. H. *et al.* Apple flavonoid phloretin inhibits *Escherichia coli* O157:H7 biofilm formation and ameliorates colon inflammation in rats. **Infection and Immunity**, v. 79, n. 12, p. 4819–4827, 2011. <https://doi.org/10.1128/IAI.05580-11>.

LIU, R.; MABURY, S. A. Synthetic phenolic antioxidants: A review of environmental occurrence, fate, human exposure, and toxicity. **Environmental science & technology**, v. 54, n. 19, p. 11706–11719, 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c05077>.

LUQUE DE CASTRO, M. D.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2383–2389, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.027>.

MAHMUD, S. *et al.* Volatile components, antioxidant and antimicrobial activity of *Citrus acida* var. sour lime peel oil. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 13, n. 2, p. 195–198, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2009.03.001>.

MANDALARI, G. *et al.* Antimicrobial activity of flavonoids extracted from bergamot (*Citrus bergamia* Risso) peel, a byproduct of the essential oil industry. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, n. 6, p. 2056–2064, 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03456.x>.

MANDALARI, G. *et al.* Antimicrobial potential of polyphenols extracted from almond skins. **Letters in Applied Microbiology**, v. 51, n. 1, p. 83–89, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02862.x>.

MARTIN, J. G. P. *et al.* Antimicrobial potential and chemical composition of agro-industrial wastes. **Journal of Natural Products**, v. 5, p. 27–36, 2012.

MARTINI, S. *et al.* Antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* strains and antioxidant properties of blackberry leaves (*Rubus ulmifolius*) and isolated compounds. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 34, n. 1, p. 50–59, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.01.010>.

MATTILA, P. H. *et al.* Polyphenol and vitamin C contents in European commercial blackcurrant juice products. **Food Chemistry**, v. 127, n. 3, p. 1216–1223, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.129>.

O'SHEA, N.; ARENDT, E. K.; GALLAGHER, E. Dietary fibre and phytochemical characteristics of fruit and vegetable by-products and their recent applications as novel ingredients in food products. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** v.16, p.1-10, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.06.002>.

OSAILI, T. M. *et al.* Effect of active essential oils added to chicken tawook on the behaviour of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 during storage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 337, p. 108947, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108947>.

PERUMALLA, A. V. S.; HETTIARACHCHY, N. S. Green tea and grape seed extracts — Potential applications in food safety and quality. **Food Research International**, v. 44, n. 4, p. 827–839, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.022>.

RIBEIRO, J. S. *et al.* Natural antioxidants used in meat products: A brief review. **Meat Science**, v.148, p. 181-188, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.10.016>.

RUBILAR, M. *et al.* Separation and HPLC-MS identification of phenolic antioxidants from agricultural residues: Almond hulls and grape pomace. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, mv. 55, n. 25, p. 10101–10109, 2007. <https://doi.org/10.1021/jf0721996>.

SAGAR, N. A. *et al.* Fruit and vegetable waste: Bioactive compounds, their extraction, and possible utilization. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 3, p. 512–531, 2018. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12330>.

SAGDIC, O. *et al.* RP-HPLC–DAD analysis of phenolic compounds in pomace extracts from five grape cultivars: Evaluation of their antioxidant, antiradical and antifungal activities in orange and apple juices. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1749–1758, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.075>.

SALAS, M. P. *et al.* Antifungal activity of natural and enzymatically-modified flavonoids isolated from citrus species. **Food Chemistry**, v. 124, n. 4, p. 1411–1415, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.100>.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L. *et al.* Antimicrobial activity of polysaccharide films containing essential oils. **Food Control**, v. 22, n. 8, p. 1302–1310, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.02.004>.

SERGEANT, T. *et al.* Anti-inflammatory effects of dietary phenolic compounds in an in vitro model of inflamed human intestinal epithelium. **Chemico-Biological Interactions**, v. 188, n. 3, p. 659–667, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.08.007>.

SHIEKH, K. A.; BENJAKUL, S.; SAE-LEAW, T. Effect of Chamuang (*Garcinia cowa* Roxb.) leaf extract on inhibition of melanosis and quality changes of Pacific white shrimp during refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 270, p. 554–561, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.139>.

SUDJANA, A. N. *et al.* Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 33, n. 5, p. 461–463, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.10.026>.

SZABO, M. R. *et al.* Antioxidant and antimicrobial properties of selected spice extracts. **International Journal of Food Properties**, v. 13, n. 3, p. 535–545, 2010. <https://doi.org/10.1080/10942910802713149>.

SZKUDELSKA, K.; SZKUDELSKI, T. Resveratrol, obesity and diabetes. **European Journal of Pharmacology**, v.635, p. 1-8, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.02.054>.

TAVEIRA, M. *et al.* *Lycopersicon esculentum* Seeds: An industrial byproduct as an antimicrobial agent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 17, p. 9529–9536, 2010. <https://doi.org/10.1021/jf102215g>.

TIWARI, B. K. *et al.* Application of natural antimicrobials for food preservation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 5987-60000, 2009. <https://doi.org/10.1021/jf900668n>.

TREMOCOLDI, M. A. *et al.* Exploration of avocado by-products as natural sources of bioactive compounds. **PLOS ONE**, v. 13, n. 2, p. e0192577, 2018.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192577>.

VAN DER GOOT, A. J. *et al.* Concepts for further sustainable production of foods. **Journal of Food Engineering**, v.168, p. 42-51, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.07.010>.

WANG, J. G. *et al.* The effect of cinnamon extract on insulin resistance parameters in polycystic ovary syndrome: a pilot study. **Fertility and Sterility**, v. 88, n. 1, p. 240–243, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2006.11.082>.

WHO. **Food safety. World Health Organizations**. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>. Acesso em: 14 nov. 2020.

WONGHIRUNDECHA, S.; SUMPAVAPOL, P.. Antibacterial activity of selected plant by-products against food-borne pathogenic bacteria. In. INTERNATIONAL CONFERENCE ON NUTRITION AND FOOD SCIENCES 2012, **Anais [...]**. [s.l: s.n.] p. 116–120. Disponível em: <http://www.ipcbee.com/vol39/023-ICNFS2012-N038.pdf>. Acesso em: 19 mar. 2017.

YAHIA, E. M. **Fruit and vegetable phytochemicals**. Chichester: Wiley-Blackwell Publishing, 2017. 1488p.

ZINOVIADOU, K. G.; KOUTSOUMANIS, K. P.; BILIADERIS, C. G. Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. **Meat Science**, v. 82, n. 3, p. 338–345, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.02.004>.

Autores

Nathana Lazzarotto Cristofoli¹, Francine Novack Victoria^{2,*}

1. Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* em Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil; Universidade do Algarve, Campus da Penha, 8005-139, Faro, Portugal.

2. Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil.

* Autor para correspondência: francinevictoria@yahoo.com.br

CAPÍTULO 6

Caracterização de óleo essencial extraído de folhas de *Citrus bergamia*

Franciene Almeida Villanova, Dianini Hüttner Kringel, Roberto Pedroso de Oliveira, Caroline Dellinghausen Borges

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-3-8.c6>

Resumo

Óleos essenciais podem ser obtidos de plantas e condimentos e destacam-se por suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes, o que os tornam interessantes para a utilização na indústria de alimentos, farmacêutica e de embalagens. Objetivou-se com o presente estudo caracterizar o óleo essencial (OE) obtido de folhas de *Citrus bergamia* através do rendimento de extração, da determinação de componentes individuais, da atividade antimicrobiana e da capacidade antioxidante. O OE de *Citrus bergamia* apresentou rendimento de 0,75%, tendo como componentes majoritários o linalol e o acetato de linalila. Pelos testes CIM e CBM, o OE demonstrou atividade frente à *Salmonella* Typhimurium, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*. Para a atividade antioxidante avaliada pelo método ABTS, o OE apresentou boa habilidade na eliminação dos radicais livres, de acordo com outros estudos sobre óleos essenciais de folhas de *Citrus*.

Palavras-chave: atividade antimicrobiana, atividade antioxidante, composição química, rendimento de extração.

1. Introdução

Os óleos essenciais (OE) são constituídos por misturas complexas de compostos voláteis, que apresentam baixa massa molecular e são insolúveis em água (CALO *et al.*, 2015; DIMA; DIMA, 2015). Esses óleos podem ser obtidos de plantas e condimentos, destacam-se por suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes, o que os tornam interessantes para a utilização na indústria de alimentos, farmacêutica e de embalagens (ATARÉS; CHIRALT, 2016).

A atividade antimicrobiana e antioxidante dos OE está intimamente ligada à presença de terpenos como limoneno, linalol, carvacrol, timol e cresol (CALO *et al.*, 2015; FANCELLO *et al.*, 2016). Os compostos bioativos que possuem capacidade antimicrobiana e antioxidante podem ser extraídos de diversas espécies vegetais, dentre elas as frutas cítricas, cujo OE encontra-se, especialmente, na casca dos frutos, folhas e flores (JING *et al.*, 2014).

Os citros estão entre as culturas mais produzidas no mundo, e seu OE pode ser extraído por destilação ou prensagem a frio (DIMA; DIMA, 2015; MASSON *et al.*, 2016). O *Citrus bergamia*, conhecido como bergamota, pertence à família Rutaceae e

caracteriza-se por ser uma planta endêmica da região de Calábria (Itália), onde seu fruto é utilizado na medicina popular como agente hipocolesterolêmico, além do uso como antisséptico e anti-inflamatório (DI DONNA *et al.*, 2014; SALERNO *et al.*, 2015).

A atividade antimicrobiana de OE extraídos de frutas cítricas, como a bergamota, é atribuída principalmente à presença de compostos como D-limoneno, linalol ou citral (ALOUÍ *et al.*, 2014). Já a atividade antioxidante está relacionada com a presença de compostos fenólicos e carotenoides, além dos terpenos (LÓPEZ-MUÑOZ; ANTONIO-PÉREZ; DÍAZ-REYES, 2015; RUSSO *et al.*, 2016).

Os frutos de *Citrus bergamia* destinam-se, principalmente, à obtenção de óleo essencial, o qual é comercialmente extraído da casca, conforme já relatado em trabalhos anteriores (FURNERI *et al.*, 2012; LAURO *et al.*, 2015; NAVARRA *et al.*, 2014; RUSSO *et al.*, 2016). Entretanto, são limitados os estudos cujo óleo é extraído das folhas e flores (JING *et al.*, 2014).

Neste contexto, objetivou-se com o presente estudo caracterizar o OE obtido de folhas de *Citrus bergamia* através do rendimento de extração, da determinação de componentes individuais, da atividade antimicrobiana e da capacidade antioxidante.

2. Material e Métodos

2.1. Material

Folhas de bergamota (*Citrus bergamia*, Risso et Poiteau), coletadas em agosto de 2016, no município de Montenegro-RS, Brasil.

2.2. Métodos

2.2.1. Extração do OE

Amostras de folhas frescas de *Citrus bergamia* foram trituradas (liquidificador) com água destilada na proporção de, aproximadamente, 1:10 (p/v), e submetidas à hidrodestilação utilizando extrator Clevenger. Após 4 h, o OE foi recolhido, acondicionado em frasco de vidro e armazenado em freezer (-18 °C). Após a obtenção do OE, foi determinado o rendimento de extração utilizando a equação 1:

$$\text{Rendimento de extração (\%)} = \frac{\text{massa do óleo extraída (mL)}}{\text{biomassa vegetal (mL)}} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

2.2.2. Determinação de componentes individuais por CG-MS

A determinação dos componentes individuais do OE de folha de bergamota foi realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-MS), utilizando coluna capilar Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Em um vial de 1,5 mL foram misturados 20 µL do OE de bergamota com 480 µL de hexano, para posterior injeção em um GCMS Shimadzu QP2010 Ultra com autoinjeter AOC-20i e biblioteca de espectro de massas NIST 2011.

Os parâmetros de injeção, cromatografia e espectrometria de massas foram configurados segundo Juliani *et al.* (2008). Injetou-se 1 µL de amostra com temperatura do injetor a 200 °C, no modo *splitless*. O gás de transporte utilizado foi hélio, sob um fluxo de 1,08 mL.min⁻¹ e velocidade linear como modo de controle de fluxo. A temperatura foi mantida a 60 °C durante 1 min e depois aumentou-se gradualmente 5 °C.min⁻¹ até 180 °C (mantida por 1 min). Na sequência, a temperatura foi ajustada para 200 °C e os espectros de massas foram registrados no intervalo de 40 a 450 m/z. Os componentes individuais foram identificados pelo seu espectro de massas correspondentes, obtida por comparação com a biblioteca interna. A composição em percentagem foi obtida a partir da medição da integração das áreas sob os picos.

2.2.3. Avaliação da atividade antimicrobiana

Para a avaliação da atividade antimicrobiana, realizaram-se testes de difusão em disco, concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima.

2.2.3.1. Teste de difusão em disco

A determinação do espectro de ação do OE foi realizada através da técnica de difusão em disco (CLSI, 2015). Culturas bacterianas (*Listeria monocytogenes* ATCC 766, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15443, *Escherichia coli* NTC 12900 e *Salmonella typhimurium* ATCC 14028) foram suspensas em água peptonada (0,1%) obtendo a concentração de 10⁸ UFC.g⁻¹ (0,5 McFarland). O inóculo bacteriano foi semeado com swabs estéreis na superfície de placas com Ágar Mueller-Hinton (MH - Oxoid®), sobre as quais foram dispostos discos de papel estéreis (Laborclin®) de 6 mm de diâmetro. Adicionou-se 10 µL do OE em cada disco e, após 1 h de espera para a absorção, as placas foram incubadas a 37 °C. Após 24 h, verificou-se a existência de halos de inibição, quantificando os existentes com paquímetro digital (King.tools®). Um controle negativo com os discos adicionados de água destilada estéril foi utilizado, e os resultados foram expressos em mm.

2.2.3.2. Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM)

A CIM foi determinada através do teste de microdiluição em placa (CLSI, 2015) com placas de 96 poços. O OE foi diluído em caldo Brain Heart Infusion (BHI-Oxoid®), inoculado com as bactérias (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *S. Typhimurium*) na concentração de 10⁴ UFC.mL⁻¹, e adicionado de 1% de Tween 80, obtendo-se concentrações de OE de 166,7 a 0,3 µL.mL⁻¹. As placas foram incubadas a 36 °C por 24 h e, na sequência, adicionou-se 20 µL de cloreto de trifetil tetrazólio a 0,5% em todas as cavidades, sendo após incubadas por mais 15 min. A leitura foi realizada em espectrofotômetro de placas (Robonik® Readwel plate) a 625 nm, considerando como CIM a maior diluição, onde não houve crescimento celular. Como controle negativo de crescimento foi utilizado o caldo BHI com OE (50 µL.mL⁻¹) sem a inoculação das bactérias, e como controle positivo de crescimento foi utilizado caldo BHI inoculado as bactérias sem a adição do OE (OJEDA-SANA *et al.*, 2013).

Para detectar a CBM, foram plaqueadas em Ágar BHI alíquotas de 10 µL de cada poço, onde houve inibição no teste da CIM. Foi considerada como CBM a menor concentração onde não houve crescimento neste novo meio após 24 h a 37 °C. Todos os testes foram realizados em triplicata.

2.2.4. Avaliação da atividade antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante do OE foi realizada através de reação colorimétrica com o radical ABTS (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), realizada por espectrofotometria.

A determinação foi realizada segundo o método descrito por Re *et al.* (1999). Uma solução-mãe de ABTS (7 mM) e persulfato de potássio (2,45 mM) foi preparada pela mistura destes compostos na proporção de 2:1, sendo esta incubada durante 12-16 h. Após, a absorbância da solução foi ajustada com etanol para 0,7 a 734 nm. Uma alíquota de 10 µL de amostras reagiu com 2,9 mL da solução de trabalho ABTS durante 10 min à temperatura ambiente e, então, a absorbância foi medida a 734 nm. O resultado foi expresso em µmol de equivalentes de trolox por mL de óleo, e em % de inibição.

3. Resultados e Discussão

3.1. Rendimento de extração

A hidrodestilação de folhas frescas de *Citrus bergamia* resultou em um rendimento de extração de óleo essencial de $0,75 \pm 0,02\%$. Apesar de não haver dados reportados na literatura sobre o rendimento de extração de OE de folha de *Citrus bergamia*, estes podem variar de acordo com a fonte vegetal (espécie e porção vegetal), o método de extração, a época de colheita, o tipo de solo, clima e a umidade relativa do ar (BURT, 2004). Em relação à extração do óleo de folhas de outras espécies de *Citrus*, como *Citrus aurantium* (0,30%), *Citrus deliciosa* (0,20%), *Citrus sunki* (0,36%) e *Citrus limon* (0,29%), o valor obtido foi superior (ALMEIDA *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2012; CAMPELO *et al.*, 2013). No entanto, outras condições e métodos de extração devem ser avaliados a fim de melhorar o resultado obtido.

3.2. Determinação de componentes individuais por CG-MS

A composição química do óleo essencial de folhas de *Citrus bergamia* está apresentada na Tabela 1. Foram encontrados 13 compostos químicos, sendo o linalol o composto majoritário (42,95%), seguido do acetato de linalila (23,55%), α -terpineol (10,17%), acetato de geranil (6,90%) e 2,6-octadienal 3,7-dimetil-acetato (3,67%). Os demais compostos somados formam aproximadamente 13% da composição química deste óleo.

Furneri *et al.* (2012) ao realizarem a determinação dos componentes do OE extraído da casca de bergamota (*Citrus bergamia*) por cromatografia gasosa encontraram 59 compostos, dentre os quais destacaram-se o limoneno (25,64 a 33,69%), acetato de linalila (20,13 a 27,05%), linalol (5,49 a 13,23%), γ -terpineno (7,35 a 9,64%) e β -pineno (4,53 a 6,00%) como os principais compostos voláteis. Comportamento semelhante foi encontrado por Nabiha *et al.* (2010) ao analisar o óleo essencial de casca de bergamota (*Citrus bergamia*), em que foi verificada a presença de 46 compostos, sendo o limoneno o componente majoritário (59,21%), seguido do acetato de linalila (16,83%) e linalol (9,51%). Assim, ao avaliar os compostos presentes no OE extraído das folhas com os OE extraídos das cascas de *Citrus bergamia* pode-se concluir que há distinção entre os compostos e de concentração destes. E em relação à

composição do OE de *Citrus bergamia* (tanto da casca como das folhas) com o de outras espécies cítricas, observa-se que o OE de *Citrus bergamia* caracteriza-se por apresentar maior concentração relativa dos compostos linalol e acetato de linalila (FURNERI *et al.*, 2012).

De modo geral, a composição química dos OE, sejam da mesma ou de diferentes espécies, pode variar em função da parte da planta utilizada para a extração (flores, partes verdes como hastes e folhas, casca, fruto inteiro, pericarpo ou semente), do local de cultivo, do tipo de solo, do grau de maturação e do método de extração (ANTUNES *et al.*, 2017; CALO *et al.*, 2015).

Tabela 1. Composição química do óleo essencial de folha de *Citrus bergamia*.

Composto químico	Tempo de retenção (min)	Concentração relativa (%)
β -Pineno	6,1	1,13
β -Mirceno	6,3	1,96
D-Limoneno	7,3	0,86
trans- β -Ocimeno	7,5	2,23
Z-Ocimeno	7,8	2,23
2-Carene	8,9	0,53
Linalol	9,3	42,95
α -Terpineol	11,8	10,17
Acetato de linalila	13,6	23,55
2,6-Octadienol, 3,7-dimetil acetato	16,6	3,67
Acetato de geranil	17,1	6,90
Cariofileno	18,2	2,26
Germacreno B	20,2	1,58

3.3. Atividade antimicrobiana

Os resultados da atividade antimicrobiana avaliada pelas técnicas de disco difusão, CIM e CBM do OE de *Citrus bergamia* frente a diferentes bactérias patogênicas estão apresentados na Tabela 2. Quanto ao teste de difusão em disco, o OE ocasionou a inibição de quatro das cinco bactérias testadas (Tabela 2), com halo de até 29,00 mm de diâmetro (*Escherichia coli*). Assim, com exceção da *Listeria monocytogenes*, o OE extraído das folhas de *Citrus bergamia* apresentou forte inibição dos micro-organismos avaliados, de acordo com a classificação de Delfino *et al.* (2008). De acordo com os autores, halos de até 4 mm são de fraca inibição ao micro-organismo, halos de 5 a 9 mm de média inibição e maiores que 10 mm de forte inibição.

Seguindo este mesmo critério, média inibição foi observada por Gomes *et al.* (2013) para o OE de folhas de *Citrus reticulata* Blanco contra *Escherichia coli* e *Salmonella epidermidis*, com halos de 7,0 e 8,0 mm, respectivamente. Santos *et al.* (2016) observaram que OE das cascas de *Citrus reticulata* v. *tangerine* e *Citrus aurantium* var.

dulcis apresentam média inibição frente a *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, com halos de 4,8 e 5,3 mm (*S. aureus*) e 5,0 e 8,0 mm (*E. coli*).

Quanto à concentração inibitória e bacteriostática mínima, não foram observadas diferenças no espectro de ação do OE, o qual apresentou uma CIM de $1,17 \mu\text{L.mL}^{-1}$ e CBM de $2,34 \mu\text{L.mL}^{-1}$.

De acordo com Aligiannis *et al.* (2001), CIM de até $500 \mu\text{L}$ de extrato ou óleo essencial por mililitro de diluente são inibidores potentes, entre 600 e $1500 \mu\text{L.mL}^{-1}$ são inibidores moderados e acima de $1600 \mu\text{L.mL}^{-1}$ são inibidores fracos. Dessa forma, seguindo os critérios de Aligiannis *et al.* (2001), pode-se considerar que o OE de *Citrus bergamia* é um inibidor potente para todas as bactérias patogênicas testadas.

Utilizando esta classificação, Santos *et al.* (2016) demonstraram que OE de cascas de *Citrus reticulata* v. *tangerine* e *Citrus aurantium* var. *dulcis* apresentam forte inibição (CIM de $40 \mu\text{L.mL}^{-1}$ e $160 \mu\text{L.mL}^{-1}$, respectivamente) frente a *E. coli* e a *Salmonella*, e CBM de $160 \mu\text{L.mL}^{-1}$ e $320 \mu\text{L.mL}^{-1}$, respectivamente.

Geralmente, a maioria dos OE apresentam atividade antimicrobiana superior frente a bactérias Gram positivas, o que se deve às diferenças existentes entre a parede celular destes dois grupos de bactérias. Bactérias Gram negativas possuem uma dupla camada fosfolipídica externa, composta por lipopolissacarídeos, consequentemente pelo caráter hidrofóbico desta estrutura, os compostos apolares dos óleos essenciais encontram dificuldade para penetrar na célula bacteriana. Enquanto nas bactérias Gram positivas 90 a 95% da parede celular é composta por peptidoglicano, facilitando a penetração de componentes apolares (NAZZARO *et al.*, 2013). No presente estudo, observou-se que o OE não foi eficaz na inibição da bactéria *Listeria monocytogenes* pelo teste de difusão em disco, entretanto pode-se observar atividade do OE nos demais métodos utilizados, o que demonstra a importância da necessidade de avaliação da atividade antimicrobiana por diferentes métodos.

A atividade inibitória do OE está normalmente relacionada à alta concentração de compostos oxigenados, como o linalol e acetato de linalila, que no presente estudo, representam 66,5% da composição (FANCELLO *et al.*, 2016). Além disso, a ação antimicrobiana pode ser advinda da capacidade dos compostos em penetrar através das membranas bacterianas para o interior das células, inibindo propriedades funcionais e lipofílicas das mesmas (BAJPAI; BAEK; KANG, 2012). Outros fatores que interferem na ação dos óleos contra micro-organismos são as condições de crescimento e extração, que podem afetar as quantidades dos principais componentes antimicrobianos dos EOs e por consequência, sua eficiência e espectro de ação (CALO *et al.*, 2015).

Tabela 2. Atividade antimicrobiana por disco difusão, CIM e CBM do OE extraído de folhas de *Citrus bergamia* frente a diferentes bactérias.

Bactéria	Cepa	Análises		
		Difusão em disco (mm)	CIM (μL.mL ⁻¹)	CBM (μL.mL ⁻¹)
Gram negativas:				
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028	13,67 ± 3,78	1,17	2,34

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15442	14,67 ± 2,30	1,17	2,34
<i>Escherichia coli</i>	NTC 12900	29,00 ± 1,41	1,17	2,34
Gram positivas:				
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	28,00 ± 4,24	1,17	2,34
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 7644	-	1,17	2,34

Resultados expressos em média ± desvio padrão, para o halo de inibição. CIM = Concentração inibitória mínima, CBM = Concentração bactericida mínima

3.4. Atividade antioxidante do óleo essencial (OE)

O OE apresentou atividade antioxidante de $1,29 \pm 0,08$ μmol Trolox equiv. mL^{-1} de óleo ou $69,12 \pm 4,11\%$ de inibição pelo método ABTS (KIM *et al.*, 2002). A partir do resultado encontrado pode-se inferir que, comparando a outros estudos com OE de folhas de *Citrus* (FANCELLO *et al.*, 2016; ELLOUZE *et al.*, 2012) o OE estudado apresenta boa habilidade de eliminar radicais livres.

Valores similares foram obtidos por Fancelo *et al.* (2016) ao avaliar a atividade antioxidante de óleo essencial de *Citrus limon* var. *pompia* na concentração de $1,25 \text{ mg.mL}^{-1}$ após 50 min de reação. Urbizu-González *et al.* (2017) encontraram resultados semelhantes para a capacidade antioxidante de OE de folhas de *Turnera diffusa* (planta medicinal) cultivada em diferentes regiões do México, a qual variou de 60,85 a 72,30 em % de inibição, dependendo da região geográfica.

De modo geral, a capacidade antioxidante de compostos vegetais pode variar em função de fatores como as condições ambientais do clima e do solo, por diferenças genotípicas e pelos tratamentos culturais aplicados durante o cultivo (CHEN *et al.*, 2016).

4. Conclusão

O OE de folha de *Citrus bergamia* apresentou rendimento de extração de 0,75%, tendo como componentes majoritários o linalol e o acetato de linalila. Houve influência do método utilizado na avaliação da atividade antimicrobiana, sendo que pelos testes CIM e CBM, o OE apresentou atividade antimicrobiana frente a *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*. Para a atividade antioxidante avaliada pelo método ABTS, o OE apresentou boa habilidade na eliminação dos radicais livres, conforme outros estudos realizados com óleo essencial de folhas de *Citrus*. Outros métodos de extração devem ser avaliados a fim de melhorar o rendimento do óleo. O OE apresenta potencial de extração para a aplicação em diferentes áreas como na indústria de alimentos.

5. Referências

ALIGIANNIS, N. *et al.* Composition and antimicrobial activity of the essential oil of two *Origanum* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.40, p.4168-4170, 2001. <https://doi.org/10.1021/jf001494m>.

ALMEIDA, L. A. DA H. *et al.* Caracterização química do óleo essencial em folhas de *Citrus Aurantium* L. E *C. Deliciosa* Ten. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 2012, Belém. Anais[...]. Belém: SBRG, 2012. p.1-4.

ALLOUI, H. *et al.* Efficacy of the combined application of chitosan and Locust Bean Gum with different citrus essential oils to control postharvest spoilage caused by *Aspergillus flavus* in dates. **International Journal of Food Microbiology**, v.170, p. 21-28, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.10.017>.

ANTUNES, M. D. *et al.* Antimicrobial electrospun ultrafine fibers from zein containing eucalyptus essential oil/cyclodextrin inclusion complex. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.104, p.874-882, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.06.095>.

ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v.48, p.51-62, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.001>.

BAJPAI, V. K.; BAEK, K.-H.; KANG, S. C. Control of *Salmonella* in foods by using essential oils: a review. **Food Research International**, v.45, p.722-734, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.052>.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, p.223-253, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>.

CALO, J. R. *et al.* Essential oils as antimicrobials in food systems - A review. **Food Control**, 54, 111-119, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.12.040>.

CAMPELO, L.M.L. *et al.* Constituintes químicos e estudos toxicológicos do óleo essencial extraído das folhas de *Citrus limon* Burn (Rutaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.15, p.708-716, 2013. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000500011>.

CHEN, H. *et al.* Variation in total anthocyanin, phenolic contents, antioxidant enzyme and antioxidant capacity among different mulberry (*Morus* sp.) cultivars in China. **Scientia Horticulturae**, v.213, p.186-192, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.10.036>.

CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard, 11th edition, 2015.

DELFINO, T. P. C. Sinergismo entre substâncias antimicrobianas e *Lactobacillus acidophilus* na inibição de *Salmonella enteritidis* e *Salmonella gallinarum*. 2008. 80 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Julio De Mesquita Filho, Jaboticabal, 2008.

DI DONNA, L. *et al.* Hypocholesterolaemic activity of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl flavanones enriched fraction from bergamot fruit (*Citrus bergamia*): “*In vivo*” studies. **Journal of Functional Foods**, v.7, p.558-568, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.12.029>.

DIMA, C.; DIMA, S. Essential oils in foods: extraction, stabilization, and toxicity. **Current Opinion in Food Science**, v.5, p.29-35, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.07.003>.

ELLOUZE, I. *et al.* Season's variation impact on *Citrus aurantium* leaves essential oil: Chemical composition and biological activities. **Journal of Food Science**, v.77, p.173-180, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02846.x>.

FANCELLO, F. *et al.* Chemical characterization, antioxidant capacity and antimicrobial activity against food related microorganisms of *Citrus limon* var. *pompia* leaf essential

oil. **LWT - Food Science and Technology**, v.69, p.579-585, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.02.018>.

FURNERI, P. M. *et al.* In vitro antimycoplasmal activity of *citrus bergamia* essential oil and its major components. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.52, p.66-69, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.03.005>.

GOMES, F. J. S. *et al.* Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Citrus reticulata* Blanco (tangerina) frente à *Staphylococcus epidermides* e *Escherichia coli*. In: VII SBOE – SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 2013, Santarém. Anais [...]. Santarém: UFOPA, 2013. 1p.

JING, L. *et al.* Antifungal activity of citrus essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.62, p.3011-3033, 2014. <https://doi.org/10.1021/jf5006148>.

JULIANI, H. R. *et al.* Chemical diversity of *Lippia multiflora* essential oils from West Africa. **Journal of Essential Oil Research**, v.20, p.49-55, 2008. <https://doi.org/10.1080/10412905.2008.9699420>.

KIM, D.-O. *et al.* Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.3713-3717, 2002. <https://doi.org/10.1021/jf020071c>.

LAURO, F. *et al.* The protective role of bergamot polyphenolic fraction on several animal models of pain. **PharmaNutrition**, v.4, p.S35-S40, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.phanu.2016.04.001>.

LÓPEZ-MUÑOZ, G. A.; ANTONIO-PÉREZ, A.; DÍAZ-REYES, J. Quantification of total pigments in citrus essential oils by thermal wave resonant cavity photopyroelectric spectroscopy. **Food Chemistry**, v.174, p.104-109, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.039>.

MASSON, J. *et al.* Oxygenated heterocyclic compounds to differentiate *Citrus* spp. essential oils through metabolomic strategies. **Food Chemistry**, v.206, p.223-233, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.057>.

NABIHA, B. *et al.* Chemical composition of bergamot (*Citrus bergamia* Risso) essential oil obtained by hydrodistillation. **Journal of Chemistry and Chemical Engineering**, v.4, p.60-62, 2010.

NAVARRA, M. *et al.* Effect of *Citrus bergamia* juice on human neuroblastoma cells in vitro and in metastatic xenograft models. **Fitoterapia**, v.95, p.83-92, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2014.02.009>.

NAZZARO, F. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. **Pharmaceuticals**, v.6, p.1451-1474, 2013. <https://doi.org/10.3390/ph6121451>.

OJEDA-SANA, A. M. *et al.* New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components. **Food Control**, 31, 189-195, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.09.022>.

RE, R. *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, p.1231-1237, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).

RUSSO, M. *et al.* Bergamot (*Citrus bergamia* Risso) as a source of nutraceuticals: Limonoids and flavonoids. **Journal of Functional Foods**, v.20, p.10-19, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.10.005>.

SALERNO, R. *et al.* Characterization of flavonoids in *Citrus bergamia* (Bergamot) polyphenolic fraction by liquid chromatography–high resolution mass spectrometry (LC/HRMS). **PharmaNutrition**, v.4, p. S1-S7, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.phanu.2015.10.001>.

SANTOS, J. Z. DOS *et al.* Caracterização química dos óleos essenciais em folhas de *Citrus sunki* hort. Ex. Tanaka e híbrido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 2012, Belém. Anais[...]. Belém: SBRG, 2012. p.1-4.

SANTOS, A. O. *et al.* Atividade antibacteriana e antioxidante de óleos essenciais cítricos com potencialidade para inclusão como aditivos em alimentos. **Caderno de Ciências Agrárias**, v.8, p.15-21, 2016.

URBIZU-GONZÁLEZ, A. L. *et al.* Natural variability of essential oil and antioxidants in the medicinal plant *Turnera diffusa*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v.10, p.121-125, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.01.013>.

Autores

Franciene Almeida Villanova¹, Dianini Hüttner Kringel², Roberto Pedroso de Oliveira³, Caroline Dellinghausen Borges^{4,*}

1. Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* em Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil

2. Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, 96010-900, Pelotas, RS, Brasil.

3. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA, 96010-971, Pelotas, RS, Brasil.

4. Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil

* Autor para correspondência: francienevillanova@hotmail.com

CAPÍTULO 7

Microextração em fase sólida para obtenção de compostos voláteis em maçãs e derivados

Jossiê Zamperetti Donadel, Valdecir Carlos Ferri, Roger Wagner, Tassiane dos Santos Ferrão

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-3-8.c7>

Resumo

A atenção de pesquisadores em relação aos atributos sensoriais de maçãs e derivados tem sido crescente com o intuito de obter maior aceitação pelos consumidores. Atributos como sabor, odor e aroma provenientes do perfil de compostos voláteis (CV) estão envolvidos e determinam a qualidade tanto da fruta *in natura*, quanto de seus derivados, como o suco. Técnicas analíticas como a destilação e extração com solventes, podem ocasionar degradação térmica e extração simultânea de contaminantes, prejudicando a acurácia da análise de CV de frutas, logo, o emprego de uma técnica de análise menos onerosa e limpa se faz necessário. Os objetivos deste trabalho foram fazer uma revisão da literatura sobre a microextração em fase sólida do *headspace* combinada à análise por cromatografia em fase gasosa (HS-SPME/GC-MS) ressaltando suas vantagens e apresentar as aplicações práticas dessa técnica e impactos na qualidade da maçã e seus derivados pós-colheita. Este artigo demonstrou que a HS-SPME é rápida, precisa, facilmente empregada e mais adequada, tanto do ponto de vista ambiental quanto econômico para a análise dos biomarcadores voláteis característicos de odor e aroma de maçãs e derivados.

Palavras-chave: armazenamento, aroma, atributos de qualidade.

1. Introdução

Os alimentos são constituídos por inúmeras substâncias químicas inorgânicas e orgânicas não voláteis, como água, sais minerais, cinzas, lipídeos, proteínas, carboidratos, entre outros compostos. Por outro lado, a constituição química relacionada ao odor e aroma dos alimentos é composta por substâncias voláteis ou semivoláteis (RISTICEVIC *et al.*, 2009). Conforme mencionado por Bangerth, Song e Streif (2012), os voláteis do aroma são um atributo importante do sabor em quase todas as frutas das árvores. Esses autores mencionam que fisiologistas e bioquímicos foram os primeiros interessados nos voláteis do aroma há um século (POWER; CHESTNUT, 1920), porém estavam mais preocupados com a composição e estrutura química desses compostos do que com seu impacto no sabor da fruta e na percepção do consumidor (BANGERTH; SONG; STREIF, 2012). De acordo com esses autores, o mercado atacadista e varejista e até mesmo os horticultores só recentemente descobriram os voláteis e os aromas como índices de qualidade importantes para a satisfazer as demandas dos consumidores e/ou promover as vendas.

Somente com o advento da cromatografia gasosa (GC), na segunda metade do século XX, foi possível obter avanços significativos na análise da fração volátil. Um progresso real referente à composição química e às vias biossintéticas dos voláteis do aroma foi alcançado somente nas décadas de 60 e 70 (DRAWERT *et al.*, 1968; DRAWERT, 1975; PAILLARD, 1979). Em meados do século XXI, foi estabelecido por Fellman *et al.* (2000) que o metabolismo de ácidos graxos e aminoácidos ramificados podem servir como precursores para a biossíntese de voláteis de aroma em frutas.

Com a ajuda de GC combinada com a espectrometria de massa, foi possível identificar centenas de compostos voláteis. Além disso, o estabelecimento de “limiares olfativos” proporcionou a oportunidade de categorizar esses compostos de acordo com sua importância sensorial. Isso reduziu o número de compostos considerados importantes sensorialmente, mas aumentou as demandas por instrumentação sensível e de alta resolução porque os limiares olfativos e as taxas de produção de alguns desses compostos pareciam ser muito baixos (BANGERTH; SONG; STREIF, 2012). Em maçãs, por exemplo, mais de 300 compostos voláteis foram identificados e destes, apenas 30 a 40 são considerados como compostos de impacto de sabor (CUNNINGHAM *et al.*, 1986). Nessas frutas, o impacto de vários tratamentos pré e pós-colheita nas taxas de produção da maioria desses compostos voláteis é afetado em um grau semelhante, sugerindo-se que muitos compostos voláteis são derivados de vias bioquímicas semelhantes (BANGERTH; SONG; STREIF, 2012). No entanto, Brackmann, Streif e Bangerth (1993) reportaram que a produção de éster ramificado e não ramificado em maçã armazenada com oxigênio ultrabaixo (ULO) foi diferentemente afetada por diferentes pressões parciais de CO₂ na atmosfera de armazenamento. Desse modo, com o emprego de metodologias experimentais, foi possível obter um conhecimento mais aprofundado sobre os efeitos dos procedimentos na produção, armazenamento e manuseio relacionados à emissão de aromas voláteis em várias frutas (BANGERTH; SONG; STREIF, 2012).

Em relação à análise dos compostos presentes nas frutas, procedimentos para isolamento objetivando ao menos sua identificação, além da sua quantificação, foram estabelecidos para aproveitar sua volatilidade. Muitas vezes, as técnicas convencionais de preparo de amostras para que a análise seja representativa de aroma e sabor são morosas ou apresentam modificações no perfil dos compostos (RISTICVIC *et al.*, 2009). Além disso, grandes quantidades de amostras e uso de solventes orgânicos tóxicos são requeridas nesses métodos convencionais de amostragem (KATAOKA; LORD; PAWLISZYN, 2000).

Técnicas convencionais de isolamento de compostos voláteis como a destilação e extração com solventes, embora sejam simples, possuem desvantagens como a degradação térmica e extração simultânea de contaminantes (PARLIMENT, 1997). Outros estudos reportaram a comparação entre os métodos de extração com solvente e análise do *headspace* e indicaram o uso da análise do *headspace*, uma vez que possibilitou a extração de ésteres com notas frutais, portanto, sendo o método mais indicado para análise de compostos voláteis em frutas (KAFKAS *et al.*, 2005; VARMING *et al.*, 2004). Nesse sentido, a abordagem que envolve a análise de *headspace* estático e dinâmico tem sido utilizada com maior frequência, por propiciar uma representação mais fidedigna da percepção do olfato (FRANCO; JANZANTTI, 2004). Portanto, o isolamento dos compostos voláteis é uma etapa muito importante a qual merece atenção, uma vez que as impurezas dos solventes podem ser transferidas para as amostras e causar interferências nas análises ou a matriz pode sofrer algum tipo de degradação. Nesse sentido, para analisar esses constituintes de alimentos, técnicas mais limpas e com pouco uso de solvente se fazem necessárias, a técnica de microextração em fase sólida no *headspace* confinado da amostra (HS-

SPME-do inglês *Headspace Solid Phase Microextraction*), ou simplesmente SPME se apresenta como alternativa mais verde e com menores interferentes sendo carregados para as matrizes.

A HS-SPME está se difundindo mundialmente e inúmeros pesquisadores já utilizam para análise de compostos voláteis conduzindo para várias finalidades, atribuindo algumas modificações na amostragem dependendo do tipo de matriz a ser analisada, sendo aplicada para apenas identificar o perfil volátil, diferenciar origem geográfica (GIANNETTI *et al.*, 2017, MEDINA *et al.*, 2019), bem como avaliar a influência do tipo de armazenamento na fração volátil de frutas (BOTH *et al.*, 2017; DONADEL *et al.*, 2019; QIN; PETERSON; BRADIE, 2018; THEWES *et al.*, 2017a, b).

O aroma e o odor emitidos pelas frutas e seus produtos derivados são atributos importantes da qualidade, em decorrência da presença de substâncias de diversas classes químicas, como álcoois, aldeídos, ésteres, ácidos carboxílicos e cetonas. Nesse sentido, o estudo do perfil de compostos voláteis das frutas desempenha um papel relevante e norteador em relação à avaliação da qualidade dos alimentos tanto na produção, quanto no armazenamento, comercialização e consumo. Logo, os objetivos deste trabalho foram: i) fazer uma revisão da literatura sobre a microextração em fase sólida, pois é uma técnica analítica limpa, verde, destinada à análise de compostos voláteis de maçã e seus derivados e ii) apresentar as aplicações práticas dessa técnica e impactos na qualidade da maçã e seus derivados pós-colheita. Portanto, a SPME pode ser aplicada com sucesso na análise de compostos voláteis que caracterizam as amostras de frutas, sucos e bebidas de frutas.

2. Fonte de dados e estratégia de pesquisa

Uma revisão abrangente foi conduzida pesquisando sistematicamente na base de dados *ScienceDirect* da editora Elsevier para todos os estudos relacionados aos compostos voláteis envolvendo a técnica de microextração em fase sólida relacionada com voláteis de maçãs até 03 de agosto de 2020. Títulos de assuntos relacionados ao objeto de estudo (*volatile compounds of apple by SPME*) e outros termos-chave (*aroma, apple*) foram considerados para pesquisas científicas, que empregaram a microextração em fase sólida para análises tanto qualitativas como quantitativas de compostos voláteis presentes em maçãs e seus derivados em diversos países do mundo. Os critérios de exclusão foram artigos que não atenderam aos critérios de inclusão mencionados acima. Para a redação desta revisão foi selecionado um total de 80 referências que apresentavam as informações e dados de interesse dos autores.

3. A importância da maçã

A maçã (*Malus domestica* Borkh) é um dos vegetais mais produzidos e consumidos mundialmente. Sua produção é uma importante atividade econômica, uma vez que está fruta é produzida em escala global sendo majoritariamente consumida *in natura*, sendo que 7 milhões de toneladas foram desperdiçadas em 2016 (HEUZÉ *et al.*, 2020). Somente no ano de 2017, mais de 80 milhões de toneladas de maçã foram produzidas. Dentre estas, a produção no Brasil alcançou mais de 1 milhão de toneladas na safra 2017/2018 (KIST *et al.*, 2019) e as cultivares 'Gala' e a 'Fuji' e suas mutantes destacam-se no estado do Rio Grande do Sul, culminando em mais de 90% da safra 2019/2020 (AGAPOMI, 2020).

O consumo da maçã pode trazer vários benefícios à saúde humana. Em estudos observacionais, a ingestão mais alta de maçã está associada ao menor risco de doença coronariana e derrame (LARSSON; VIRTAMO; WOLK, 2013), além de efeitos

benéficos na função vascular e pressão arterial (BONDONNO *et al.*, 2012), de lipídios (JENSEN *et al.*, 2009), inflamação (CHUN *et al.*, 2008) e potencial atividade anti-hiperglicêmica por inibição de enzimas digestivas do amido, incluindo α -amilase e α -glucosidase *in vitro* e *in vivo* (LI *et al.*, 2019). Além disso, as maçãs possuem polifenóis, como di-hidrochalconas, flavonóis, hidroxicinamatos e fibras, que incluem celulose, hemicelulose e pectina (VALERIO *et al.*, 2020). Pesquisadores também reportam que a fruta pode ser um transportador adequado para células probióticas, devido às suas propriedades nutricionais e funcionais (EMSER *et al.*, 2017). Estudos *in vitro* demonstraram o efeito benéfico dos componentes da maçã na composição da microbiota intestinal e no padrão metabólico (KOUTSOS *et al.*, 2017). Esses mesmos autores demonstraram que polissacarídeos não digeríveis e polifenóis que atingem o cólon agiram como substratos para a fermentação colônica, produzindo ácidos fenólicos e ácidos graxos de cadeia curta, cujos benefícios à saúde do consumidor já são conhecidos.

Os dados estatísticos dos órgãos como a Food and Agriculture Organization (FAO) revelam uma elevada produção de maçãs no mundo todo. Em decorrência disso, armazená-las de forma adequada tanto em armazenamento refrigerado (AR) quanto em atmosfera controlada (AC) torna-se essencial para reduzir perdas pós-colheita, além de regular a oferta da fruta no período da entressafra no comércio local e internacional.

No armazenamento refrigerado há controle da umidade relativa e as maçãs são armazenadas em baixa temperatura, sendo considerada o principal fator responsável pela supressão do metabolismo dos frutos (EKMAN; GOLDING; McGLASSON, 2005). Por outro lado, a conservação é observada apenas em um período restrito de poucos meses, em que há reduções significativas na suculência e na firmeza. Além dessas alterações, aumento de danos por degenerescência e formação de polpa farinácea podem ser evidenciados, quando esse tempo de armazenamento é ultrapassado (SAQUET; BRACKMANN; STORC, 1997). Já quando se armazena em atmosfera controlada (AC), além do controle da umidade relativa e da temperatura, pode-se alterar a concentração de gases (O_2 e CO_2) dentro das câmaras de armazenamento (BRACKMANN *et al.*, 2008; LUMPKIN *et al.*, 2015), propiciando a estocagem por um maior período.

No Brasil, o armazenamento das maçãs em AC pode se estender até 240-270 dias (BRACKMANN *et al.*, 2013; WEBER *et al.*, 2013). Entretanto, embora as pressões parciais possam ser controladas, ainda pode ocorrer a redução de compostos de aroma desejáveis presentes nas maçãs armazenadas, além de distúrbios fisiológicos (BRACKMANN; STREIF; BANGERTH, 1993; ECHEVERRÍA *et al.*, 2004; MATHEIS *et al.*, 2005), pois em AC não é possível monitorar o metabolismo do fruto em tempo real. Se as concentrações gasosas de AC utilizadas durante o armazenamento forem inadequadas para uma determinada cultivar (LUMPKIN *et al.*, 2015), além da ocorrência de degenerescência de polpa (WEBER *et al.*, 2013), pode haver indução do metabolismo fermentativo, com consequente acúmulo de acetaldeído, etanol e acetato de etila. Caso essas substâncias sejam encontradas em concentrações muito altas, tornam-se compostos de sabor indesejáveis (*off flavor*), com a possibilidade de causar distúrbios fisiológicos (SAQUET; STREIF, 2008; WRIGHT; ARUL; PRANGE, 2015).

Nos últimos anos, outras alternativas de armazenagem têm sido exploradas, como as que empregam a atmosfera controlada dinâmica (ACD), onde a pressão parcial de O_2 varia ao longo do período de armazenamento (PRANGE *et al.*, 2005) de acordo com o limite mínimo de oxigênio (do inglês *low limit oxygen* - LOL) tolerado pelo fruto, diferentemente da AC, onde a pO_2 permanece estática. Segundo Prange (2018), três

métodos têm sido empregados para detectar o LOL em ACD, incluindo o monitoramento do O₂ durante o armazenamento pela produção de etanol (VELTMAN; VERSCHOOR; RUIJSCH VAN DUGTEREN, 2003), monitoramento pela emissão de fluorescência de clorofila (WRIGHT *et al.*, 2015) e mais recentemente o monitoramento pelo quociente respiratório (WEBER *et al.*, 2017). Dessa forma, o armazenamento em ACD tem sido uma alternativa que proporciona melhor qualidade físico-química e sobretudo promove a maior emissão de compostos voláteis característicos de qualidade de odor e aroma da maçã (BOTH *et al.*, 2017, DONADEL *et al.*, 2019; THEWES *et al.*, 2017a).

3.1. Compostos voláteis em maçãs: importância e biossíntese

Os compostos voláteis (CV) constituem os atributos de qualidade de sabor, odor e aroma. À medida que ocorre o amadurecimento dos frutos, esses compostos mudam em resposta à maturidade e às condições de armazenamento (BANGERTH; SONG; STREIF, 2012) e, conseqüentemente, são atributos sensoriais relevantes para a aceitação das maçãs pelos consumidores (LÓPEZ *et al.*, 2007).

Sensações complexas relacionadas com o gosto, com o aroma e diversas sensações bucais conferem o sabor específico das maçãs (BALDWIN, 2002; PÉREZ; SANS, 2008). Os açúcares e ácidos orgânicos, por sua vez, designam os gostos predominantes. Já uma mistura complexa de muitos compostos voláteis percebidos sensorialmente através da via retronasal conferem o aroma característico da fruta (NOGUEROL-PATO *et al.*, 2012; SALAZAR; OROSCO, 2011) e sua composição pode variar conforme a espécie, variedade e estágio de maturação (CUNNINGHAM *et al.*, 1986; PÉREZ; SANS, 2008; SANS; OLÍAS; PÉREZ, 1997).

A literatura científica reporta que já foram detectados mais de trezentos compostos voláteis em maçãs (FORNEY; MATTHEIS; BALDWIN, 2009). Os compostos predominantes são álcoois, aldeídos, cetonas, terpenoides, sesquiterpenos, éteres e principalmente ésteres (BOTH *et al.* 2014; DONADEL *et al.*, 2019; ROWAN *et al.*, 1999; THEWES *et al.*, 2017a, b) e os de maior impacto são os álcoois e ésteres (DIXON; HEWETT, 2001). É válido ressaltar que a contribuição relativa de cada um desses compostos voláteis pode ser determinada pela unidade de odor, que consiste na razão entre a concentração de um composto e seu limiar de percepção olfativo (TAKEOKA; BUTTERY; FLASH, 1992), sendo que dentre os compostos voláteis emitidos pelas maçãs, os ésteres têm um grande impacto no aroma.

Os compostos voláteis são biossintetizados por meio do envolvimento de várias enzimas, como lipoxigenase (LOX), álcool desidrogenase (ADH), álcool aciltransferase (AAT) e substratos como carboidratos, proteínas e principalmente lipídios (SALAZAR; OROSCO, 2011). Vários autores reportam que as substâncias voláteis características das maçãs são formadas a partir de ácidos graxos insaturados, destacando-se no período climatérico os ácidos oleico, linoleico e linolênico (DI, 2005; GALLIARD, 1968; MEIGH; HULME, 1965; MEIGH; JONES; HULME, 1967; NIE; SUN; SONG; BANGERTH, 2003). De acordo com Fellman *et al.* (2000), esses precursores de compostos voláteis são liberados por meio da atividade enzimática de lipases que atuam nos lipídios da membrana celular e são catabolizados através de duas rotas oxidativas: β -oxidação, mais importante em frutas íntegras e via da lipoxigenase (LOX), predominante quando ocorre ruptura dos tecidos vegetais (PÉREZ; SANZ, 2008; SANZ; OLÍAS; PÉREZ, 1997).

A β -oxidação ocorre quando os ácidos graxos sofrem uma ativação, podendo atravessar a membrana mitocondrial interna e chegar na matriz mitocondrial. Nesse

processo oxidativo atuam várias enzimas, ocorrendo em quatro passos, resumidos da seguinte forma: oxidação de Acil-CoA, transformando em trans-2-enoil-CoA, utilizando flavina-adenina-dinucleotídeo (FAD) como cofator e O_2 , como aceptor de elétrons, seguida de hidratação, formando 3-hidroxiacil-CoA. O terceiro passo consiste na desidrogenação, requerendo nicotinamida-adenina-dinucleotídeo (NAD) como cofator, formando 3-cetoacil-CoA, então segue-se a tiólise, ou seja, a quebra da extremidade tiol de 3-cetoacil-CoA, resultando em uma molécula de acetil-CoA e uma de acil-CoA, a qual retorna ao ciclo de β -oxidação (BAKER *et al.*, 2006; ESPINO-DÍAS *et al.*, 2016; GOEPFERT *et al.*, 2005; GOEPFERT; POIRIER, 2007; GRAHAM; EASTMOND, 2002; MATHEWS *et al.*, 2002). Esta molécula de Acil-CoA liga-se a um álcool para formar os ésteres pela ação da enzima álcool aciltransferase (AAT) (SANZ; OLÍAS; PÉREZ, 1997). A outra via oxidativa refere-se à rota da LOX, cuja ativação se dá em decorrência da ruptura dos tecidos vegetais, tendo como produtos substâncias voláteis de 6 a 9 carbonos (SANZ; OLÍAS; PÉREZ, 1997). A LOX age principalmente sobre os ácidos graxos insaturados linoleico (C18:2) e linolênico (C18:3) (PÉREZ; SANZ, 2008), os quais são liberados a partir de triacilgliceróis, fosfolípidos e glicolípidos pela ação de acil hidrolases (REINECCIUS, 2006). Logo, a formação de metabólitos voláteis como álcoois, aldeídos, ácidos e ésteres é o resultado da degradação desses ácidos graxos por processo oxidativo (PÉREZ; SANZ, 2008). Outra fonte expressiva de compostos voláteis que conferem o aroma de frutas e vegetais refere-se ao metabolismo dos aminoácidos (ESPINO-DÍAZ *et al.*, 2016). Nesse caso, enzimas promovem transformações dessas moléculas precursoras e formam produtos como aldeídos, álcoois, ácidos e principalmente ésteres de cadeia ramificada (WYLLIE; FELLMAN, 2000).

Pesquisas demonstraram que maçãs do grupo 'Gala', bem como 'Galaxy', apresentam altas concentrações de acetato de butila, acetato de 2-metilbutila e acetato de hexila, que são os ésteres mais importantes desse grupo de cultivares (BOTH *et al.*, 2014; SALAZAR; OROZCO, 2011). Já para a maçã 'Granny Smith', acetato de etila, butanoato de etila, acetato de butila, propanoato de etila, 2-metil butanoato de etila e 2-metil butanoato de propila foram os principais ésteres responsáveis pelo aroma de amostras de suco de maçã (NIU *et al.*, 2019), os compostos 1-butanol e butanoato de butila, podem ser utilizados como indicadores de qualidade na avaliação da qualidade da maçã 'Fuji' (LEE; JEONG; JANG, 2017). Portanto, a produção de substâncias voláteis em maçãs é o resultado de uma combinação de rotas metabólicas em que diversos processos fisiológicos e mecanismos de controle estão envolvidos, em que a presença desses compostos é influenciada por fatores genéticos, práticas culturais, maturação da safra e condições de armazenamento (ESPINO-DÍAZ *et al.*, 2016).

4. Histórico, princípios e vantagens da técnica de microextração em fase sólida (SPME)

A microextração em fase sólida foi introduzida pela primeira vez por Arthur e Pawliszyn em 1990. A SPME é uma técnica avançada de pré-tratamento de amostras que integra amostragem, extração, concentração e introdução de amostras em uma única etapa sem solvente (ARTHUR; PAWLISZYN, 1990). Baseia-se no mecanismo físico-químico da partição do analito entre a fase de extração imobilizada em uma fibra de sílica fundida e a matriz. Após o equilíbrio ser alcançado ou um tempo bem definido, os compostos sorvidos na fibra podem sofrer dessorção térmica, quando se expõe a fibra no injetor de um cromatógrafo a gás (GC) (XU *et al.*, 2016). Fatores como a fácil miniaturização, a automação de dispositivos, além da possibilidade de acoplamento com instrumentos cromatográficos destacam-se como as principais vantagens da SPME (XU *et al.*, 2016). Atualmente, esse tipo específico de extração de compostos voláteis é amplamente aceito e com constante crescimento de novas pesquisas na

área de alimentos, com vastas publicações na literatura científica, o que ressalta sua importância para a análise de alimentos.

Os parâmetros que determinam a eficiência da extração devem ser otimizados para que haja a alta qualidade nas análises baseadas na técnica de SPME. Dentre esses parâmetros é possível investigar a química da fase de extração, modo de extração, método de agitação, modificação da amostra (pH, força iônica, conteúdo de solvente orgânico), temperatura da amostra, tempo de extração e condições de dessorção (RISTICEVIC *et al.*, 2009). Ainda dentro desses parâmetros, o revestimento de fibra é um dos fatores mais críticos que influenciam o desempenho dos métodos de SPME. É importante ressaltar que a polaridade do revestimento e sua seletividade em relação aos analitos de interesse, em contraste com outro componente da matriz, determina qual deve ser o revestimento de fibra adequado para um composto específico de interesse.

Xu *et al.* (2013) reportaram resumidamente os novos materiais de revestimento SPME. Dentre todos os materiais de revestimento avaliados experimentalmente, o polidimetilsiloxano (PDMS), como revestimento líquido com superfície lisa e homogênea, sofre menos com o efeito irreversível de incrustação causado pelos componentes da matriz do que com revestimentos sólidos (BELTRAN; LÓPEZ; HERNÁNDEZ, 2000). Contudo, era pouco sensível para extrair alguns compostos de interesse. Desse modo, para criar um novo tipo de revestimento de fibra SPME, uma modificação dos revestimentos comerciais de fibra SPME existentes foi realizada, alcançando compatibilidade com a matriz. A fibra com revestimento de carboxen/divinilbenzeno/polidimetilsiloxano (Car/DVB/PDMS) possuiu maior eficiência e permitiu maior número de extrações com a mesma fibra, além de manter a sensibilidade do revestimento original para os analitos de interesse, quando submetida diretamente a uma matriz complexa (PAWLISZYN, 2009). Logo, essa fibra acabou sendo a mais frequentemente utilizada para análise de alimentos (XU *et al.*, 2016).

5. A HS-SPME aplicada na análise de maçãs

5.1. SPME na análise de maçãs e derivados

Alimentos são matrizes muito complexas, logo um método adequado de preparo de amostra é uma grande preocupação dos analistas. A literatura reporta a avaliação de compostos voláteis em maçãs bem como em seus derivados, principalmente em bebidas. A técnica de HS-SPME-GC/MS foi empregada para extração e caracterização de compostos orgânicos voláteis no suco de maçã. Para essa análise, uma fibra PDMS de 65 µm foi usada para SPME e mais de setenta compostos voláteis foram determinados a partir de diferentes classes químicas (SCHMUTZER *et al.*, 2014).

Alguns estudos que empregam a análise por HS-SPME ressaltam a composição volátil como variável crucial para a caracterização entre diferentes cultivares e seus produtos derivados de acordo com as origens geográficas. Foi possível distinguir duas diferentes regiões no nordeste da Itália: Alto Ádige-Tirol do Sul (AA-ST) e Friuli Venezia Giulia (FVG), pela análise de compostos voláteis de quarenta e duas cultivares de maçãs encontradas nessa região (GIANNETTI *et al.*, 2017). Em particular, a elaboração de perfis cromatográficos da fração de sabor, após pré-tratamentos adequados de sinal e aplicando ferramentas quimiométricas resultou em modelos estatísticos com alta precisão e boa capacidade de classificação que permitiram discriminar as maçãs cultivadas em FVG das provenientes de AA-ST, bem como grupos de amostras de AA-ST sendo cultivados sob diferentes práticas agrícolas (método convencional ou orgânico). Além disso, os modelos estatísticos empregados

evidenciaram que a informação discriminante estava ligada aos compostos voláteis mais característicos (alguns ésteres, álcoois e terpenos) presentes na polpa de maçãs para as categorias de amostras consideradas (GIANNETTI *et al.*, 2017).

Através da microextração em fase sólida do *headspace* combinada com a cromatografia em fase gasosa e espectrometria de massas (HS-SPME-GC/MS) em conjunto com ferramentas quimiométricas, Medina *et al.* (2019) estabeleceram características distintas para a discriminação de sucos de maçã de variedades regionais (Rijo, Verde, Ribeiro e Azedo) e origem geográfica (Prazeres e Santo da Serra), da Ilha da Madeira, em Portugal.

Medina *et al.* (2019) revelaram que é possível detectar compostos voláteis de sabor que estão presentes em concentrações diminutas em matrizes complexas e que podem ser responsáveis pela discriminação entre sucos de maçãs cultivadas nas diferentes regiões geográficas estudadas. Os resultados obtidos revelaram uma perfeita discriminação entre as diferentes variedades de maçã, com sucos de maçã 'Rijo' como amostras com maior concentração relativa de etanol, butanoato de etila, 2-metilbutanoato de etila e hexanoato de etila. Além disso, este estudo permitiu uma classificação geográfica de sucos de maçã 'Azedo', com base na origem, destacando como características discriminatórias acetato de etila, 2-metil-1-propanol, hexanoato de etila e tolueno (descritos pela primeira vez em sucos de maçã).

Alguns estudos destacam os ésteres eficientemente relacionados à qualidade do suco de maçã 'Fuji', 'Red Delicious' e 'Granny Smith' (NIU *et al.*, 2019). Esses autores reportaram a identificação e quantificação de 20 ésteres dessas três cultivares, empregando a técnica de HS-SPME combinada com cromatografia em fase gasosa com olfatometria (GC-O). Do total de ésteres encontrados, seis deles foram selecionados como os principais compostos ativos de odor. Além disso, acetato de etila, butanoato de etila, acetato de butila, propanoato de etila, 2-metil butanoato de etila e 2-metil butanoato de propila foram os principais ésteres para o aroma da amostra de suco de maçã 'Granny Smith' (NIU *et al.*, 2019). Ademais, foi reportado que o efeito de adição ou efeito sinérgico ocorreu possivelmente quando os ésteres tinham estrutura e aroma semelhantes. No entanto, isso não significava que todos os compostos com estrutura e aroma semelhantes pudessem apresentar um efeito sinérgico após a mistura. Notadamente os compostos butanoato de etila e acetato de butila tiveram um efeito sinérgico (NIU *et al.*, 2019). A fim de obter uma melhor compreensão da mistura desses dois compostos, uma avaliação sensorial e análise por nariz eletrônico foram implementadas para investigar as características do perfil de aroma das amostras de ésteres e suas variações de sabor. Foi observada diferença significativa nas notas frutadas, azedas e verdes entre os ésteres não misturados e a mistura binária (NIU *et al.*, 2019).

Em estudos realizados por Kebede *et al.* (2020) marcadores em potencial para mudanças voláteis durante a vida útil em ambiente e acelerada do suco de maçã pasteurizado foram revelados. As mudanças voláteis foram monitoradas a 20, 30 e 40 °C usando um método de impressão digital aplicando HS-SPME/GC-MS. Utilizando quimiometria moderna e seleção de características, hexanal, trans-2-hexenal, sulfeto de dimetil, furfural, acetato de etila e 1-pentanol foram escolhidos como potenciais marcadores de vida em prateleira. Os voláteis associados ao aroma de maçã verde, graminea e fresca, como hexanal e trans-2-hexenal, diminuíram durante o armazenamento, enquanto a carga térmica e os compostos associados ao escurecimento, como sulfeto de dimetila e furfural, aumentaram durante o armazenamento. Hexanal e trans-2-hexenal podem ser marcadores para monitorar a alteração de caráter semelhante à maçã verde. O furfural e o sulfureto de dimetil

podem ser marcadores de abuso de temperatura durante o processamento e o armazenamento do suco. E furfural também pode ser um indicador para o escurecimento do suco (KEBEDE *et al.*, 2020).

Perestelo *et al.* (2019) focaram seus estudos na diferenciação de sucos de frutas frescas e processadas utilizando composição volátil. Esses autores estabeleceram que a atenção especial deve ser dada aos sucos de frutas processados para evitar os possíveis efeitos deletérios associados à formação de compostos furânicos (por exemplo, tratamento térmico), uma vez que seu conteúdo furânico foi significativamente maior em comparação ao dos sucos de frutas frescas. O conhecimento obtido neste trabalho permite a introdução de modificações no processo envolvido no processamento de sucos, para que se melhore as características sensoriais dos sucos processados, contribuindo para uma melhor aceitação pelos consumidores.

Outros estudos reportam a relação entre compostos voláteis com a percepção de doçura da maçã (APREA *et al.*, 2017). Quarenta lotes de maçãs, pertencentes a 17 diferentes cultivares, foram coletados e submetidos a análise. Treze compostos foram positivamente correlacionados com doçura de um total de dezesseis significativos relatados ($p < 0,05$), sendo que o principal grupo de compostos foram os ésteres (7 dos 16 compostos). Os ésteres de propila apresentaram os maiores coeficientes de correlação positivos para a percepção de doçura, como o 2-metilbutanoato de propila, hexanoato de propila e propanoato de propila, respectivamente, já os compostos que foram negativamente correlacionados foram 1-octen-3-ona, 2-heptenal e 1-octen-3-ol. (APREA *et al.*, 2017). Diante do que foi abordado, a SPME combinada à análise por GC/MS associada a tratamentos estatísticos adequados, pode ser vista como uma metodologia analítica de extração de compostos voláteis versátil, possibilitando assistir o monitoramento de marcadores voláteis de inúmeras cultivares. A presença desses compostos, que mesmo em pequenas quantidades, servem como indicadores de qualidade em pesquisas relacionadas à origem geográfica e de biomarcadores de sabor, odor e aroma.

5.2. SPME aplicada ao armazenamento de maçãs

No armazenamento de maçãs, concentrações de O_2 e CO_2 na atmosfera de armazenamento podem ocasionar alterações metabólicas na fruta e podem refletir na qualidade pós-colheita da maçã. Nesse sentido, compostos voláteis biomarcadores de odor e qualidade de maçãs das variedades 'Royal Gala', 'Fuji Kiku', 'Galaxy' e 'Fuji Suprema' foram reportados por Both *et al.* (2017), Donadel *et al.* (2019) e Thewes *et al.* (2017a, b), respectivamente, com destaque para a classe dos ésteres de acetato e ésteres etílicos.

Nesses estudos foram utilizados diferentes tipos de armazenamentos (atmosfera controlada convencional, comparada com atmosfera controlada dinâmica monitorada por fluorescência de clorofila e monitorada pelo quociente respiratório com pressões parciais extremamente baixas de oxigênio), onde os ésteres foram os compostos marcadores de odor e aroma mais importantes para as variedades de maçãs. Notadamente, os compostos voláteis mais abundantes e importantes emitidos para o odor e aroma são os ésteres. Além disso, uma avaliação metabólica comparativa de maçãs 'Granny Smith' e 'Red Delicious' foi abordada para explicar processos comuns e divergentes quando essas frutas fossem submetidas a condições de armazenamento com baixos níveis de oxigênio (Ultra Baixo oxigênio, ULO, a 0,9 kPa de oxigênio e ACD-CF, entre 0,2 e 0,55 kPa de O_2) ao longo de 6 meses de armazenamento. Foi possível elucidar que, particularmente, ésteres etílicos foram

produzidos mais abundantemente por maçãs 'Red Delicious' e essa resposta afetou outras características composicionais, (BRIZZOLARA *et al.*, 2017).

Outro estudo focou em compostos indesejáveis, denominados *off flavor*, incluindo 1-butanol e butanoato de butila. Foi evidenciado que a quantidade desses voláteis em maçãs 'Fuji' tratadas com 1-metilciclopropeno (1-MCP) diminuiu ao longo de 5 meses e depois aumentou após 7 meses. Por outro lado, nas maçãs que não foram tratadas com o fitorregulador, não houve alterações significativas desses analitos durante os 7 meses de armazenamento ($p < 0,05$) apresentando também os níveis mais altos desses compostos que as maçãs tratadas com 1-MCP (LEE; JEONG; JANG, 2017). Assim, os autores desse estudo concluíram que 1-butanol e butanoato de butila podem ser indicadores de qualidade na avaliação da qualidade da maçã 'Fuji'.

As alterações nos componentes voláteis das maçãs 'Fuji' foram analisadas em amostras íntegras usando HS-SPME. A qualidade foi avaliada durante o armazenamento a longo prazo em temperatura de 4 °C por 3, 6 e 9 meses. A aplicação de álcoois precursores (butanol, hexanol e 2-metilbutanol) resultou em maiores emissões de oito ésteres. Dentre eles, acetato de butila, butanoato de butila, 2-metilbutanoato de butila ou acetato de 2-metilbutil estavam altamente correlacionados com as de seus álcoois precursores (LEE *et al.*, 2017).

Donadel *et al.* (2019) compararam a produção de compostos voláteis do *headspace* das câmaras de armazenamento, do *headspace* dos frutos no *shelf life* (7 dias a 20 °C) e do suco extraído de maçã 'Fuji Kiku' após os 7 dias de *shelf life*. Esses autores reportaram maiores concentrações dos ésteres etílicos de cadeia ramificada característicos de odor dessa cultivar, como 2-metil propanoato de etila, 3-metil butanoato de etila e 2-metil butanoato de etila em atmosfera controlada dinâmica monitorada por quociente respiratório (ACD-QR), sobressaindo-se daqueles encontrados em atmosfera controlada (AC), devido à indução do metabolismo fermentativo, com maiores emissões de etanol, que serve como precursor para a formação desses ésteres.

Outros estudos identificaram, por meio da HS-SPME, os compostos que contribuem significativamente para o aroma de maçã 'Fuji', sendo eles o acetato de 2-metilbutila, 2-metilpropanoato de etila, 2-metilbutanoato de etila e hexanoato de etila (NIU *et al.*, 2019; THEWES *et al.*, 2017a). Além disso, Thewes *et al.* (2017a) mostraram, através dessa técnica, que aplicação de 1-MCP suprimiu a produção de compostos voláteis maçãs 'Galaxy', principalmente os ésteres principais após o armazenamento em atmosfera controlada estática e dinâmica.

6. Considerações finais

A composição volátil das maçãs e derivados pode ser um indicador de qualidade, tanto de classificação em relação sua origem geográfica, como pode-se estimar o período de armazenamento até a fruta ser lançada ao mercado consumidor sem haver perda dos atributos sensoriais da fruta *in natura* e seus derivados.

A combinação da técnica de microextração em fase sólida no *headspace* combinada com a cromatografia em fase gasosa, associada aos métodos de classificação quimiométrica, oferece uma ferramenta valiosa e mais vantajosa, por ser rápida, facilmente aplicada, menos onerosa e confiável para avaliar a rastreabilidade geográfica de diferentes variedades de frutas, além de verificar a autenticidade das frutas provenientes do cultivo orgânico e caracterizá-las em relação aos diferentes tipos de armazenamento.

A análise por microextração em fase sólida no *headspace* combinada com a cromatografia em fase gasosa pode ser implementada para a avaliação da qualidade de maçãs, tanto na condição de consumidas *in natura* como em situações de armazenamento.

O conhecimento sobre os voláteis pode se tornar muito vantajoso economicamente, uma vez que é possível agregar valor ao produto ao estipular sua denominação de origem geográfica baseada no perfil volátil, além de identificar qual melhor tipo de armazenamento pode ser implementado baseado na produção de compostos voláteis-chave que denotam os odores característicos de diferentes cultivares.

7. Referências

AGAPOMI. **Associação Gaúcha dos Produtores de Maçã**: dados estatísticos – safra 2020. Disponível em: <<http://agapomi.com.br/informacoes/dados-estatisticos/>> Acesso em: 02 jul 2020.

APREA, E. *et al.* Sweet taste in apple: the role of sorbitol, individual sugars, organic acids and volatile compounds. **Scientific Report**. v.7, p. 44950, 2017. <https://doi.org/10.1038/srep44950>.

ARTHUR, C. L.; PAWLISZYN, P. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. **Analytical Chemistry**, v.62, p. 2145-2148, 1990. <https://doi.org/10.1021/ac00218a019>.

ASSOCIAÇÃO PORTUGUESA DE NUTRIÇÃO. **Colher saber**. E-book nº 45. Porto: Associação Portuguesa de Nutrição; 2017. Disponível em: <https://www.apn.org.pt/documentos/ebooks/AW_EBook_ColherSaber.pdf>. Acesso em: 12 dez. 2020.

ANVISA, 1969. Decreto-Lei Nº 986, de 21 de outubro de 1969. **Institui normas básicas sobre alimentos**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto-lei/Del0986.htm>. Acesso em: 02 jul. 2020.

BALDWIN, E. A. **Fruit and vegetable flavor**. In: GROSS, K.C.; WANG, C.Y.; SALTVEIT, M.A., editors. Handling, transportation and storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stock. Washington, DC, USA: United States Department of Agriculture (USDA), Agriculture Handbook; 2002. p. 66.

BANGERTH, F.; SONG, J.; STREIF, J. Physiological impacts of fruit ripening and storage conditions on aroma volatile formation in apple and strawberry fruit: A review. **Hort Science**, v. 47, p. 4-10, 2012. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.47.1.4>.

BAKER A. *et al.* Chewing the fat: β -oxidation in signalling and development. **Trends in Plant Science**, v. 11, p. 124-32, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.01.005>.

BELTRAN, J.; LÓPEZ, F.J.; HERNÁNDEZ, F. Solid-phase microextraction in pesticide residue analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 885, p. 389-404, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00142-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00142-4).

BONDONNO, C. P. *et al.* Flavonoid-rich apples and nitrate-rich spinach augment nitric oxide status and improve endothelial function in healthy men and women: A randomized controlled trial. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 52, n. 1, p. 95-102, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.09.028>.

BOTH, V. *et al.* Effect of storage under extremely low oxygen on the volatile composition of 'Royal Gala' apples. **Food Chemistry**, v.156, p.50-57, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.094>.

BOTH *et al.* Effects of dynamic controlled atmosphere by respiratory quotient on some quality parameters and volatile profile of 'Royal Gala' apple after long-term storage. **Food Chemistry**, v. 215, p. 483-492, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.009>.

BRACKMANN, A.; STREIF, J.; BANGERTH, F *et al.* Relationship between a reduced aroma production and lipid metabolism of apples after long-term controlled-atmosphere storage. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 118, p. 243-247. 1993. <https://doi.org/10.21273/JASHS.118.2.243>

BRACKMANN, A. *et al.* Manutenção da qualidade pós-colheita de maçãs 'Royal Gala' e 'Galaxy' sob armazenamento em atmosfera controlada. **Ciência Rural**, v.38, n.9, p.2478-2484, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008000900010>.

BRACKMANN, A. *et al.* Efeito do estresse inicial por baixo O₂ combinado com 1-metilciclopropeno na conservação de maçãs 'Royal Gala' armazenadas com ultrabaixo O₂. **Semina: Ciência Agrária**, v. 34, p. 1185-1194, 2013. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n3p1185-1194>.

BRIZZOLARA, S. *et al.* A metabolomics approach to elucidate apple fruit responses to static and dynamic controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.127, p.76-87, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.01.008>.

CHUN, O. K. *et al.* Serum C-reactive protein concentrations are inversely associated with dietary flavonoid intake in US adults. **The Journal of Nutrition**, v. 138, n. 4, p. 753-760, 2008. <https://doi.org/10.1093/jn/138.4.753>.

CUNNINGHAM, D.G. *et al.* Charm analysis of apple volatiles. **Food Chemistry**, v.19, p.137-147. 1986. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(86\)90107-X](https://doi.org/10.1016/0308-8146(86)90107-X).

DIXON, J.; HEWETT, E. W. Exposure to hypoxia conditions alters volatile concentrations of apple cultivars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.81, p.22-29, 2001. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20010101\)81:1<22::AID-JSFA769>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20010101)81:1<22::AID-JSFA769>3.0.CO;2-9).

DONADEL, J. Z. *et al.* Key volatile compounds of 'Fuji Kiku' apples as affected by the storage conditions and shelf life: Correlation between volatile emission by intact fruit and juice extracted from the fruit. **Food Research International**, v. 125, p. 108625, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108625>.

DRAWERT, F. 1975. **Formation des aromes a different stades de l'evolution du fruit; Enzymas intervenientes na formação de células** 309319 Ulrich R. células Facteurs et Regulation de la Maturação de Frutas Centre National Recherche Scientifique Paris, França.

DRAWERT, F. *et al.* Über die biogenese von aromastoffen bei Pflanzen und Früchten. III. **Gaschromatographische Bestandsaufnahme von Apfel aromastoffen Phytochem.** v.7, p. 881 883, 1968.

ECHEVERRÍA, G. *et al.* Aroma volatile compounds of 'Fuji' apples in relation of harvest date and cold storage technology: a comparison of two seasons. **Postharvest Biology and Technology**, v.32, p.29-44, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.09.017>.

EKMAN, J.H.; GOLDING, J.B.; McGLASSON, W.B. Innovation in cold storage technologies. **Stewart Postharvest Review**, v. 1, n. 3, p. 1-14, 2005. <https://doi.org/10.2212/spr.2005.3.6>.

EMSER, K. *et al.* *Lactobacillus plantarum* survival during the osmotic dehydration and storage of probiotic cut apple. **Journal of Functional Foods**, v.38, p. 519-528, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.021>.

ESPINO-DÍAZ *et al.* Biochemistry of apple aroma: A review. **Food Technology and Biotechnology**, v. 54, n. 4, p. 375–394, 2016. <https://doi.org/10.17113/ftb.54.04.16.4248>.

FAO, 2016. FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, Rome, Italy. Disponível em: <<http://www.feedipedia.org/node/21446>>. Acesso em: 02 jul.2020

FELLMAN, J. K. *et al.* Factors that influence biosynthesis of volatile flavor compounds in apple fruits. **HortScience**, v. 35, p. 1026-1033, 2000. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.35.6.1026>.

FORNEY C.F. MATTHEIS, J.P.; BALDWIN, A.E. **Effects on flavor**. In: YAHIA, E. M. (Ed) Modified and controlled atmospheres for the storage transportation, and packaging of horticultural commodities. Boca Ratón: CRC Press, 2009, p.119-159.

FRANCO, M. R. B.; JANZANTTI, N. S. **Avanços na metodologia instrumental da pesquisa do sabor**. In: FRANCO, M. R. B. Aroma e sabor dos alimentos: temas atuais. São Paulo: Livraria Varela, 2004, p. 17-28.

GALLIARD, T. Aspects of lipid metabolism in higher plants. II. The identification and quantitative analysis of lipids from the pulp of pre-and post-climacteric apples. **Phytochemistry**, v.7, p. 1915–22, 1968. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90751-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90751-9).

GIANNETTI, V. *et al.* Volatile fraction analysis by HS-SPME/GC-MS and chemometric modeling for traceability of apples cultivated in the Northeast Italy. **Food Control**, v.78, p.215–221, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.02.036>.

GOEPFERT S. *et al.* Molecular identification and characterization of the Arabidopsis $\Delta 3,5$, $\Delta 2,4$ -dienoyl-coenzyme A isomerase, a peroxisomal enzyme participating in the β -oxidation cycle of unsaturated fatty acids. **Plant Physiology**, v.138, p. 1947–1956, 2005. <https://doi.org/10.1104/pp.105.064311>.

GOEPFERT, S.; POIRIER Y. β -Oxidation in fatty acid degradation and beyond. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, p. 245–51, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.04.007>.

GRAHAM I. A.; EASTMOND, P. J. Pathways of straight and branched chain fatty acid catabolism in higher plants. **Progress in Lipid Research**, v. 41, p. 156–81, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(01\)00022-4](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(01)00022-4).

HEUZÉ V. *et al.* **Apple pomace and culled apples**. Feedipedia, a programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO. 2020. Disponível em: <<https://feedipedia.org/node/20703>>. Acesso em: 03 ago. 2020.

JENSEN, E.N. *et al.* Mini-review: The effects of apples on plasma cholesterol levels and cardiovascular risk—a review of the evidence. **The Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 1, p. 34, 2009. <https://doi.org/10.1080/14620316.2009.11512592>.

KAFKAS, E. *et al.* Comparison of methodologies for the identification of aroma compounds in strawberry. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**. v.29, p.383-390, 2005.

KATAOKA, H., LORD, H.L., PAWLISZYN, J. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 880, p.35-62, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00309-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00309-5).

KEBEDE, B. *et al.* Volatile changes during storage of shelf Stable apple juice: Integrating GC-MS fingerprinting and chemometrics. **Foods**, v. 9, p. 1-13, 2020. <https://doi.org/10.3390/foods9020165>.

KIST, B. B. *et al.* **Anuário brasileiro da maçã 2019**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2019. 56 p.: il.

KOUTSOS, A. L. *et al.* Effects of commercial apple varieties on human gut microbiota composition and metabolic output using an *in vitro* colonic model. **Nutrients**, v.9, n.6, p. 533, 2017. <https://doi.org/10.3390/nu9060533>.

LARSSON, S.C.; VIRTAMO, J.; WOLK, A. Total and specific fruit and vegetable consumption and risk of stroke: A prospective study. **Atherosclerosis**, v. 227, n.1, p. 147-152, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.12.022>.

LEE, J. *et al.* Analysis of volatile compounds as quality indicators for Fuji apples after cold storage. **Journal of Food Biochemistry**, v. 41, p. e12410, 2017. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12410>.

LEE, Y-Y; JEONG M-C; JANG, H. W. Determination of volatile compounds by headspace-solid phase microextraction–gas chromatography/mass spectrometry: quality evaluation of Fuji apple. **Analytical Science & Technology**, v. 30, n. 2, p. 68-74, 2017. <https://doi.org/10.5806/AST.2017.30.2.68>.

LI, D. *et al.* Young apple polyphenols postpone starch digestion *in vitro* and *in vivo*. **Journal of Functional Foods**, v. 56, p. 127-135, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.03.009>.

LÓPEZ, M. L. *et al.* Volatile compounds, quality parameters and consumer acceptance of 'Pink Lady1' apples stored in different conditions. **Postharvest Biology and Technology**. v. 43, p. 55–66, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.07.009>.

LUMPKIN, C. *et al.* 'Fuji' apple (*Malus domestica* Borkh.) volatile production during high pCO₂ controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.100, p.234-243, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.10.008>.

MATTHEIS, J.P. *et al.* Interactive responses of Gala apple fruit volatile production to controlled atmosphere storage and chemical inhibition of ethylene action. **Journal of**

Agriculture and Food Chemistry. v.53, p.4510-4516, 2005.
<https://doi.org/10.1021/jf050121o>.

MEDINA, S. *et al.* Differential volatile organic compounds signatures of apple juices from Madeira Island according to variety and geographical origin. **Microchemical Journal**, v. 150, p. 104094, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104094>.

MEIGH D. F.; HULME A. C. Fatty acid metabolism in the apple fruit during the respiration climacteric. **Phytochemistry**, v. 4, p. 863–871, 1965. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)86264-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)86264-0).

MEIGH D. F.; JONES J. D.; HULME, A. C. The respiration climacteric in the apple: production of ethylene and fatty acids in fruit attached to and detached from the tree. **Phytochemistry**, v. 6, p.1507–1515, 1967. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)82943-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)82943-X).

NELSON, D.; COX, M. **Lehninger principles of biochemistry**. New York: W.H. Freeman & Co, 2004. 1119p.

NIJSSSEN, L. M.; VAN INGEN-VISSCHER, C. A.; DONDEERS, J. J. H. VCF. **Compostos voláteis em alimentos: banco de dados (Versão 13.1.)**. TNO Triskelion, Zeist (Holanda), 2011.

NIU, Y. *et al.* Characterization of ester odorants of apple juice by gas chromatography-olfactometry, quantitative measurements, odour threshold, aroma intensity and electronic nose. **Food Research International**, v. 120, p. 92–101, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.064>.

NOGUEROL-PATO, J. *et al.* Active odorants in Mouratón grapes from shoulders and tips into the bunch. **Food Chemistry**, v. 133, p. 1362-1372, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.113>.

PAILLARD, N. Biosynthese de produits volatils de la pomme: Formation des alcools et des esters á partir des acides gras. **Phytochemistry**, v. 18, p. 1165 1171, 1979. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(79\)80127-2](https://doi.org/10.1016/0031-9422(79)80127-2).

PARLIMENT, T. H. **Solvent extraction and distillation techniques**. In: MARSILI, R. Techniques for analyzing food aroma. New York: Marcel Dekker Inc., 1997, p. 17-44.

PAWLISZYN, J. **Handbook of solid phase microextraction**. Beijing: Chemical Industry Press, 2009. 406p.

PERESTELO, R. *et al.* Differentiation of fresh and processed fruit juices using volatile composition. **Molecules**, v.24, p.1-20, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24050974>.

PÉREZ A. G.; SANZ, C. **Formation of fruit flavour**. In: BRÜCKNER, B.; WYLLIE, S. G., editors. Fruit and vegetable flavour. Boca Raton: CRC Press, 2008. p. 71–102.

POWER, F.B.; CHESTNUT, V.K. The odorous constituents of apples. Emanation of acetaldehyde from the ripe fruit **Journal of the American Chemical Society**, v. 42 p. 1509-1526, 1920. <https://doi.org/10.1021/ja01452a029>.

PRANGE, R. K. **Dynamic Controlled Atmosphere (DCA) storage of fruits and vegetables**. In. Reference Module in Food Science (p. B9780081005965214000), 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21349-8>.

QIN, Z.; PETERSEN, M. A.; BREDIE, W. L. P. Flavor profiling of apple ciders from the UK and Scandinavian region. **Food Research International**, v.105, p.713-723, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.003>.

REINECCIUS, G. **Flavor chemistry and technology**. Boca Raton: CRC Press, 2006. 520p.

RISTICEVIC *et al.* Recent developments in solid-phase microextraction. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.393, n.3, p. 781-795, 2009. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-2375-3>.

ROWAN D. D. *et al.* Biosynthesis of straight-chain ester volatiles in Red Delicious and Granny Smith apples using deuterium-labeled precursors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p. 2553–2562, 1999. <https://doi.org/10.1021/jf9809028>.

SALAZAR, N. O., OROZCO, G. O. El aroma de la manzana. **Interciencia**, v.36, p. 265-271, 2011.

SANZ, C.; OLÍAS J. M.; PÉREZ A. G. **Aroma biochemistry of fruits and vegetables**. In. TOMÁS BARBERÁN, F.A.; ROBINS, R.J., editors. Phytochemistry of fruits and vegetables. Oxford: Clarendon Press, 1997, p.125–255.

SAQUET, A. A.; BRACKMANN, A.; STORCK, L. Armazenamento de maçã Gala sob diferentes temperaturas e concentrações de oxigênio e gás carbônico. **Ciência Rural**, v.27, n.3, p.399-405, 1997. <https://doi.org/10.1590/S0103-84781997000300006>.

SAQUET, A. A.; STREIF, J. Fermentative metabolism in 'Jonagold' apples under controlled atmosphere storage. **European Journal of Horticultural Science**, v. 73, p. 43-46, 2008. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.189>.

SCHMUTZER, G.R. *et al.* Determination of the volatile components of apple juice using solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Analytical Letters**, v.47, p. 1683-1696, 2014. <https://doi.org/10.1080/00032719.2014.886694>.

SONG, J.; BANGERTH, F. Fatty acids as precursors for aroma volatile biosynthesis in pre-climacteric and climacteric apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**. v. 30, p.113–21, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(03\)00098-X](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(03)00098-X).

TAKEOKA, G. R; BUTTERY, R. G; FLASH, R. A. Volatile constituents of Asian pear (*Pyrus serotina*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 40, p.1925-1929, 1992. <https://doi.org/10.1021/jf00022a040>.

THEWES, F. R. *et al.* Dynamic controlled atmosphere storage suppresses metabolism and enhances volatile concentrations of 'Galaxy' apple harvested at three maturity stages. **Postharvest Biology and Technology**, v. 127, p. 1-13, 2017a. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.01.002>.

THEWES, F. R. *et al.* The different impacts of dynamic controlled atmosphere and controlled atmosphere storage in the quality attributes of 'Fuji Suprema' apples.

Postharvest Biology and Technology, v.130, p.7-20, 2017b.
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.04.003>.

VALERIO, F. *et al.* The viability of probiotic *Lactobacillus paracasei* IMPC2.1 coating on apple slices during dehydration and simulated gastro-intestinal digestion. **Food Bioscience**, v.34, p. 100533, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100533>.

VARMING, C. *et al.* Comparison of isolation methods for the determination of important aroma compounds in Black Currant (*Ribes nigrum* L.) Juice, Usin Nasal Impact Frequency Profiling. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.6, p. 1647-162, 2004. <https://doi.org/10.1021/jf035133t>.

VELTMAN, R. H.; VERSCHOOR, J. A.; RUIJSCH VAN DUGTEREN, J. H. Dynamic control system (DCS) for apples (*Malus domestica* Borkh. cv. 'Elstar'): optimal quality through storage based on products response. **Postharvest Biology and Technology**, v. 27, p. 79-86, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(02\)00186-2](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(02)00186-2).

WEBER, A. *et al.* Atmosfera controlada para o armazenamento da maçã 'Maxi Gala'. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n.2, p. 294-301, 2013. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902013000200011>.

WEBER, A. *et al.* Dynamic controlled atmosphere (DCA): interaction between DCA methods and 1-methylcyclopropene on 'Fuji Suprema' apple quality. **Food Chemistry**, v. 235, p.136–144, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.047>.

WRIGHT, A. H.; ARUL, J.; PRANGE, R.K. The trend toward lower oxygen levels during apple (*Malus domestica* Borkh) storage – A review. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v.90, p.1-13, 2015. <https://doi.org/10.1080/14620316.2015.11513146>.

WYLLIE, S.; FELLMAN J. K. Formation of volatile branched chain esters in bananas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 3493-3496. 2000. <https://doi.org/10.1021/jf0001841>.

XU, C-H. *et al.* Applications of solid-phase microextraction in food analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 12-29, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.02.022>.

XU, J. *et al.* New materials in solid-phase microextraction. **Trends in Analytical Chemistry**, v.47, p. 68-83, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.02.012>.

Autores

Jossiê Zamperetti Donadel¹, Valdecir Carlos Ferri^{2,*}, Roger Wagner³, Tassiane dos Santos Ferrão⁴

1. Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* em Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil; Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Sede, CEP. 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

2. Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil.

3. Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Sede, CEP. 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

4. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Roraima (IFRR), Campus Novo Paraíso, CEP. 69365-000, Caracaraí, RR, Brasil.

*Autor para correspondência: ferriufpel@gmail.com

CAPÍTULO 8

Propriedades bioativas do mirtilo (*Vaccinium myrtillus*): uma revisão

Angélica Markus Nicoletti, Aline Machado Pereira, Bianca Pio Ávila, Márcia Arocha Gularte

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-3-8.c8>

Resumo

Os cuidados com os hábitos de vida através da dieta têm sido foco de muitas pesquisas, com o intuito de elucidar coadjuvantes para uma vida mais longa e com saúde. Neste contexto, a prevenção e tratamento de patologias crônicas degenerativas têm destaque. Entre estas patologias podem ser citadas a hipercolesterolemia, diabetes melitus, doenças coronárias, câncer, além de problemas que refletem na função motora e neurológica. Na literatura o mirtilo é caracterizado como a fruta mais rica em antioxidantes, que agem como coadjuvantes no tratamento e prevenção de diversas patologias que acometem a população. O presente estudo embasou-se em uma revisão bibliográfica, realizada a partir de diferentes fontes de pesquisa tais como, Science direct, Scielo-Scientific Eletronic Library, Web of science, periódicos capes, portal de periódicos online de diversas universidades como UFSM, UFSC, UFPEL, UFPB, Sage journal, EBSCO, Google Acadêmico, objetivando reunir informações sobre as características bioativas desta fruta.

Palavras-chave: antioxidantes, antocianinas, blueberry, radicais livres.

1. Introdução

Alguns alimentos, em especial frutas e hortaliças, fornecem em abundância substâncias antioxidantes com funções bioquímicas benéficas à saúde contribuindo para um organismo saudável e promoção de qualidade de vida. Alimentos desse grupo contêm em sua composição bioativos importantes que agem como auxiliar na prevenção ao desenvolvimento de certas patologias, além de serem coadjuvantes para um bom funcionamento do organismo.

Dentre esses alimentos o mirtilo se destaca, como um pequeno fruto em forma de baga, de coloração azulada escura. Explorada em especial pela sua quantidade de substâncias antioxidantes, que incluem ácidos fenólicos, taninos, flavonoides e antocianinas (CONNOR *et al.*, 2002; KALT *et al.*, 2001; SHEN *et al.*, 2014). Entre as características do mirtilo estão a ação antioxidante, anticarcinogênese, redução da ocorrência de doença cardíaca coronária, função no tratamento de distúrbios do trato urinário, além de contribuições específicas na melhora da memória (DEL BO *et al.*, 2013; KRIKORIAN *et al.*, 2010; ROUANET *et al.*, 2010; VASILEIOU *et al.*, 2013).

Portanto, uma alimentação composta com bioativos de mirtilos pode contribuir na redução do risco de diversos tipos de doenças crônicas (SERAFINI *et al.*, 2009). Com

base no exposto, o trabalho objetivou realizar uma revisão bibliográfica destacando as substâncias bioativas antioxidantes do mirtilo, sua relação com a prevenção e redução de doenças, bem como seus benefícios para a qualidade de vida.

2. Mirtilo

O mirtilo é um fruto que tem sido estudado mundialmente em especial após um relatório que foi publicado sobre a sua alta atividade antioxidante, sendo que diversas investigações apontam mirtilos (*Vaccinium sp.*) como uma das mais ricas fontes de bioativos antioxidantes naturais dentre as frutas frescas (OPREA *et al.*, 2014; SHEN *et al.*, 2014; SUN *et al.*, 2014;).

Dentre os bioativos do mirtilo se destacam as antocianinas, largamente estudadas, em especial por seus benefícios medicinais e sua capacidade em atravessar a barreira hematoencefálica, destacam-se também os flavonoides e procianidinas (BURAN *et al.*, 2012; SUN *et al.*, 2014).

Os compostos bioativos fenólicos são metabólitos secundários de plantas e frutas em geral), constituindo compostos químicos base, para a formação de demais grupos bioativos. No mirtilo, seu conteúdo elevado de compostos fenólicos e flavonoides é evidenciado pela sua coloração azul arroxeada, sendo que as antocianinas constituem-se pigmentos em plantas, e glicosídeos de antocianidinas, também denominadas de agliconas. As antocianidinas do mirtilo são principalmente glicosiladas com glucopirranose, galactopirranose ou arabinopirranose na posição 3 do anel C (GARZÓN *et al.*, 2010; PRAJITNA *et al.*, 2007).

As antocianidinas mais usuais encontradas em mirtilos são cianidina, delfinidina, petunidina, peonidina e malvidina, as quais foram quantificadas e identificadas demonstrando que nos diversos cultivares avaliados a sua quantidade é variável. Os frutos de mirtilo contêm uma mistura complexa de até 27 diferentes antocianinas. Dentre os flavonoides, os dois principais são flavonoides de quercetina e mirecitrina. A quantidade de antocianinas encontradas em mirtilos é utilizada como um marcador na avaliação de qualidade destes frutos e de seus produtos derivados, pois esta se constitui na principal substância responsável pela função antioxidante da fruta (SUN *et al.*, 2014). No entanto, os mecanismos de ação das antocianinas ainda não estão totalmente elucidados.

Considerando que a recomendação de ingestão dietética de flavonoides diária para adultos norte-americanos fica em torno de 9,1-14,5 mg/dia, uma porção de mirtilos pode suprir de 2 a 3 vezes esse montante. Com base em informações do banco de dados do USDA a dose diária recomendada de consumo de suco de mirtilo é de 1 a 2 copos de suco de fruta fresca ou congelada ou 100 mg de fruta/dia para benefícios de saúde.

O interesse por estudos com o foco em explorar e avaliar o conteúdo de fenólicos em mirtilos decorre de seu potencial papel protetor contra danos oxidativos celulares, principalmente devido às suas propriedades redox que podem desempenhar um papel importante na neutralização de radicais livres, decompondo oxigênio singlete, triplete e peróxido supressores e inibidores de enzimas (AHERNE; O'BRIEN, 2002).

Estudos envolvendo seres humanos revelaram uma relação direta entre o consumo de mirtilo e melhoria dos marcadores de atividade antioxidante, mostrando que o consumo de mirtilo liofilizado (PRIOR *et al.*, 2007) promoveu um aumento de antioxidantes hidrofílicos e lipofílicos no plasma. McNulty *et al.* (2005) inferiram que o

consumo de mirtilo reduziu significativamente o teor plasmático de hidroperóxidos lipídicos entre fumantes, além de reduzir as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) no soro de indivíduos com diagnóstico de síndrome metabólica. Desta forma, Kloet *et al.* (2001) relatam que os antioxidantes podem auxiliar na mitigação de danos causados pelos radicais livres de oxigênio no corpo e o seu consumo é suposto promover boa saúde, através da diminuição do risco de doenças degenerativas.

3. Poder antioxidante

As ações antioxidantes do mirtilo são dependentes da estrutura e do conteúdo em quantidade e qualidade de seus constituintes flavonoides e fenóis (MOYER *et al.*, 2002). Sun *et al.* (2014) elencaram que delfinidinas e antocianidinas como os principais componentes bioativos contributivos para expressar o poder antioxidante dos mirtilos.

As cultivares Owen, Bluegem, Clara, Climax e Centurion, estavam entre as cultivares Rabbiteye que apresentaram altos níveis de flavonoides e atividades antioxidantes influenciados pela sua constituição de antocianinas (malvidina, petunidina, delfinidina e cianidina). Já, a análise da atividade antioxidante de mirtilos derivados híbridos de Ashei, mostrou que foi o ácido clorogênico, miricetina, e quercetina, que aparecem com uma contribuição significativa da atividade antioxidante. Portanto, o teor médio de flavonoides e atividade antioxidante de cultivares Rabbiteye é maior que híbridos Ashei (WANG *et al.*, 2012).

A qualidade, quantidade e predominância dos compostos bioativos do mirtilo dependem da variedade, composição do solo, clima, genética do fruto, época de colheita, maturação, exposição solar, localização de frutas no manejo da planta e pós-colheita (FANIADIS; DROGOUDI; VASILAKAKIS, 2010). Além disso, alguns mirtilos tropicais têm conteúdo de antioxidantes mais elevados do que as cultivares que são cultivadas em climas temperados (DASTMALCHI *et al.*, 2011).

É bem conhecido que a falta de água e estresse UV provocam uma produção elevada de metabólitos secundários, tais como fenólicos e antocianinas. A biossíntese dos flavonoides aumenta quando as plantas são cultivadas em luz brilhante ou quando são expostas a outros tipos de *stress*. O excesso de luz diariamente age estressando a planta, que por sua vez reduz a atividade de antioxidantes enquanto aumenta a regulação e a biossíntese dos flavonoides, mesmo na ausência de irradiação UV (AGATI *et al.*, 2012).

4. Ação dos compostos antioxidantes do mirtilo

A propriedade antioxidante do fruto de mirtilo se constitui em uma ação fisiológica base no organismo a partir da qual decorrem reações bioquímicas, as quais acarretam mudanças e interferência na ocorrência ou não de certas patologias. A função antioxidante do fruto é largamente atribuída às antocianinas e outros compostos flavonoides. Os compostos fenólicos desempenham ações fisiológicas no organismo, entre estas, consiste em atrasar ou evitar a oxidação através da inibição da iniciação ou de propagação de reações oxidantes em cadeia (AHERNE, O'BRIEN, 2002).

Mirtilos desempenham notável ação antimicrobiana avaliada através da administração do fruto inteiro, em forma de suco ou bioativos isolados. Foi avaliado o comportamento celular de bactérias, vírus e parasitas, através de microscopia de varredura, observando diferenças na morfologia da membrana celular das cepas tratadas em relação aos controles não tratados, com bioativos da fruta. As alterações observadas foram à mudança na fluidez da membrana celular, no perfil de ácidos graxos desta,

resultando em alteração no metabolismo celular (LACOMBE *et al.*, 2012; SU *et al.*, 2011; TAKESHITA *et al.*, 2009).

Em um estudo desenvolvido por Joshi (2014) foram avaliados os efeitos antimicrobianos de proantocianidinas de mirtilo administradas puras em uma quantidade 5 mg/mL e de suco de mirtilo comercial contra duas cepas diferentes de micro-organismos. Os resultados demonstram que o uso de 5 mg/mL de proantocianidinas de mirtilo mostrou ser eficaz contra as cepas testadas, mostrando a redução completa destas em 1 h. Também é importante salientar que este estudo mostrou que o consumo tanto do suco de mirtilo, quanto de proantocianidina de mirtilo isolada mostrou redução microbiana semelhante a métodos químicos, indicando que o uso do mirtilo pode ser uma alternativa natural com ação antimicrobiana. Essa característica é importante, uma vez que, os consumidores estão cada vez mais preocupados com os potenciais efeitos nocivos de produtos químicos usados como conservantes e preferem alimentos isentos destes (GUTIÉRREZ-LARRAÍNZA *et al.*, 2012).

Dos extratos vegetais testados por Katsube *et al.* (2004) e Madhavi *et al.* (1998), os extratos obtidos de mirtilo continham grande quantidade de compostos fenólicos, sendo que delfinidina e malvidina isoladas de mirtilo, induziram apoptose em células tumorais. Um dos mecanismos que explica essa quimioproteção se baseia na hipótese que antocianinas agem absorvendo os radicais de oxigênio, evitando o aumento das células, a geração de radicais livres de oxigênio, estimulando a expressão de enzimas de desintoxicação e diminuindo a peroxidação lipídica, além de induzir a apoptose e a inibição da proliferação do tumor é através da modulação de transdução de sinal por proteínas reguladoras do ciclo celular (BUNEA *et al.*, 2013; RUGINĂ *et al.*, 2012).

Extratos de mirtilo apresentam boa quantidade de antocianinas purificadas sendo mais eficaz do que as bagas inteiras na ação de prevenção no desenvolvimento de obesidade. Flores *et al.* (2013) demonstraram que os métodos que usam solventes etanólicos na extração mostraram que o extrato de bagaço etanólico possuía a maior quantidade de antocianinas monoméricas e fenólicos totais, tanto em análise de antocianinas de mirtilos inteiros, quanto do bagaço. Esses relataram que os solventes etanólicos e metanólicos tendiam a extrair mais delfinidina, petunidina, cianidina e peonidina, enquanto o solvente acetônico tende a extrair mais malvidina.

O desenvolvimento de algumas doenças crônicas está relacionado com a decomposição dos alimentos e absorção, na fase pós prandial. Esse período constitui uma fase dinâmica de catabolismo e de síntese, levando em curto prazo o aparecimento de distúrbios. Para compreensão desses fatores, é importante atentar que o epitélio gástrico é um importante local de produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) decorrente de algumas características físicas, químicas e microbiológicas do lúmen. Por sua vez, ROS estão implicados na patogênese de úlceras gastrointestinais e câncer (ALVAREZ-SUAREZ *et al.*, 2010).

Na literatura se encontram relatos de ação de antioxidantes do mirtilo na neurodegeneração relacionada à idade (STONER *et al.*, 2008; TZOUNIS *et al.*, 2011) promovendo ações, como quedas relacionadas com a idade de reversão em transdução de sinal neuronal, bem como cognitivo e os défices motores e a melhoria da atividade de aprendizagem e memória (MALIN *et al.*, 2011; MOLAN; LILA; MAWSON, 2008). Krikorian *et al.* (2010) realizaram estudos sobre os benefícios para a saúde, inferindo que o consumo diário de suco de mirtilo selvagem durante 12 semanas pode melhorar a função da memória em adultos mais velhos com declínio mais precoce da memória em relação a idade.

Acredita-se que a acumulação de danos oxidativos causados por espécies reativas de oxigênio (ROS) é um dos principais contribuintes responsáveis pelo envelhecimento. Como forma de combater o excesso de ROS, pode-se lançar mão do sistema de proteção antioxidante endógeno e ingestão de antioxidantes exógenos que são indispensáveis. A esse respeito, a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx) servem como antioxidantes primários endógenos para desativar as espécies reativas a oxigênio, enquanto que antioxidantes exógenos, tais como vitamina C e E, polifenóis, ajudam a eliminar radicais livres por barrar a propagação da reação ROS (JIMÉNEZ *et al.*, 2004). Sendo assim, a atividade anti-envelhecimento de extratos de mirtilo está associada, pelo menos, em parte, pelo aumento da regulação das enzimas antioxidantes endógenas, bem como a regulação negativa dos genes que determinam a longevidade.

A eficiência do consumo de mirtilo consiste em uma adequada biodisponibilidade dos seus constituintes bioativos. Existem várias definições de biodisponibilidade, contudo a mais adequada compreende na explicação de que biodisponibilidade é a relação entre a fração do nutriente ingerido e a quantidade do composto que atinge a circulação sistêmica. Essa quantidade, é que irá exercer a sua ação biológica nos tecidos alvo específicos (PORRINI; RISO, 2008).

Algumas investigações elucidam que a biodisponibilidade de antocianinas do mirtilo é baixa, variando de 1,7% a 3,3% do total consumido. Algumas substâncias da dieta contribuem para a biodisponibilidade desses bioativos, conforme Ribnicky (2013) uma avaliação dos parâmetros de biodisponibilidade foi realizada de acordo com o modelo intestinal TNO (TIM-1), para análise de absorção/biodisponibilidade de antocianinas de mirtilo em diferentes condições digestivas, compreendendo ausência ou presença de uma refeição com elevado teor de gordura. As análises mostraram que as antocianinas, delfinidina e petunidina foram duas vezes mais bioacessível na presença de gorduras, enquanto delfinidina e malvidina foram duas vezes mais bioacessível em jejum, sugerindo que alimentação rica em lipídios contribui seletivamente para a biodisponibilidade de antocianina.

Estudos de biodisponibilidade de antocianinas, indicam que os níveis baixos são absorvidas na circulação e excretados na urina, enquanto que os níveis mais elevados encontram-se na mucosa gastrointestinal (GI) (MCGHIE; WALTON, 2007). Esse estudo mostrou que 3 h após a administração oral de cianidina em ratos, 87,9% foi recuperada na GI com 50,7% a partir do intestino delgado, enquanto apenas 3,3% e 0,044% foi recuperada na urina e plasma, respectivamente. Portanto, a biodisponibilidade de antocianina pode ser melhorada, impedido ou inalterado o consumo destas com alimentos ricos em gordura, proteína, carboidratos ou fibra.

McGhie e Walton (2007), sugeriram em sua pesquisa que as biotransformações envolvendo o catabolismo, metilação, deglicosilação aumentam a biodisponibilidade de compostos fenólicos. O transporte através do epitélio intestinal, se dá sob a forma de glicosídeos, que são hidrolisados por glicosidases formando agliconas, que são absorvidas passivamente através do epitélio (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000). Metabólitos hepáticos (metilados conjugados, sulfatados ou glucoronizados) são retornados através da circulação entero-hepática para o lúmen intestinal. Assim, os compostos fenólicos que entram no cólon consistem basicamente de glicosídeos não absorvidos, e os conjugados que foram operados através do metabolismo hepático e ileal (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000).

Flores *et al.* (2014) abordam que o estômago é um importante local para a extração de bioativos ocorrência natural ou matrizes derivadas, já para McGhie e Walton (2007), o ambiente do intestino grosso e delgado, por apresentar pH próximo da neutralidade

promove múltiplas formas de antocianinas. Os polifenóis podem também ser associados com a matriz de alimentos e, por conseguinte tornar-se indisponível para a absorção, ao passo que, estes compostos ao chegar ao ceco são submetidos a metabolismo e ação da microbiota intestinal.

O mirtilo como fruta fresca está em alguns países entre, como a fruta mais popular do varejo sendo que a oferta deste fruto no mercado é atendida quase inteiramente por *blueberries* Highbush, enquanto Lowbush *blueberries* por seu menor tamanho o que influencia negativamente na aceitação do consumidor são primeiramente congelados e, em seguida, usados principalmente como um ingrediente em alimentos processados como polpa de frutas, iogurtes, doces, sorvetes, geléias ou apenas congelado (KLOET, 2001). O mirtilo em geral é consumido *in natura*, em licores, conservas, aguardentes, vinhos, passas podendo ser empregado como corante devido sua fonte em antocianinas (WROLSTAD; DURST; LEE, 2005).

Oprea *et al.* (2014), avaliaram 4 diferentes cultivares quanto ao seu conteúdo total de polifenóis, entre estes o ácido gálico e o conteúdo total de antocianidinas, em especial a cianidina. Foi observado que os mirtilos da varietal Duke apresentaram a maior quantidade de polifenóis e antocianidinas, seguido pela cultivar Brigitta, enquanto que as amostras obtidas a partir das variedades Ozark azul e Simultan mostraram resultados menores nestes compostos.

5. Conclusão

Com base na literatura consultadas, o mirtilo se encontra entre as frutas que apresentam o maior teor de compostos antioxidantes. As antocianidinas possuem grande importância devido a múltiplos efeitos biológicos, como diminuição da permeabilidade e fragilidade dos vasos sanguíneos, ação antiinflamatória, antiespasmódica, antioxidante, antiviral, antibacteriana e antitumoral. A absorção de compostos bioativos do mirtilo, mesmo em frações mínimas, demonstram ações positivas na prevenção e como coadjuvante no tratamento de patologias crônicas degenerativas.

A composição da dieta consumida juntamente com compostos do mirtilo influenciam na biodisponibilidade de compostos bioativos antioxidantes no organismo. Análises da constituição e definição de teor e classe de antioxidantes presentes no mirtilo são dependentes de condições edafoclimáticas e varietais do fruto. O tipo de método e a natureza do solvente (etanólico, metanólico ou acetônico) utilizado na extração de compostos bioativos de mirtilo tem relação direta na expressão da quantidade e do tipo de antocianinas monoméricas e fenólicos totais.

6. Referências

AGATI, G. *et al.* Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. **Plant Science**, v. 196, p.67-76, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.07.014>.

AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. **Nutrition**, v. 18, p.75-81, 2002. [https://doi.org/10.1016/s0899-9007\(01\)00695-5](https://doi.org/10.1016/s0899-9007(01)00695-5).

ALVAREZ-SUAREZ, J. M. *et al.* Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other

chemical compounds. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 2490-2499, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.06.021>.

BUNEA, A. *et al.* Anthocyanin determination in blueberry extracts from various cultivars and their antiproliferative and apoptotic properties in B16-F10 metastatic murine melanoma cells. **Phytochemistry**, v. 95, p. 436-444, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.06.018>.

BURAN, T. J. *et al.* Effects of exogenous abscisic acid on fruit quality, antioxidant capacities, and phytochemical contents of Southern Highbush blueberries. **Food Chemistry**, v. 132, p. 1375-1381, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.124>.

CONNOR, A. M. *et al.* Genotypic and environmental variation in antioxidant activity, total phenolic content, and anthocyanin content among blueberry cultivars. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 127, n.1, p.89-97, 2002. <https://doi.org/10.21273/JASHS.127.1.89>.

DASTMALCHI, K. *et al.* Edible neotropical blueberries: antioxidant and compositional fingerprint analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p.3020-3026, 2011. <https://doi.org/10.1021/jf200367j>.

DEL BO, C. *et al.* A Single portion of blueberry (*Vaccinium Corymbosum* L) improves protection against DNA damage but not vascular function in healthy male volunteers." **Nutrition Research**, v. 33, p.220-227, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2012.12.009>.

FANIADIS, D.; DROGOUDI, P. D.; VASILAKAKIS, M. Effects of cultivar, orchard elevation, and storage on fruit quality characters of sweet cherry (*Prunus avium* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 125, p.301-304, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.04.013>.

FLORES, F. P.; SINGH, R. K.; KONG, F. Physical and storage properties of spray-dried blueberry pomace extract with whey protein isolate as wall material. **Journal of Food Engineering**, v. 137, p.1-6, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.03.034>.

GARZÓN, G. A. *et al.* Chemical composition, anthocyanins, non-anthocyanin phenolics and antioxidant activity of wild bilberry (*Vaccinium meridionale* Swartz) from Colombia. **Food Chemistry**, v. 122, n.4, p.980-986, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.017>.

GUTIÉRREZ-LARRAÍNZA, M. *et al.* Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of natural phenolic compounds against foodborne pathogens and spoilage bacteria. **Food Control**, v. 26, p.555-563, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.02.025>.

JIMÉNEZ, M. M. *et al.* Influence of encapsulation on the in vitro percutaneous absorption of octyl methoxycinnamate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 272, p.45-55, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2003.11.029>.

KALT, W. *et al.* Interspecific variation in anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity among genotypes of Highbush and Lowbush blueberries (*Vaccinium section cyanococcus* spp.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n.10, p.4761-67, 2001. <https://doi.org/10.1021/jf010653e>.

KATSUBE, T. *et al.* Screening for antioxidant activity in edible plant products: comparison of low-density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay, and Folin-Ciocalteu assay. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.52, p.2391-2396, 2004. <https://doi.org/10.1021/jf035372g>.

KLOET, S.R.D. *et al.* **Development of a CAPS (cleaved amplified polymorphics sequence) assay for sex identification of the emu (*Dromaius novaehollandiae*).** **Molecular Ecology Notes**, v.1, p. 273-275, 2001. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8278.2001.00104.x>.

KRIKORIAN, R. *et al.* Blueberry supplementation improves memory in older adults. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p.3996–4000, 2010. <https://doi.org/10.1021/jf9029332>.

LACOMBE, A. *et al.* The antimicrobial properties of the Lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*) fractional components against foodborne pathogens and the conservation of probiotic *Lactobacillus rhamnosus*. **Food Microbiology**, v. 30, p.124–31, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.10.006>.

MADHAVI, D.L. *et al.* Isolation of bioactive constituents from *Vaccinium myrtillus* (bilberry) fruits and cell cultures. **Plant Science**, v.131, p.95-103, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(97\)00241-0](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(97)00241-0).

MALIN, D. H. *et al.* Short-term blueberry-enriched diet prevents and reverses object recognition memory loss in aging rats. **Nutrition**, v. 27, p.338342, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2010.05.001>.

MCANULTY, S.R. *et al.* Hyperthermia increases exercise-induced oxidative stress. **International Journal Sports Medicine**, v. 26, p.188-192, 2005. <https://doi.org/10.1055/s-2004-820990>.

MCGHIE, T. K.; WALTON, M. C. The bioavailability and absorption of anthocyanins: Towards a better understanding. **Molecular Nutrition and Food Research**, v.51, p.702–713, 2007. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700092>.

MOLAN, A. L.; LILA, M. A.; MAWSON, J. Satiety in rats following blueberry extract consumption induced by appetite-suppressing mechanisms unrelated to in vitro or in vivo antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 107, p.1039–44, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.018>.

MOYER, R. A. *et al.* Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: vaccinium, rubus, and ribes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.519–525, 2002. <https://doi.org/10.1021/jf011062r>.

OPREA, E. *et al.* *Vaccinium Corymbosum* L. (blueberry) extracts exhibit protective action against cadmium toxicity in *Saccharomyces cerevisiae* Cells. **Food chemistry**, v. 152, p.516–521, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.020>.

PORRINI, M.; RISO, P. Factors influencing the bioavailability of antioxidants in foods: a critical appraisal. **Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: NMCD**, v. 18, n.10, p.647–650, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2008.08.004>.

PRAJITNA, A. *et al.* Influence of cluster thinning on phenolic composition, resveratrol , and antioxidant capacity in chambourcin wine. **Strain**, v. 3, p.346–50, 2007.

PRIOR, R. L. *et al.* Plasma antioxidant capacity changes following a meal as a measure of the ability of a food to alter in vivo antioxidant status. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 26, p.170–81, 2007. <https://doi.org/10.1080/07315724.2007.10719599>.

RIBNICKY, D. M. *et al.* Effects of a high fat meal matrix and protein complexation on the bioaccessibility of blueberry anthocyanins using the TNO gastrointestinal model (TIM-1). **Food Chemistry**, v. 142, p.349–57, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.073>.

ROUANET, J. M. *et al.* Berry juices, teas, antioxidants and the prevention of atherosclerosis in hamsters. **Food Chemistry**, v. 118, p.266–271, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.116>.

RUGINĂ, D. *et al.* Antioxidant activities of chokeberry extracts and the cytotoxic action of their anthocyanin fraction on HeLa human cervical tumor cells. **Journal of Medicinal Food**, v. 15, p.700–706, 2012. <https://doi.org/10.1089/jmf.2011.0246>.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **The Journal of Nutrition**, v.130, p.2073S–2085S, 2000. <https://doi.org/10.1093/jn/130.8.2073S>.

SERAFINI, M. *et al.* Antioxidant activity of blueberry fruit is impaired by association with milk. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 46, p.769–774, 2009. [10.1016/j.freeradbiomed.2008.11.023](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.11.023).

SHEN, X. *et al.* Antimicrobial effect of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) Extracts against the Growth of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enteritidis*. **Food Control**, v. 35, n.1, p.159–165, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.040>.

STONER, G. D. *et al.* Carcinogen-altered genes in rat esophagus positively modulated to normal levels of expression by both black raspberries and phenylethyl isothiocyanate. **Cancer Research**, v. 68, p.6460–6467, 2008. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-0146>.

SU, X. *et al.* The effect of cranberry juice and cranberry proanthocyanidins on the infectivity of human enteric viral surrogates. **Food Microbiology**, v. 27, p.535–540, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.01.001>.

SUN, L-Q. *et al.* Antioxidant anthocyanins screening through spectrum-effect relationships and DPPH-HPLC-DAD analysis on nine cultivars of introduced rabbiteye blueberry in China. **Food Chemistry**, v. 132, n.2, p.759–765, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.030>.

TAKESHITA, M. *et al.* Proanthocyanidin from blueberry leaves suppresses expression of subgenomic hepatitis C virus RNA. **The Journal of Biological Chemistry**, v.284, p.21165–1176, 2009. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.004945>.

TZOUNIS, X. *et al.* Prebiotic evaluation of cocoa-derived flavanols in healthy humans by using a randomized, controlled, double-blind, crossover intervention study.” **The American journal of clinical nutrition**, v. 93, p.62–72, 2011. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.000075>.

VASILEIOU, I. *et al.* Current clinical status on the preventive effects of cranberry consumption against urinary tract infections. **Nutrition Research**, v. 33, p.595–607, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2013.05.018>.

WANG, S. Y. *et al.* Flavonoid constituents and their contribution to antioxidant activity in cultivars and hybrids of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade). **Food Chemistry**, v. 132, p.855–864, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.050>.

WROLSTAD, R. E.; DURST, R. W.; LEE, J. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 16, p.423-428, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.03.019>.

Autores

Angélica Markus Nicoletti¹, Aline Machado Pereira², Bianca Pio Ávila², Márcia Arocha Gularte^{3,*}

1. Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* em Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil; Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão s/n, CEP. 96010-900, Pelotas, Brasil.

2. Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão s/n, CEP. 96010-900, Pelotas, Brasil.

3. Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil

*Autor para correspondência: marciagularte@hotmail.com

CAPÍTULO 9

Toxicidade dos corantes alimentares artificiais

Josiane Bizzi Schlemmer Braun, Rosane da Silva Rodrigues

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-3-8.c9>

Resumo

Os corantes alimentícios são amplamente utilizados para conferir cor e tornar os alimentos mais atrativos. A utilização desses aditivos em alimentos, particularmente os corantes artificiais, vem sendo relacionada à ocorrência de reações adversas associadas ao seu consumo. O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão bibliográfica sobre a toxicidade dos corantes alimentares artificiais. Realizou-se uma busca nas bases de dados nas plataformas *online*: *Scientific Electronic Library Online* (SCIELO), PUBMED e Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) e Google Acadêmico, com publicações nacionais e internacionais relacionados ao tema. Foram selecionados artigos científicos, leis, portarias e resoluções, para integrar a presente revisão, datados de 1965 a 2019. Concluiu-se que os corantes alimentares artificiais, quando utilizados a longo prazo, podem causar danos à saúde do consumidor, com o desenvolvimento de enfermidades e ou outras complicações. É importante que as indústrias estejam atentas quanto ao uso dessas substâncias nos alimentos, respeitando os valores estabelecidos pela legislação, assim como os consumidores devem buscar informações de forma a não consumir o mesmo aditivo através de vários produtos, evitando ultrapassar a ingestão diária aceitável. Aspectos relacionados à rotulagem, com informações claras e de fácil compreensão, podem contribuir nestas escolhas.

Palavras-chave: aditivo alimentar, cor, efeitos colaterais, legislação.

1. Introdução

Corantes são aditivos alimentares que têm por finalidade melhorar o aspecto dos alimentos, transmitindo novas cores ou exaltando as que eles já possuem (SHIBAMOTO; BJELDANES, 2014). A aparência do produto é a maior justificativa para o emprego de corantes alimentícios (PRADO; GODOY, 2007), pois a cor do alimento tipifica-o e constitui-se em um fator fundamental para a aceitação do produto. Esta característica sensorial, embora subjetiva, é fundamental na indução da sensação global resultante de outras características, como o aroma, o sabor e a textura dos alimentos. Desta forma, a aparência do alimento pode exercer efeito estimulante ou inibidor do apetite (CONSTANT; STRINGHETA; SANDI, 2002).

A coloração é a primeira qualidade sensorial pelo qual os alimentos são julgados e, portanto, amplamente utilizada na indústria alimentícia para atender às expectativas dos consumidores, os quais usualmente associam cor ao sabor, ao aroma ou à qualidade do produto. O setor alimentício lança mão de diversos tipos de corantes que melhoram ou conferem a cor característica dos alimentos e bebidas, resultando em

produtos que satisfaçam visualmente o consumidor, pois além de necessária para sobrevivência, a alimentação também é fonte de prazer e satisfação. Contudo, tem aumentado a preocupação quanto aos riscos toxicológicos desses produtos e ou seus metabólitos no organismo humano (CONSTANT; STRINGHETA; SANDI, 2002).

Os corantes são classificados em quatro classes: corante orgânico natural; corante orgânico sintético (artificial e idêntico ao natural); corante inorgânico e caramelo (BRASIL, 1977a; 1978). Na primeira metade do século XX, o uso de corantes artificiais na coloração de alimentos teve um grande crescimento em virtude de mudanças econômicas e pela descoberta de métodos de fabricação de corantes artificiais de forma eficaz e barata (BAFANA; DEVI; CHAKRABARTI, 2011). Entretanto, tem sido demonstrada a ocorrência de reações adversas associadas ao consumo de alimentos que contêm esses aditivos, incluindo desde urticárias, asma e reações imunológicas, até câncer em modelos animais (BENTO; LIMA; PALM, 2015; LI *et al.*, 2015). De acordo com Honorato *et al.* (2013), dentre as substâncias químicas genotóxicas utilizadas como aditivos alimentares, os corantes artificiais são considerados os mais genotóxicos, induzindo danos ao DNA (SHIBAMOTO; BJELDANES, 2014). Freitas (2012) e Moutinho *et al.* (2007) também demonstraram que os corantes artificiais foram capazes de ocasionar reações de hipersensibilidade, mutagênese e carcinogênese por produzir, após ser metabolizado pela microflora intestinal, amina aromática e ácido sulfanílico, compostos com alto potencial cancerígeno.

Em virtude do aumento no número de compostos com poder corante e de seu uso estendido aos alimentos e bebidas, tornou-se necessário o controle de suas aplicações e surgiu uma maior preocupação com possíveis efeitos à saúde humana. Sob o ponto de vista toxicológico, estudos têm sido realizados para verificar os efeitos nocivos ao homem, particularmente associados aos corantes artificiais, devido às reações adversas que alguns consumidores podem apresentar (LUCOVÁ *et al.*, 2013; PRADO; GODOY, 2003).

2. Aditivo alimentar

De acordo com a Portaria MS nº 540/1997, aditivo alimentar é qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, mas com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento. Ao agregar-se poderá resultar em que o próprio aditivo ou seus derivados se convertam em um componente de tal alimento (BRASIL, 1997). Os aditivos alimentares possuem três características: são substâncias adicionadas aos alimentos e não podem ser consumidas sozinhas como alimento; incluem substâncias sintéticas e naturais; e o objetivo da adição é melhorar a cor, fragrância, sabor dos alimentos e atender às demandas de preservação, frescor e processamento (SUN; WANG, 2017).

Os aditivos comumente usados em alimentos são os antioxidantes, corantes, emulsificantes, estabilizadores, gelificantes, espessantes, conservantes, edulcorantes, entre outros, e alguns desses são úteis para aumentar o prazo de validade e impedir ou retardar alterações em alimentos causadas por micro-organismos ou enzimas (EFSA, 2013). É proibido o uso de aditivos em alimentos quando houver evidências ou suspeita de que o mesmo não é seguro para consumo pelo homem; interferir sensível e desfavoravelmente no valor nutritivo do alimento; servir para encobrir falhas no processamento e ou nas técnicas de manipulação, encobrir alteração ou adulteração da matéria-prima ou do produto já elaborado; induzir o consumidor a erro, engano ou confusão, e quando não estiver autorizado por legislação específica (BRASIL, 1997).

Quanto à rotulagem dos aditivos nos alimentos, a Resolução RDC MS nº 259/2002 determina que os aditivos devem ser declarados na lista de ingredientes. Essa declaração deve constar da função principal ou fundamental do aditivo no alimento; e seu nome completo ou seu número INS (Sistema Internacional de Numeração), ou ambos. Quando houver mais de um aditivo alimentar com a mesma função, pode ser mencionado um em continuação ao outro, agrupando-os por função. Os aditivos alimentares devem ser declarados depois dos ingredientes (BRASIL, 2002).

O uso dos aditivos deve ser limitado a alimentos específicos, em condições específicas e ao menor nível para alcançar o efeito desejado para que a ingestão do aditivo não supere os valores de ingestão diária aceitável (IDA) (BRASIL, 1997). Para a segurança do uso de corantes em alimentos, com exceção do corante Azul Patente V, que ainda não teve a IDA determinada, ou seja, os dados toxicológicos disponíveis não são suficientes para se estabelecer a segurança de uso do mesmo, os demais possuem IDA nos valores expressos com base no peso corpóreo. Esse valor é uma estimativa realizada pelo grupo de especialistas da FAO/WHO (*Food and Agricultural Organization/World Health Organization*) do Comitê de Aditivos Alimentares (JECFA, *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*), da quantidade de um determinado aditivo alimentar que pode ser ingerido diariamente por toda a vida, sem apreciável risco à saúde (JOINT FAO/WHO; JECFA, 2011). A soma das quantidades dos corantes utilizados nos alimentos não deverá ultrapassar a quantidade máxima correspondente ao corante permitido em maior quantidade, e a quantidade de cada corante não poderá ser superior ao seu limite individual. A Resolução CNNPA/MS nº17/1977 estabelece esses limites de adição para os aditivos alimentares. O aditivo que não constar da legislação não tem permissão para ser utilizado em alimentos. Poderão ser empregados no mesmo alimento aditivos da mesma classe, desde que a quantidade total não ultrapasse o limite máximo autorizado para cada um, nem cada aditivo, isoladamente, ultrapasse o seu próprio limite, salvo restrições específicas que venham a ser fixadas (BRASIL, 1977b).

A RDC MS nº45/2010 traz a relação dos aditivos para uso segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF). Um aditivo é considerado BPF quando possui IDA "não especificada". Isso significa que o uso está limitado à quantidade necessária para se obter o efeito tecnológico desejado (*quantum satis*), sempre que o aditivo não afetar a genuinidade do alimento. A autorização de um aditivo como BPF não significa que este pode ser utilizado em todos os alimentos. Somente poderá ser utilizado se estiver previsto no Regulamento Técnico específico para a categoria de alimentos correspondente, geralmente com a frase "todos os autorizados como BPF" para a determinada função (BRASIL, 2010).

A autorização do uso de aditivos é concedida mediante a demonstração de inocuidade para o consumidor, através da realização de estudos toxicológicos e da demonstração da sua necessidade tecnológica (ROMIERO; DELGADO, 2013). A utilização dos aditivos está sujeita a controles rigorosos, considerando que o consumo excessivo pode causar reações adversas, quer seja crônica ou aguda, como também reações tóxicas (TOMASKA; BROOKE-TAYLOR; 2014). Os estudos toxicológicos apontam diversos efeitos negativos, em decorrência das propriedades químicas e de produtos de metabolização (DOWNHAM; COLLINS, 2000). Portanto, deve ser feita a adequada avaliação toxicológica, considerando os efeitos que determinado aditivo pode vir a causar durante o consumo prolongado, levando em conta, entre outros aspectos, qualquer efeito cumulativo, sinérgico e de proteção, decorrente do seu uso. Os aditivos alimentares devem ser mantidos em observação e reavaliados sempre que necessário caso se modifiquem as condições de uso. Em relação aos corantes, o estudo toxicológico é realizado com os corantes que atendam às especificações da

FAO/WHO ou do *Food Chemicals Codex*, portanto é muito importante a análise destes antes da adição aos alimentos (MARTINS, 2014).

Os resultados adversos associados aos aditivos alimentares incluem vários efeitos inespecíficos, de início tardio e ou local, como alterações no peso corporal, por exemplo (KRAMER *et al.*, 2019). A maioria dos efeitos provavelmente não tem impacto na saúde e alguns ainda podem ser benéficos, como os efeitos antimicrobianos e antioxidantes. No entanto, alguns resultados preocupantes surgiram em relação a vários aditivos, como nitratos/nitritos (ETEMADI *et al.*, 2017; QUIST *et al.*, 2018), glutamato (ATASEVEN *et al.*, 2016; CHAKRABORTY, 2019), edulcorantes (AZAD *et al.*, 2017; SOFFRITTI, *et al.*, 2016), emulsificantes (VIENNOIS; CHASSAING, 2018; VIENNOIS *et al.*, 2017), corante caramelo (SMITH *et al.*, 2015), dióxido de titânio (TiO₂) (BETTINI *et al.*, 2017), entre outros, os quais foram previamente associados a perturbações metabólicas, microbianas do intestino ou endócrinas, juntamente com efeitos de estresse carcinogênico, inflamatório e ou oxidativo. Além disso, alguns resultados experimentais sugerem que diferentes aditivos podem interagir (entre si e ou com a matriz alimentar) e assim levar a efeitos sinérgicos ou antagonistas, mas poucos estudos foram realizados sobre esse tema até o momento (MOUBARAC *et al.*, 2017).

Sasaki *et al.* (2002) determinaram a genotoxicidade de 39 substâncias químicas utilizadas como aditivos alimentares. De todos os aditivos, os corantes artificiais (amaranto, vermelho allura, ponceau 4R, tartrazina, eritrosina, rosa bengala e floxina B) foram os mais genotóxicos, induzindo danos ao DNA nos órgãos do trato gastrointestinal com dose baixa (10 ou 100 mg/kg de peso corpóreo). Entre os corantes artificiais analisados, o amaranto, o vermelho allura, o ponceau 4R e a tartrazina induziram danos ao DNA no cólon próximo às ingestões diárias aceitáveis (IDAs). Chemin e Milito (2007) também relataram que os corantes estão comprovadamente associados a alergias, crises de asma, ansiedade e até quadros de depressão, em casos de intoxicação severa. Os corantes apresentam efeitos agudos em curto prazo, já que o consumo dos mesmos pode apresentar, de modo geral, alergias de pele, urticária, hiperatividade em crianças e em longo prazo a possibilidade de evolução das mesmas, podendo desenvolver distúrbios comportamentais, emocionais e sociais (GUIMARÃES, 2010). Tumores de bexiga, fígado e rins, surgimento de asma, eczema, dermatite de contato, irritação dos olhos, aberrações cromossômicas são alguns exemplos de reações adversas do consumo de corantes artificiais (CHUNG, 2016).

2.1. Corantes Alimentícios

De acordo com a Resolução MS nº 44/77, considera-se corante a substância ou a mistura de substâncias que possuem a propriedade de conferir ou intensificar a coloração de alimento (e bebida) (BRASIL, 1977a). O emprego dos corantes também está regulamentado pelo Decreto nº 55.871/1965, que determina que seja tolerada a venda de mistura ou solução de, no máximo, três corantes e que deverá constar da rotulagem da mistura ou da solução posta à venda a sua composição qualitativa e quantitativa (BRASIL, 1965). Além dessas, a Resolução MS nº 37/1977 considera laca o sal preparado a partir do corante, em combinação com o radical básico de alumínio ou cálcio, devendo ser exposto à venda sob o nome "LACA" (alumínio ou cálcio), seguido do nome comum do corante utilizado (BRASIL, 1977c).

Os corantes possuem o atributo de conceder ou intensificar a coloração de alimentos, tornando-os mais atrativos, influenciando o poder de escolha do consumidor, sendo um fator importante para o mercado (PARMAR; SINGH, 2018; ROVINA *et al.*, 2016).

As cores são capazes de influenciar as decisões do dia-a-dia, principalmente, as que envolvem os alimentos. Aparência, segurança, características sensoriais e aceitabilidade dos alimentos são todas afetadas pela cor (CLYDESDALE, 1993; DOWNHAM; COLLINS, 2000). A cor pode afetar outras características sensoriais e essa inter-relação pode influenciar no aceite ou não do alimento. Isso pode estar associado ao fato do ser humano "enxergar" sabores através da cor (CLYDESDALE, 1993).

A cor influencia na percepção do sabor, na aceitabilidade e, conseqüentemente, na preferência por certos alimentos e bebidas. Isso é um problema para as indústrias, pois a relação causa-efeito não pode ser ignorada ou minimizada nas formulações de novos alimentos e bebidas que visam suprir as necessidades do ser humano (CLYDESDALE, 1993; DOWNHAM; COLLINS, 2000). A determinação da cor de um corante depende da sua estrutura química, na qual a distribuição eletrônica entre os grupos funcionais e cadeia de átomos determina a emissão de uma determinada faixa de cor proveniente da reflexão da radiação visível (luz) (BAFANA; DEVI; CHAKRABARTI, 2011; MARTÍNEZ SUÁREZ, 2017).

Do ponto de vista nutricional, o uso de corantes alimentícios não é necessário. Sua função é apenas colorir os alimentos fazendo com que os produtos industrializados tenham uma aparência mais parecida com a dos produtos naturais, sendo, portanto, mais agradável aos olhos do consumidor, e seu uso, exclusivamente estético, é primordialmente justificado por motivos comerciais. Eles são extremamente comuns, já que a cor e a aparência têm um papel importantíssimo na aceitação dos produtos pelo consumidor (COSENTINO, 2005; CUNHA, 2008).

Segundo a Resolução MS nº 44/1977, modificada pela Resolução MS nº 11/1978, os corantes são classificados em: corante orgânico natural (aquele obtido a partir de vegetal, ou eventualmente, de animal, cujo princípio corante tenha sido isolado com o emprego de processo tecnológico adequado); corante orgânico sintético (aquele obtido por síntese orgânica mediante o emprego de processo tecnológico adequado), sendo subdividido em corante artificial (não encontrado em produtos naturais) e corante idêntico ao natural (cuja estrutura química é semelhante à do princípio ativo isolado de corante orgânico natural, incluindo o caramelo - processo amônia, obtido pelo processo amônia, desde que o teor de 4-metil, imidazol não exceda no mesmo a 200 mg/kg); corante inorgânico (aquele obtido a partir de substâncias minerais e submetido a processos de elaboração e purificação adequados a seu emprego em alimento); e o caramelo (corante natural obtido pelo aquecimento de açúcares à temperatura superior ao ponto de fusão) (BRASIL, 1977a, 1978).

Esta revisão bibliográfica abordará apenas os corantes artificiais.

2.1.1. Corantes Artificiais

Os corantes artificiais são uma classe de aditivos sem valor nutritivo, introduzidos nos alimentos e bebidas com o único objetivo de conferir cor, tornando-os mais atrativos. Por esse motivo, do ponto de vista da saúde, os corantes artificiais em geral não são recomendados, justificando seu uso quase que exclusivamente do ponto de vista comercial e tecnológico. Mesmo assim, os corantes são amplamente utilizados nos alimentos e bebidas devido à grande importância na aceitação dos produtos (PRADO; GODOY, 2003).

Os corantes artificiais apresentam algumas vantagens tecnológicas em relação aos naturais, como por exemplo, serem muito mais fáceis de usar, e são geralmente mais resistentes ao tratamento térmico, pH extremo e luz, que os corantes naturais

(CALVO, 2006). Em contrapartida, os corantes artificiais podem causar riscos à saúde, e geralmente estão associados ao modo e ao tempo de exposição, podendo-se destacar alguns problemas como alergias, rinite, broncoconstrição, hiperatividade, danificação cromossômica, tumores, entre outros (MARMITT; PIROTTA; STÜLP, 2010).

A legislação brasileira permite o uso de 14 corantes artificiais: tartrazina, amarelo crepúsculo, bordeaux S ou amaranto, ponceau 4R, eritrosina, vermelho 40, indigotina, azul brilhante, azorrubina, azul patente V, verde sólido, amarelo de quinoleína, negro brilhante e marrom HT, junto com o seu número INS e valores de IDA (BRASIL, 1988, 1999, 2005). Existe um consenso dessa legislação entre os países membros do MERCOSUL, no que se refere ao uso de corantes em alimentos. A Resolução GMC (Grupo Mercado Comum) nº 50/1997 trata dessa harmonização, bem como a Resolução GMC nº 52/1998, que se refere aos critérios para determinar funções dos aditivos e seus máximos para todas as categorias de alimentos.

Os corantes artificiais podem ser classificados de acordo com sua função química em quatro classes de corantes: azo, trifenilmetanos, indigóides e xantenos. A classe “azo”, o maior grupo de aditivos dessa categoria, representando 70% dos corantes produzidos no mundo, são classificados e conhecidos pela presença de uma dupla ligação entre nitrogênios no meio da molécula ($-N=N-$) (GARCIA-SEGURA *et al.*, 2013). Suspeita-se que a parte ativa da molécula causadora de tumores seja formada pela sua degradação. Desde o início do século XX tem sido demonstrado que moléculas originadas dos corantes azoicos apresentam ação cancerígena, principalmente pela formação do amino - azobenzene (LEHMANN, 1970). Os corantes azos compreendem o corante amaranto, amarelo crepúsculo, azorrubina, ponceau 4R, tartrazina, marrom HT, negro brilhante, amarelo de quinoleína e o vermelho 40. Todos os corantes desse grupo apresentam boa estabilidade à luz, calor e ácido. Os corantes amaranto, ponceau 4R, tartrazina e amarelo crepúsculo apresentam descoloração na presença de agentes redutores como o ácido ascórbico e o dióxido de enxofre (MENDONÇA, 2011).

A classe trifenilmetanos apresenta estrutura básica de três radicais arila, em geral grupos fenólicos, ligados a um átomo de carbono central e apresentam, ainda, grupos sulfônicos que lhes conferem alta solubilidade em água (PRADO; GODOY, 2003). Os corantes que pertencem a essa classe são: azul patente V, que possui excelente estabilidade à luz, calor e ácido, mas apresenta descoloração na presença de ácido ascórbico e dióxido de enxofre; verde rápido tem razoável estabilidade à luz, calor e ácido, mas possui baixa estabilidade oxidativa; e o azul brilhante apresenta as mesmas características do verde rápido (GODOY; PRADO, 2003).

A classe de corante indigoide possui estrutura molecular complexa, o que o torna mais estável quimicamente e mais resistente aos processos de biodegradação e de remoção mais comumente utilizados para tratamento de efluentes. Faz parte dessa classe o indigotina que apresenta baixa estabilidade à luz, calor e ácido, baixa estabilidade oxidativa e descolore na presença de dióxido de enxofre e ácido ascórbico (GODOY; PRADO, 2003).

A classe de corante xanteno possui a eritrosina que é insolúvel em pH abaixo de 5. É o único representante dessa classe no Brasil (GODOY; PRADO, 2003).

A seguir serão descritos os corantes artificiais permitidos no Brasil, sendo eles apresentados pelo nome usual, seguido de seu número INS.

2.1.1.1. Amaranto ou Bordeaux S (E123)

O amaranto é um corante de cor vermelho magenta que possui tonalidades que variam entre o vermelho escuro, o roxo e o marrom. Utilizado na indústria de alimentos por sua boa estabilidade ao calor, luz e acidez, apesar de ser degradado na presença de ácido ascórbico e dióxido de enxofre (DOWNHAM; COLLINS, 2000; MPOUTOUKAS *et al.*, 2010). Consiste em um monoazo sulfonado, com o nome 2-hidróxi-1-(4-sulfonato-1-naftilazo) naftaleno-3,6-dissulfonato trissódio (Figura 1). É usado em balas, produtos de pastelaria, licores (ROCÍO, 2013), sorvetes, misturas para bolo, sopas, cereais, molhos para saladas, gomas de mascar, chocolate e café (MPOUNTOUKAS *et al.*, 2010).

Sobre a toxicologia do amaranto, especialmente a respeito da genotoxicidade e carcinogenicidade da substância, estudos demonstraram, de forma geral, resultados divergentes (MPOUNTOUKAS *et al.*, 2010; SARIKAYA; SELVI; ERKOÇ, 2012; TSUDA *et al.*, 2001). Sarikaya, Selvi e Erkoç (2012) usaram diferentes concentrações do corante (12,5, 25 e 50 mg mL⁻¹ em meio de cultura padrão de *Drosophila melanogaster*) e foi verificado dano ao DNA, sendo que somente para a concentração mais baixa obteve-se dados inconclusivos para a genotoxicidade. Alguns trabalhos executaram a técnica do ensaio cometa para verificar a genotoxicidade do amaranto, os quais obtiveram resultados positivos (SASAKI *et al.*, 2002; SHIMADA *et al.*, 2010; TSUDA *et al.*, 2001). Shimada *et al.* (2010) verificaram que o amaranto é genotóxico para células do cólon de camundongos. Estudo similar foi realizado anteriormente por Sasaki *et al.* (2002), que puderam verificar dano ao DNA não somente do cólon, mas também do estômago e bexiga de camundongos. Hashem *et al.* (2010) também mostraram alterações nas células de defesa de ratos e concluíram que a resposta imunológica dos animais se alterou em presença do corante no organismo. Desde 1976 seu uso foi proibido na Áustria, EUA, Noruega e Rússia, devido à suspeita de carcinogenicidade e toxicidade para embriões (SARIKAYA; SELVI; ERKOÇ, 2012). De acordo com o JECFA (2006) sua IDA é de 0-0,5 mg/kg de peso corpóreo (BRASIL, 2016).

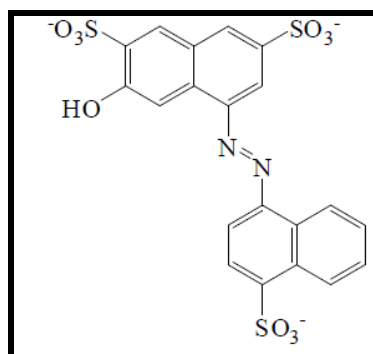


Figura 1. Estrutura química do corante amaranto.
Fonte: ISENMANN, 2014.

2.1.1.2. Amarelo crepúsculo (E110)

O amarelo crepúsculo é utilizado em alimentos para garantir cores que variam do laranja ao vermelho. Possui boa estabilidade quando exposto à luz e variações de temperatura e pH (DOWNHAM; COLLINS, 2000). Consiste em um monoazo sulfonado, de nome 2-hidróxi-4-sulfonatofenilazo) naftaleno-6-sulfonato (Figura 2). A presença dos dois grupos sulfonados garante ao corante uma boa solubilidade em água (ROVINA *et al.*, 2016). É utilizado na preparação de doces e balas, queijos, geleias, sopas industrializadas, marmeladas, sorvetes, refrigerantes e bebidas

energéticas, camarões industrializados, sobremesas congeladas e suplementos alimentares, o que o coloca como o terceiro corante mais usado no mundo (GOMEZ *et al.*, 2016; KOBYLEWSKI; JABOBSON, 2010).

Quanto à toxicologia, a genotoxicidade do amarelo crepúsculo tem sido discutida na literatura, uma vez que sua azorredução determina a formação de aminas aromáticas sulfonadas, que foram classificadas como de baixo potencial para causar dano ao DNA. Esse fato é considerado até mesmo por alguns órgãos reguladores do uso de aditivos alimentares, como a Autoridade Europeia em Segurança Alimentar (*European Food Safety Authority* - EFSA) (AMCHOVA; KOTOLOVA; RUDA-KUCEROVA, 2015; KÖNIG, 2015). Contudo, esse corante apresentou efeito citotóxico e perturbação nos processos de proliferação e expressão de moléculas de defesa em esplenócitos e diminuição no peso do timo e na contagem de linfócitos e monócitos de ratos. Apontou também o desenvolvimento de transtorno por déficit de atenção com hiperatividade (TDAH) em crianças, assim como citotoxicidade e perturbação da proliferação de linfócitos humanos (AMCHOVA; KOTOLOVA; RUDA-KUCEROVA, 2015; ARNOLD; LOFTHOUSE; HURT, 2012; DWIVEDI; KUMAR, 2015; HASHEM *et al.*, 2010; KOBYLEWSKI; JABOBSON, 2010; KUS; EROGLU, 2015; YADAV *et al.*, 2013;). Freitas (2012) e Polônio (2010) também demonstraram em seus estudos que o corante amarelo crepúsculo foi capaz de desencadear reações como angioedema, vasculite, púrpura e choque anafilático. De acordo com o JECFA (2011) sua IDA é de 0-4 mg/kg de peso corpóreo (BRASIL, 2016).

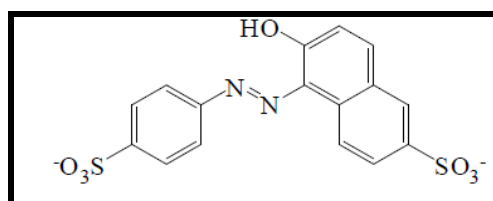


Figura 2. Estrutura química do corante amarelo crepúsculo.
Fonte: ISENMANN, 2014.

2.1.1.3. Azorrubina (E122)

O corante azorrubina confere coloração vermelho-amarronzada. Nome químico sal dissódio-4-hidróxi-3-[(4-sulfo-1-naftalenil) azo]-1-naftaleno sulfonato (Figura 3). Possui boa estabilidade à acidez, luz e calor (DOWNHAM; COLLINS, 2000). É utilizado em vários alimentos, como produtos de padaria, bebidas, doces, gelatinas, iogurtes, pudins instantâneos, entre outros (AMIN; HAMEID II; ELSTTAR, 2010; BASU; KUMAR, 2014). Tem papel fundamental na indústria para a manutenção da cor de bebidas como sucos de romã ou de uva, uma vez que as substâncias naturais que dão coloração a esses produtos, as antocianinas, podem ser degradadas no processamento (GHASEMPOUR *et al.*, 2017).

A toxicologia da azorrubina vem sendo estudada por ser um corante azo, e também por alguns efeitos adversos, como prejuízo no funcionamento renal e hepático, perda de peso e agravamento no desenvolvimento de animais (AMIN; HAMEID II; ELSTTAR, 2010) e ligação com consequente perda de função da albumina sérica (BASU; KUMAR, 2014; MASONE; CHANFORAN, 2015). Basu e Kumar (2015) também demonstraram a capacidade de ligação da azorrubina com moléculas de hemoglobina, e foi relatado que o corante modifica a estrutura da molécula da hemoglobina alterando a capacidade de transporte de substâncias, especialmente o oxigênio. Segundo Amchova, Kotolova e Ruda-Kucerova (2015) poucos estudos foram capazes de

detectar potencial genotóxico relevante para a azorrubina. De acordo com o JECFA (2006) sua IDA é de 0-4 mg/kg de peso corpóreo (BRASIL, 2016).

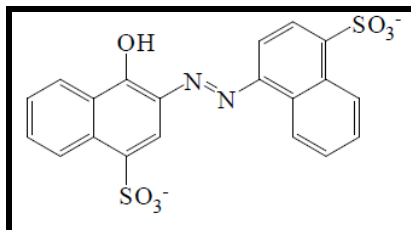


Figura 3. Estrutura química do corante azorrubina.
Fonte: ISENMANN, 2014.

2.1.1.4. Ponceau 4R (E124)

O corante ponceau 4R também é chamado de "vermelho cochonilha A", cujo nome químico é sal trissódio de (1-(4-sulfo-1-naftilazo)-2-naftol-6,8-disulfonato (Figura 4). Sua estrutura química corresponde a duas frações de naftaleno mono e bissulfonados, unidos por uma ligação azo. É instável à presença de ácido ascórbico e dióxido de enxofre, mas é considerado resistente à acidez, calor e pH. Além de corante alimentício, é utilizado também em cosméticos e medicamentos (DOWNHAM; COLLINS, 2000). Como corante é utilizado principalmente em bebidas, coberturas e misturas para bolo, devido ao seu baixo valor comercial, boa estabilidade e solubilidade (KONIG, 2015; ZHANG *et al.*, 2017). Utilizado para dar cor "morango" a balas e produtos de pastelaria, sorvetes, e também em substitutos de caviar e derivados de carne (CALVO, 2006).

Foi constatado genotoxicidade em células do cólon e alterações neurocomportamentais e de memória espacial em ratos. Estudos ainda apontaram alterações comportamentais no desenvolvimento de TDAH em crianças (ARNOLD; LOFTHOUSE; HURT, 2012; TANAKA, 2001; MCCANN *et al.*, 2007; TSUDA *et al.*, 2001). Ponceau 4R também ocasionou casos de alergia, que estiveram relacionados a pessoas com sensibilidade a esse tipo de reação imunológica (FEKETEA; TSABOURI, 2017). De acordo com o JECFA (2011) sua IDA é de 0-4 mg/kg de peso corpóreo (BRASIL, 2016).

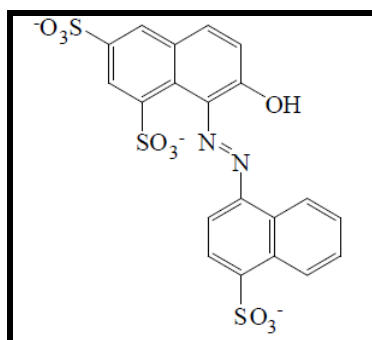


Figura 4. Estrutura química do corante ponceau 4R.
Fonte: ISENMANN, 2014.

2.1.1.5. Vermelho 40 (E129)

Esse corante é utilizado desde a década de 80, principalmente nos Estados Unidos, onde foi introduzido para substituir o corante amarantho (CALVO, 2006). O corante vermelho 40, também conhecido como vermelho allura, é um corante azo, possui uma coloração que tende ao vermelho escuro e ao marrom (ABDULLAH *et al.*, 2008). Nome químico sal dissódio de 6-hidróxi-5-[(2-metóxi-5-metil-4-sulfofenil) azo]-2-napftaleno sulfonato (Figura 5). A presença de dois grupos sulfonados o torna bastante solúvel em água, sendo pouco absorvido no trato gastrointestinal (TSUDA *et al.*, 2001). É resistente ao calor, luz e pH (PRADO; GODOY, 2003). É utilizado em alimentos e bebidas, como refrigerantes, gelatinas, produtos lácteos, pudins, condimentos, xaropes, doces, cereais e suplementos alimentícios (BASTAKI *et al.*, 2017; POURREZA; RASTEGARZADEH; LARKI, 2011; WU *et al.*, 2015).

A toxicologia do corante vermelho 40 é muito abordada na literatura, e vários testes *in vitro* foram realizados a fim de avaliar sua genotoxicidade, porém não foram observados efeitos negativos (BASTAKI *et al.*, 2017). Segundo Feketea e Tsabouri (2017), não foram relatados casos de reação alérgica em crianças. No entanto, um estudo com neutrófilos humanos constatou que o aditivo aumenta a produção de mediadores inflamatórios através dessas células, que pode estar relacionada a respostas alérgicas e doenças como asma e artrite reumatoide (LEO *et al.*, 2017). Tsuda *et al.* (2001) avaliaram o dano ao DNA causado pelo corante e constataram que o epitélio do cólon foi a parte mais afetada. Shimada *et al.* (2010) confirmaram este dano ao epitélio do cólon. Arnold, Lofthouse e Hurt (2012) também sugerem que o vermelho 40 pode ter efeitos sobre o cérebro de crianças mesmo sem cruzar a barreira hematoencefálica, contribuindo para o transtorno por déficit de atenção com hiperatividade e outras doenças. Ainda, foi demonstrado um efeito inibitório da enzima humana anidrase carbônica II, sendo que sua inibição causa diminuição do pH e dilatação vascular, o que pode resultar em doenças como a osteoporose e a acidose renal tubular (ESMAEILI *et al.*, 2016; KHODARAHMI; ASHRAFI-KOOSHK; KHALEDIAN, 2015). De acordo com o JECFA (2006) sua IDA é de 0-7 mg/kg peso corpóreo (BRASIL, 2016).

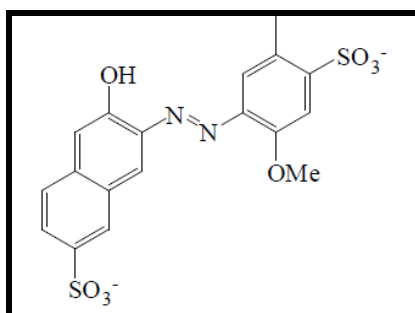


Figura 5. Estrutura química do corante vermelho 40.
Fonte: ISENMANN, 2014.

2.1.1.6. Tartrazina (E102)

A tartrazina é um corante azo, nome químico sal trissódio de 4,5-dihidro-5-oxo-1-(4-sulfofenil)-4-[4-sulfofenil-azo]-1H-pirazol-3-carboxilato (Figura 6). Possui boa solubilidade em água, é estável a variações de pH, luz e oxigênio (AL-SHABIB *et al.*, 2017; JIANG *et al.*, 2014). É o menos tóxico dentre os corantes sintéticos (SHIBAMOTO; BJELDANES, 2014). Dá aos alimentos e bebidas uma tonalidade amarela mais ou menos alaranjada, dependendo da quantidade adicionada. É utilizado

em suplementos alimentares e alimentos como sorvetes, bolos, balas e confeitos, salgadinhos de batata, refrigerantes, bebidas alcoólicas, chicletes, gelatina, entre outros (AL-SHABIB *et al.*, 2017; BASTAKI *et al.*, 2017).

Em relação à toxicologia, esse corante está relacionado com diversas reações de hipersensibilidade como urticária, asma, náusea, anafilaxia, vômitos, dermatite, dor de cabeça, eczema, angioedema, bronquite, rinite e broncoespasmos. Em doses elevadas induz à lesão no DNA em estômago, cólon e bexiga urinária possibilitando o surgimento de câncer em longo prazo (FREITAS, 2012; BRASIL, 2007). Além disso, pode desencadear hipercinesia, distúrbios de comportamento e eosinofilia (POLÔNIO, 2010). Em casos raros, a tartrazina pode inibir a agregação plaquetária interferindo na coagulação sanguínea (PRADO; GODOY, 2003). Também há relatos de reações alérgicas, hiperatividade em crianças, genotoxicidade, tumor de tireoide, TDAH e urticária (AL-SHABIB *et al.*, 2017), assim como alterações nos marcadores de função hepática (AMIN; HAMEID II; ELSTTAR, 2010). De acordo com o JECFA (2006) sua IDA é de 0-7,5 mg/ kg de peso corpóreo (BRASIL, 2016).

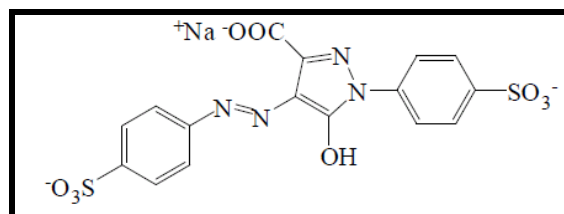


Figura 6. Estrutura química do corante tartrazina.
Fonte: ISENMANN, 2014.

2.1.1.7. Marrom HT (E155)

O corante marrom HT é usado para adicionar vários tons de marrom aos alimentos. Caracteriza-se por um composto diazo com dois grupos sulfônicos, tendo seu nome químico de 4,4'-(2,4-dihidróxi-5-hidroximetil-1,3-fenileno diazo) di-(naftaleno-1-sulfonato) (Figura 7). É estável à luz, calor e acidez (DOWNHAM; COLLINS, 2000; HONG *et al.*, 2014). É utilizado em bebidas não alcoólicas, vegetais em conserva, produtos de padaria como biscoitos e bolos, decorações e coberturas, queijos, iogurtes, geleias, patês de carne ou peixe, molhos, suplementos alimentícios, sopas, entre outros (HONG *et al.*, 2014; KHATUN *et al.*, 2017).

Em relação à toxicidade, König (2015) relatou que não foi observada a toxicidade do corante marrom HT em estudos com ratos na concentração de até 715 mg/kg de peso corporal. Porém, Bawazir (2012) demonstrou que o corante marrom HT pode ocasionar susceptibilidade do cérebro ao estresse oxidativo, assim como alterou significativamente os níveis dos marcadores bioquímicos da função dos órgãos, como a aspartato aminotransferase (AST) e a alanina aminotransferase (ALT). Em um experimento com ratas, foi avaliado a função ovariana e parâmetros hematológicos, e foi constatada uma redução significativa nos ciclos reprodutivos dos animais, assim como uma redução de enzimas antioxidantes (KHATUN *et al.*, 2017). De acordo com o JECFA (2006) sua IDA é de 0-1,5 mg/kg de peso corpóreo (BRASIL, 2016).

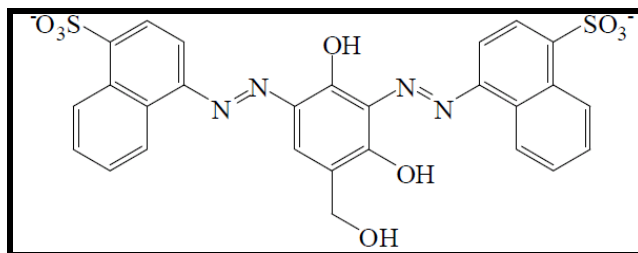


Figura 7. Estrutura química do corante marrom HT.
Fonte: ISENMANN, 2014.

2.1.1.8. Negro brilhante BN (E151)

O negro brilhante BN é um corante diazo, conferindo aos alimentos cores escuras, que podem ir do violeta ao azul marinho, dependendo da mistura com outros corantes (DOWNHAM; COLLINS, 2000; PASIAS; ASIMAKOPOULOS; THOMAIDIS, 2015). Possui nome químico 4-acetamido-5-hidróxi-6-[7-sulfonato-4-(4-sulfonatofenilazo)-1-naftilazo] naftaleno-1,7-disulfonato (Figura 8). Apresenta boa estabilidade à luz, entretanto, é vulnerável ao calor e compostos redutores ou oxidantes presentes nos alimentos (DOHNHAM; COLLINS, 2000; KÖNIG, 2015). É utilizado na fabricação de gelatinas, molhos marrons, misturas para bolos (MACIOSZEK; KONONOWICZ, 2004). Em relação à toxicologia, Macioszek e Kononowicz (2004), em um estudo com linfócitos humanos observaram que o corante negro brilhante BN foi capaz de causar danos ao DNA. Também parece afetar algumas pessoas alérgicas à aspirina e também asmáticos (CALVO, 2006). De acordo com o JECFA (2006) sua IDA é de 0-1 mg/kg de peso corpóreo (BRASIL, 2016).

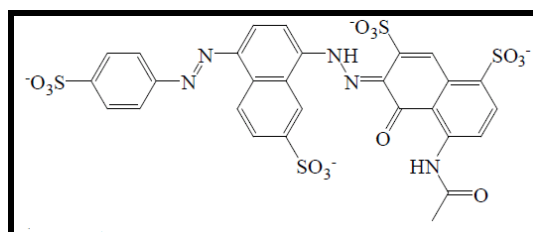


Figura 8. Estrutura química do corante negro brilhante BN.
Fonte: ISENMANN, 2014.

2.1.1.9. Eritrosina (E127)

O corante eritrosina é sintetizado a partir da tinta do alcatrão e seu nome químico consiste de um sal di-sódico 2,4,5,7-tetraiodo fluoresceína (Figura 9) (PRADO; GODOY, 2003). É o único representante no Brasil da classe de corantes xanteno, caracterizado por uma forte absorção de luz, apresenta a capacidade de iniciar reações fotoquímicas, possuindo elevada capacidade fotodinâmica (SPELLMEIER; STÜLP, 2009; YASSUNAKA *et al.*, 2015). Por isso, sua principal desvantagem do ponto de vista tecnológico é que é relativamente sensível à ação da luz (RÓCIO, 2013). É utilizado em sobremesas, compotas (principalmente de morango), derivados de carne, patês de atum ou salmão, bebidas, biscoitos, doces, produtos de padaria, chicletes e sorvetes, entre outros (RÓCIO, 2013; SPELLMEIER; STÜLP, 2009).

Quanto à toxicologia, estudos mostram que a eritrosina pode causar reações alérgicas nos olhos, irritação na pele, membrana mucosa e nas vias aéreas superiores, dores de

cabeças severas e náusea (DOWNHAM; COLLINS, 2000; MITTAL *et al.*, 2006; TANAKA, 2001; UYSAL; ARAL, 1998). Segundo Netto (2009), a eritrosina pode ser fototóxico, pois contém 557 mg de iodo por grama de produto, sendo que seu consumo excessivo pode causar aumento de hormônio tireoidiano no sangue em níveis capazes de ocasionar hipertireoidismo. Corroborando, estudos também relatam que a eritrosina em doses muito altas produz alterações na tireoide, o que pode, em alguns casos, até levar ao desenvolvimento de tumores (CALVO 2006; PRADO; GODOY, 2003; STEFANI *et al.*, 2009). Também há relatos na literatura de fotossensibilidade, eritrodermia, descamação, broncoespasmo e um possível efeito carcinogênico (STEFANI *et al.*, 2009), assim como alterações no comportamento humano (POLÔNIO; PERES, 2009). Devido às suas características tóxicas e carcinogênicas, são realizados processos para promover sua remoção de águas residuais (MITTAL *et al.*, 2006). De acordo com o JECFA (2006) sua IDA é de 0-0,1 mg/kg de peso corpóreo (BRASIL, 2016).

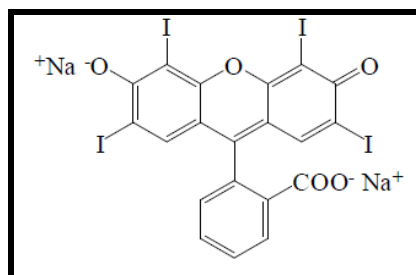


Figura 9. Estrutura química do corante eritrosina.
Fonte: ISENMANN, 2014.

2.1.1.10. Indigotina (E132)

O corante indigotina, também chamado de "indigo carmina", é o único representante da família de corantes conhecidos como "indigoides" que pode ser legalmente usado para colorir alimentos (CALVO, 2006). Quimicamente, consiste em um 3,3'-dioxo-[delta2, 2'-biindoline] -5,5'-dissulfonato (Figura 10). É um corante sintético derivado de um corante natural extraído de folhas das plantas *Indigofera tinctoria* L., *Indigofera suffruticosa* Mill ou *Indigofera arrecta* Hochst. ex A. Rich. Tem baixa estabilidade oxidativa ao calor, luz e ambiente ácido, e descolore na presença de dióxido de enxofre e ácido ascórbico (DOWNHAM; COLLINS, 2000). É utilizado na fabricação de bebidas, caramelos, confeitos e sorvetes (CALVO, 2006).

Quanto à sua toxicidade, há relatos na literatura que a indigotina pode causar náuseas, vômitos, hipertensão e ocasionalmente alergia, com prurido e problemas respiratórios (CUNHA, 1998; NETTO, 2009; PRADO, 2003), assim como hiperatividade e déficit de atenção em crianças (MCCANN *et al.*, 2007). De acordo com o JECFA (2010) sua IDA é de 0-5 mg/kg de peso corpóreo (BRASIL, 2016).

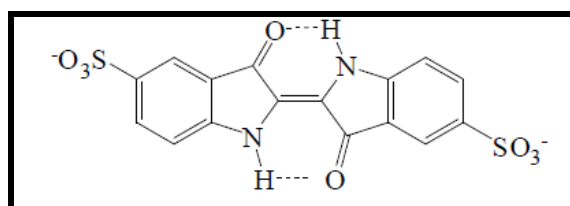


Figura 10. Estrutura química do corante indigotina.
Fonte: ISENMANN, 2014.

2.1.1.11. Azul brilhante (E133)

O corante azul brilhante é sintetizado a partir da tinta do alcatrão de carvão e faz parte do grupo dos corantes trifenilmetanos. Consiste de um sal tri-sódico de 4',4"-di (N-etil-3- sulfonatobenzil amino)-trifenil metil-2-sulfonato (Figura 11) (PRADO; GODOY, 2003). Possui moderada estabilidade à luz, calor e ácido e possui baixa estabilidade oxidativa. É utilizado em laticínios, balas, cereais, queijos, recheios, gelatinas, licores e refrescos (MCCANN *et al.*, 2007).

Quanto à toxicologia, há relato de que o azul brilhante pode causar hiperatividade em crianças, eczema e asma, e também deve ser evitado por pessoas sensíveis às purinas (MCCANN *et al.*, 2007). Estudos também demonstraram que o corante pode causar hipersensibilidade em indivíduos suscetíveis; citotoxicidade e genotoxicidade observadas em culturas de células humanas *in vitro* e absorção pela mucosa oral, atingindo a corrente sanguínea (EFSA, 2010; KUS; EROGLU, 2015; LUCOVÁ *et al.*, 2013). De acordo com o JECFA (2006) sua IDA é de 0-12,5 mg/kg de peso corpóreo (BRASIL, 2016).

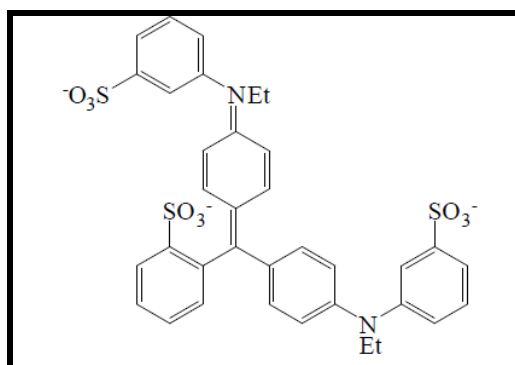


Figura 11. Estrutura química do corante azul brilhante.
Fonte: ISENMANN, 2014.

2.1.1.12. Azul patente V (E131)

O corante azul patente V também é conhecido pelo nome de "azul de sulfano". É um corante usado para obter tons de verde nos alimentos, quando combinado com corantes amarelos como a tartrazina e o amarelo crepúsculo (CALVO, 2006). Seu nome químico consiste de um sal de cálcio di-4-[dietilamino ciclohexa-2,5-dienilideno-(-4-dietilaminofenil) metil]-6- hidroxibenzeno -1,3-di-sulfonato (Figura 12) (PRADO; GODOY, 2003). Tem excelente estabilidade à luz, ácido e calor, mas apresenta descoloração na presença de ácido ascórbico e dióxido de enxofre. É utilizado em conservas de vegetais (cerejas verdes e ameixa, por exemplo), em pastelaria, doces e bebidas (CALVO, 2006).

Quanto à toxicologia, foi relatado haver absorção pela mucosa oral, atingindo a corrente sanguínea; efeito de redução nos valores de hemoglobina, hematócrito e contagens de glóbulos vermelhos após exposição crônica ao corante (LUCOVÁ *et al.*, 2013; EFSA, 2013). Também foi indicado que pode causar alergias, urticária e câncer (CALVO, 2006). De acordo com o JECFA (2008) sua IDA é "não alocada" (BRASIL, 2016), ou seja, quando os dados toxicológicos disponíveis não são suficientes para se estabelecer a segurança de uso do mesmo (BRASIL, 2009).

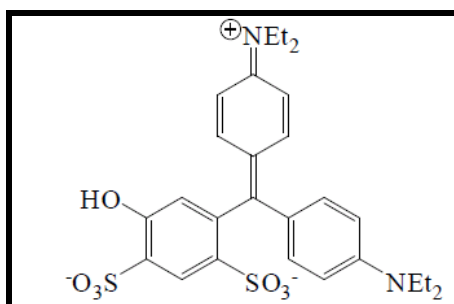


Figura 12. Estrutura química do corante azul patente V.
Fonte: ISENMANN, 2014.

2.1.1.13. Amarelo de quinoleína (E104)

O corante amarelo de quinoleína é também conhecido como "amarelo de quinolina" ou "amarelo ácido 3". Esse corante é uma mistura de vários produtos químicos muito semelhantes entre si, diferindo no número e posição dos grupos sulfônicos no primeiro dos anéis aromáticos (CALVO, 2006). Quimicamente consiste em um sal dissódico do ácido 2(2-quinolil)-indanodiona-1,3-dis-sulfônico (Figura 13) (PRADO; GODOY, 2003). É usado em bebidas refrescantes e alcoólicas e na preparação de produtos de pastelaria, vegetais enlatados, derivados de carne ou peixe, entre outros (CALVO, 2006).

Quanto à toxicologia, foi relatado dermatite de contato, broncoespasmo e reação não imunológica (anafilactóide) (STEFANI *et al.*, 2009). De acordo com o JECFA (2011) sua IDA é de 0-5 mg/kg de peso corpóreo (BRASIL, 2016).

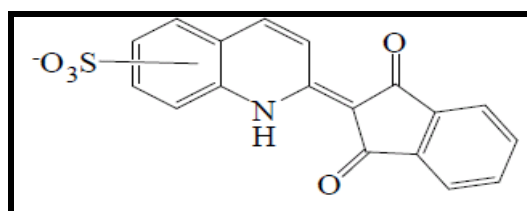


Figura 13. Estrutura química do corante amarelo de quinoleína.
Fonte: ISENMANN, 2014.

2.1.1.14. Verde rápido (E143)

O corante verde rápido faz parte do grupo trifenilmetanos, e seu nome químico consiste de um sal tri-sódico 4-[4-(N-etil-p- sulfobenzil amino) -fenil]-(4-hidroxi-2-sulfofenil-metileno)- 1-(N-etil-N-p- sulfobenzil)- 2,5-ciclohexa dienimina (Figura 14) (PRADO; GODOY, 2003). Apresenta razoável estabilidade à luz, calor e ácido, mas possui baixa estabilidade oxidativa (DOWNHAM; COLLINS, 2000). É utilizado em bebidas à base de chá verde, balas e chicletes, mas há muitos alimentos de cor violeta (gelatinas, sucos, balas e gomas) que são feitos a partir da combinação desse corante com outros do grupo azo (BARROS; BARROS, 2010).

Quanto à toxicologia, foi capaz de induzir a inibição da atividade sináptica de interneurônios do hipocampo de ratos (VAN HOOFT, 2002), assim como apresentou efeito carcinogênico nas experiências realizadas por Lederer (1990). De acordo com o JECFA (2008) sua IDA é de 0-25 mg/kg de peso corpóreo (BRASIL, 2016).

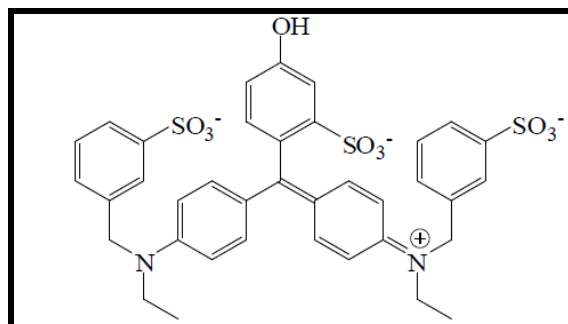


Figura 14. Estrutura química do corante verde rápido.
Fonte: ISENMANN, 2014.

3. Considerações finais

O uso de aditivos com função corante em alimentos e bebidas é importante do ponto de vista tecnológico, pois estão relacionados à qualidade, caracterização e tipificação do produto, influenciando diretamente à aceitação sensorial.

Após avaliar os resultados de pesquisas de diversos autores, pode-se concluir que alguns corantes, particularmente os artificiais, podem trazer efeitos adversos a longo prazo, com o desenvolvimento de enfermidades e ou outras complicações fisiológicas. Tais efeitos estão diretamente associados à quantidade e à frequência do consumo de alimentos contendo essas substâncias, cuja IDA (Ingestão Diária Aceitável) nem sempre está estabelecida.

A indústria de alimentos tem o desafio de atender à demanda de mercado quanto à cor, respeitando os valores estabelecidos pela legislação para estes aditivos, e contribuir para minimizar os efeitos adversos à saúde. Nesse sentido, vem buscando alternativas para que os corantes artificiais sejam substituídos pelos naturais, que não proporcionam riscos à saúde quando utilizados nas doses recomendadas, atendendo às crescentes exigências dos consumidores por produtos com apelo de saudabilidade. Os consumidores devem buscar informações fidedignas sobre os produtos que consomem, buscando não ingerir o mesmo aditivo através de vários produtos na dieta diária, evitando assim ultrapassar a IDA. Rótulos com informações claras e objetivas acerca da constituição do produto, incluindo os corantes, são fundamentais no entendimento e escolhas pelo consumidor.

4. Referências

ABDULLAH, S. U. *et al.* Binding ability of Allura Red with food proteins and its impact on protein digestibility. **Food Chemistry**, v. 110, n. 3, p. 605-610, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.049>.

AL-SHABIB, N. A. *et al.* Synthetic food additive dye "Tartrazine" triggers amorphous aggregation in cationic myoglobin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 98, p. 277-286, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.097>.

AMCHOVA, P.; KOTOLOVA, H.; RUDA-KUCEROVA, J. Health safety issues of synthetic food colorants. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 73, n. 3, p. 914-922, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.09.026>.

AMIN, K. A.; HAMEID II, H. A.; ELSTTAR, A. H. A. Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 10, p. 2994– 2999, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.07.039>.

ARNOLD, L.; LOFTHOUSE, N.; HURT, E. Artificial food colors and attention-deficit/hyperactivity symptoms: conclusions to dye for. **Neurotherapeutics**, v. 9, n. 3, p. 599-609, 2012. <https://doi.org/10.1007/s13311-012-0133-x>.

ATASEVEN, N. *et al.* Genotoxicity of monosodium glutamate. **Food and Chemical Toxicology**, v. 91, p. 8–18, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.02.021>.

AZAD, M. B. *et al.* Nonnutritive sweeteners and cardiometabolic health: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials and prospective cohort studies. **Canadian Medical Association Journal**, v. 189, n. 8, p. E929–E939, 2017. <https://doi.org/10.1503/cmaj.161390>.

BAFANA, A.; DEVI, S.; CHAKRABARTI, T. Azo dyes: past, present and the future. **Environmental Reviews**, v. 19, n. NA, p. 350-370, 2011. <https://doi.org/10.1139/a11-018>.

BARROS, A. A.; BARROS, E. B. P. **A Química dos Alimentos – Produtos fermentados e corantes**. Coleção Química no Cotidiano, volume 4. Sociedade Brasileira de Química. São Paulo, 2010. p.85.

BASTAKI, M. *et al.* Lack of genotoxicity in vivo for food color additive Allura Red AC. **Food and Chemical Toxicology**, v. 105, p. 308-314, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.04.037>.

BASU, A.; KUMAR, G. S. Study on the interaction of the toxic food additive carmoisine with serum albumins: A microcalorimetric investigation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 273, p. 200-206, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.03.049>.

BASU, A.; KUMAR, G. S. Binding of carmoisine, a food colorant, with hemoglobin: Spectroscopic and calorimetric studies. **Food Research International**, v. 72, p. 54–61, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.03.015>.

BAWAZIR, A. E. Effect of chocolate brown HT with olive oil on some neurotransmitters in different brain regions, physiological and histological structure of liver and kidney of male albino rats. **Journal of Evolutionary Biology Research**, v. 4. n. 1, p. 13-23, 2012. <https://doi.org/10.5897/JEBR12.001>.

BENTO, W. D. S.; LIMA, B. P.; PALM, A. P. S. Simultaneous determination of synthetic colorants in yogurt by HPLC. **Food Chemistry**, v. 183, p. 154-160, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.050>.

BETTINI, S. *et al.* Food-grade TiO₂ impairs intestinal and systemic immune homeostasis, initiates preneoplastic lesions and promotes aberrant crypt development in the rat colon. **Scientific Reports**, v. 7, p. 40373, 2017. <https://doi.org/10.1038/srep40373>.

BRASIL. **Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965**. Normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos. Brasília: Presidência da República, 1965. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/vigilancia->

agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/decreto-no-55-871-de-26-de-marco-de-1965.doc/view. Acesso em: 20 maio de 2020.

_____. **Resolução - CNNPA nº 44 de 1977a.** Considera corante a substância ou a mistura de substâncias que possuem a propriedade de conferir ou intensificar a coloração de alimento (e bebida). Brasília: Presidência da República, 1977. Disponível em:

http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/RESOLUCAO_CNNPA_44_1977.pdf/b8d43a0d-5c1b-4be1-ba69-67f69cf55446. Acesso em: 26 junho 2020.

_____. **Resolução CNNPA nº 17, de 9 de maio de 1977b.** Critérios para autorização de uso de coadjuvantes da tecnologia de fabricação e demais aditivos intencionais de alimentos, fixando os respectivos limites de adição e aprovar outras medidas para avaliação e emprego dos mesmos aditivos. Brasília: Presidência da República, 1977. Disponível em:

http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/Resolu%25C3%25A7%25C3%25A3o%2BCNNPA%2B17_1977.pdf/1cc01edb-b498-44e1-8f55-1a5a1f1820c3. Acesso em: 20 maio de 2020.

_____. **Resolução nº 37 de 1977c.** Considera laca o sal preparado a partir do corante incluído na Tabela I, anexa ao Decreto nº 55871/65, em combinação com o radical básico de alumínio ou cálcio. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/RESOLUCAO_37_77.pdf/81b4aefc-3a97-47c6-9622-33b48a6a8e32. Acesso em: 25 maio 2020.

_____. **Resolução - CNNPA nº 11 de 1978.** Altera a Resolução - CNNPA nº 44, de 1977. Brasília: Presidência da República, 1988. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/Resolucao_CNNPA%2B11_1978.pdf/e846657e-d8cf-4f00-a2d6-ec0aa1a03a20. Acesso em: 28 maio 2020.

_____. **Resolução CNS/MS nº 04, de 24 de novembro de 1988.** Aditivos Intencionais. Brasília: Presidência da República, 1988. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/Resolucao_04_1988.pdf/7311a4d9-d5db-44d6-adbd-c7e6891d079d. Acesso em: 25 maio 2020.

_____. **Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997.** Regulamento Técnico de Aditivos Alimentares. Brasília: Presidência da República, 1997. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/1997/prt0540_27_10_1997.html. Acesso em: 20 maio de 2020.

_____. **Resolução nº 387, de 05 de agosto de 1999.** Regulamento técnico que aprova o uso de Aditivos Alimentares, estabelecendo suas Funções e seus Limites Máximos para a Categoria de Alimentos 5: Balas, Confeitos, Bombons, Chocolates e Similares. Brasília: Presidência da República. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388729/Microsoft%2BWord%2B-%2BResolu%25C3%25A7%25C3%25A3o%2Bn%25C2%25BA%2B387%2Bde%2B05%2Bde%2Bagosto%2Bde%2B1999.pdf/1240800a-0d4b-4cc9-8d9c-5211e9c3fb93>. Acesso em: 04 junho 2020.

_____. **Resolução - RDC nº 259, de 20 de setembro de 2002.** Regulamento técnico para rotulagem de alimentos embalados. Brasília: Presidência da República, 2002. Disponível em: https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/912/o/resolucao_rdc_n_259_2002_rotulagem_em_geral.pdf. Acesso em: 24 maio de 2020.

_____. **Resolução RDC nº 25, de 15 de fevereiro de 2005.** Regulamento técnico que aprova o uso dos Aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e limites máximos para a categoria de alimentos: produtos protéicos - subcategoria: bebidas não alcoólicas a base de soja. Brasília: Presidência da República, 2005. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388729/Microsoft%2BWord%2B-%2BRDC%2Bn%25C2%25BA%2B25%2Bde%2B15%2Bde%2Bfevereiro%2Bde%2B2005.pdf/f98bf7c0-e6cb-4e28-a0a5-299ebacb8e4e>. Acesso em: 04 junho 2020.

_____. **Informe Técnico nº 30, de 24 de julho de 2007.** Considerações sobre o corante amarelo tartrazina. Brasília: Presidência da República. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388729/Informe+T%C3%A9cnico+n%C2%BA+30%2C+de+24+de+julho+de+2007/d47a1fea-fd03-4e94-8dff-fd87d3b1296a>. Acesso em: 30 junho 2020.

_____. **Guia de procedimentos para pedidos de inclusão e extensão de uso de Aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia de fabricação na Legislação brasileira. 2009.** Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Presidência da República. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/417403/guia_pedidos.pdf/1802c8e3-6cba-4a16-a28f-3bf6b591b1f5. Acesso em: 30 maio 2020.

_____. **RDC nº 45, de 03 de novembro de 2010.** Dispõe sobre aditivos alimentares autorizados para uso segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF). Brasília: Presidência da República. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_45_2010_COMP.pdf/19fb76e1-e1f8-48dd-a917-223c758af430. Acesso em: 30 junho 2020.

_____. **Ingestão Diária Aceitável - Corantes Alimentícios, 2016.** Brasília: Presidência da República, 2016. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/219201/219401/Comp%25C3%25AAndio%2B-%2BJaneiro%2B2016_.pdf/eff5c6d9-b910-4915-bfd8-bbeeda6dffc2. Acesso em: 28 maio 2020.

CALVO, M. Colorantes Artificiales. **Bioquímica de los alimentos.** 2006. Disponível em: milksci.unizar.es/bioquimica/temas/aditivos/colorartif.html. Acesso em: 20 junho 2020.

CHAKRABORTY, S. P. Patho-physiological and toxicological aspects of monosodium glutamate. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 29, n. 6, p. 389-396, 2019. <https://doi.org/10.1080/15376516.2018.1528649>.

CHEMIN C.; MILITO F. Transtornos alimentares em adolescentes. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 1, n. 2, p. 84-8, 2007.

CHUNG, K. T. Azo dyes and human health: a review. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 34, n. 4, p. 233-261, 2016. <https://doi.org/10.1080/10590501.2016.1236602>.

CLYDESDALE, F. M. Color as a factor in food choice, **Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 1, p. 83-101, 1993. <https://doi.org/10.1080/10408399309527614>.

CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P. C.; SANDI, D. Corantes Alimentícios. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 203-220, 2002. <http://dx.doi.org/10.5380/cep.v20i2.1248>.

COSENTINO, H. M. **Efeitos da radiação ionizante em corantes naturais de uso alimentício**. Orientadora: Nélida Lúcia Del Mastro. 2005. 149f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações). Instituto De Pesquisas Energéticas E Nucleares - IPEN/CNEN/SP, Autarquia Associada À Universidade De São Paulo, São Paulo, 2005.

CUNHA, M. R. **Identificação e Qualidade de Corantes Sintéticos em Vários tipos de Balas Importadas**. 1998. Disponível em: <http://www.funed.mg.gov.br>. Acesso em: 24 julho 2020.

CUNHA, F. G. **Estudo da Extração Mecânica de Bixina das Sementes de Urucum em Leito de Jorro**. Orientador: Marcos Antonio de Souza Barroso. 2008. 92f. Dissertação (Mestre em Engenharia Química), Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008.

DOWNHAM, A.; COLLINS, P. Colouring our food in the last and next millennium. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 35, n. 1, p. 5-22, 2000. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2000.00373.x>.

DWIVEDI, K.; KUMAR, G. Genetic damage induced by a food coloring dye (sunset yellow) on meristematic cells of *Brassica campestris* L. **Journal of environmental and public health**, v. 2015, n. 319727, p.1-5, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/319727>.

EFSA. European Food Safety Authority. Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS); Scientific Opinion on the re-evaluation of Litholrubine BK (E 180) as a food additive. **European Food Safety Authority Journal**, v. 8, n. 5, p. 1586-1612, 2010.

_____. Scientific Opinion on the re-evaluation of Patent Blue V (E 131) as a food additive. **European Food Safety Authority Journal**, v.11, n. 3, p. 35, 2013.

ESMAEILI, S. *et al.* Degradation products of the artificial azo dye, Allura red, inhibit esterase activity of carbonic anhydrase II: A basic in vitro study on the food safety of the colorant in terms of enzyme inhibition. **Food Chemistry**, v. 213, p. 494-504, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.078>.

ETEMADI, A. *et al.* Mortality from different causes associated with meat, heme iron, nitrates, and nitrites in the NIH-AARP Diet and Health Study: population based cohort study. **British Medical Journal**, v. 357, n. j1957, p. 1-30, 2017. <https://doi.org/10.1136/bmj.j1957>.

FEKETEA, G.; TSABOURI, S. Common food colorants and allergic reactions in children: Myth or reality? **Food Chemistry**, v. 230, p. 578-588, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.043>.

FREITAS, A. S. Tartrazina: uma revisão das propriedades e análises de quantificação. **Acta Tecnológica**, v. 7, n. 2, p. 65-72, 2012.

GARCIA-SEGURA, S. *et al.* Solar photoelectrocatalytic degradation of Acid Orange 7 azo dye using a highly stable TiO₂ photoanode synthesized by atmospheric plasma spray. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 132-133, n.p. 142-150, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2012.11.037>.

GHASEMPOUR, Z. *et al.* Synthesis of a molecularly imprinted polymer for the selective recognition of carmoisine (Azorubin E122) from pomegranate juice. **Journal of**

Separation Science, v. 40, n. 4, p. 962-970, 2017. <https://doi.org/10.1002/jssc.201600855>.

GOMEZ, M. *et al.* Determination of Sudan I in drinks containing Sunset yellow by adsorptive stripping voltammetry. **Food chemistry**, v. 212, p. 807-813, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.183>.

GUIMARÃES, N. M. C. P. **Perturbação de Hiperatividade e Défice de Atenção – para além da genética**. Orientador: José Manuel de Carvalho Tojal Monteiro. 2010. 31f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina) Universidade do Porto, Porto, 2010.

HASHEM, M. M. *et al.* Immunological studies on Amaranth, Sunset Yellow and Curcumin as food colouring agents in albino rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 6, p. 1581-1586, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.03.028>.

HONG, M. N. *et al.* Improved analytical method of synthetic food colour additive, Brown HT by high-performance liquid chromatography. **Agriculture & Food**, v. 2, p. 68-75, 2014.

HONORATO, T. C. *et al.* Aditivos alimentares: aplicações e toxicologia. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 5, p. 01-11, 2013.

ISENMANN, A. F. **Corantes**. Timóteo, MG. 2^a ed. 2014, 440 p.

JIANG, S. *et al.* A novel molecularly imprinted sensor for direct tartrazine detection. **Analytical Letters**, v. 47, n. 2, p. 323-330, 2014. <https://doi.org/10.1080/00032719.2013.834442>.

JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES (JECFA) – Compendium of food additive specifications. **Food and Agriculture Organization of The United Nations**. Rome, 2011. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a0691e/a0691e00.htm>. Acesso em: 25 maio 2020.

KHATUN, A. *et al.* Chocolate brown HT impairs the function of the ovary by depressing the hypothalamic-hypophyseal-ovarian servomechanism in albino rat. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 8, n. 3, p. 344-350, 2017. <https://doi.org/10.22376/ijpbs.2017.8.3.b344-350>.

KHODARAHMI, R.; ASHRAFI-KOOSHK, M. R.; KHALEDIAN, K. Allura Red, the artificial azo dye, inhibits esterase activity of carbonic anhydrase II: a preliminary study on the food safety in term of enzyme inhibition. **Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 1, p. 43-52, 2015.

KOBYLEWSKI, S.; JACOBSON, M. F. Food dyes: A rainbow of risks. **Center for Science in the Public Interest**, Washington. p. 68. 2010. Disponível em: <https://cspinet.org/sites/default/files/attachment/food-dyes-rainbow-of-risks.pdf>. Acesso em: 24 junho 2020.

KONIG, J. Food colour additives of synthetic origin. In: SCOTTER, Michael J. (Ed.). **Colour Additives for Foods and Beverages**. Cambridge: Woodhead Publishing, Cap 2, 2015. p. 35-60.

KRAMER, N. I. *et al.* Characterizing the coverage of critical effects relevant in the safety evaluation of food additives by AOPs. **Archives of Toxicology**, v. 93, p. 2115–2125, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00204-019-02501-x>.

KUS, E.; EROGLU, H. E. Genotoxic and cytotoxic effects of sunset yellow and brilliant blue, colorant food additives, on human blood lymphocytes. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 28, n. 319727, p. 227-230, 2015.

LEDERER, J. **Alimentação e câncer**. ed: Manole Dois, São Paulo. 1990. 279p.

LEHMANN, G. *et al.* Rapid method for detection and identification of synthetic water-soluble coloring matter in food and drugs. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**, v. 53, n. 6, p. 1182-1189, 1970. <https://doi.org/10.1093/jaoac/53.6.1182>.

LEO, L. *et al.* Occurrence of Azo Food Dyes and their Effects on Cellular Inflammatory Responses. **Nutrition**, v. 46, p. 36-40, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2017.08.010>.

LI, X. Q. *et al.* Identification and determination of 34 water-soluble synthetic dyes in foodstuff by high performance liquid chromatography–diode array detection–ion trap time-of-flight tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 182, p. 316-326, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.019>.

LUCOVÁ, M. *et al.* Absorption of triphenylmethane dyes brilliant blue and patent blue through intact skin, shaven skin and lingual mucosa from daily life products. **Food and Chemical Toxicology**, v. 52, p.19-27, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.10.027>.

MACIOSZEK, V. K.; KONONOWICZ, A. K. The evaluation of the genotoxicity of two commonly used food colors: Quinoline Yellow (E 104) and Brilliant Black BN (E 151). **Cellular and Molecular Biology Letters**, v. 9, n. 1, p. 107-122, 2004.

MARMITT, S.; PIROTTA, L.V.; STÜLP, S. Aplicação de fotólise direta e UV/H₂O₂ a efluente sintético contendo diferentes corantes alimentícios. **Revista Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 384-8, 2010.

MARTÍNEZ SUÁREZ, J. F. **Comportamiento electroquímico de colorantes antraquinónicos, azul de metileno, y compuestos afines en solución de solventes no-acuosos**. Orientador: María Virginia Mirífico. 2017. 324f. Tese (Doutorado en Ciencias Exactas, Área Química), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, 2017.

MARTINS, M. S. Uso de corantes artificiais em alimentos: Legislação brasileira. **Aditivos & Ingredientes**. 2014. Disponível em: http://insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/819.pdf. Acesso em: 25 maio 2020.

MASONE, D.; CHANFORAN, C. Study on the interaction of artificial and natural food colorants with human serum albumin: A computational point of view. **Computational biology and chemistry**, v. 56, p. 152-158, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2015.04.006>.

MENDONÇA, J. N. **Identificação e isolamento de corantes naturais produzidos por actinobactérias**. Orientador: Luiz Alberto Beraldo de Moraes. 2011. 121f.

Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

MERCOSUL/GMC/RES. N° 52/98. **Reglamento técnico “critérios para determinar funções de aditivos, aditivos e seus limites máximos para todas as categorias de alimentos”**. 1998. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/PDF/GMC_RES_1998-052.pdf. Acesso em: 30 junho 2020.

MERCOSUR/GMC/RES N° 50/97. **Reglamento tecnico asignacion de aditivos y su concentracion maxima para la categoria de alimentos 7: productos de panificacion y galleteria**. 1997. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/PDF/GMC_RES_1997-050.pdf. Acesso em: 30 junho 2020.

MCCANN, D. *et al.* Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. **Lancet**, v. 370, n. 9598, p. 1560-1567, 2007. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61306-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61306-3).

MITTAL, A. *et al.* Process development for the removal and recovery of hazardous dye erythrosine from wastewater by waste materials – Bottom Ash and De-Oiled Soya as adsorbents. **Journal of Hazardous Materials**, v. 138, n. 1, p. 95-105, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.05.038>.

MOUBARAC, J. C. *et al.* Consumption of ultra-processed foods predicts diet quality in Canada. **Appetite**, v. 108, p. 512–520, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2016.11.006>.

MOUTINHO, I. L. S; BERTGES, L. C; ASSIS, R. V. C. Prolonged use of Food Dye Tartrazine and its Effects on the Gastric Mucosa of Wistar Rats. **Brazilian Journal of Biology**, v. 67, n. 1, p. 141-145, 2007. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842007000100019>.

MPOUNTOUKAS, P. *et al.* Cytogenetic evaluation and DNA interaction studies of the food colorants amaranth, erythrosine and tartrazine. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 10, p. 2934-2944, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.07.030>.

NETTO, R. C. M. Dossiê corantes. **Food Ingredients Brasil**, n. 9, 2009. Disponível em: https://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201606/2016060213572001465326315.pdf. Acesso em: 27 julho 2020.

PARMAR, R. S.; SINGH, C. A comprehensive study of eco-friendly natural pigment and its applications. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 13, p. 22-26, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.11.002>.

PASIAS, I. N.; ASIMAKOPOULOS, A. G.; THOMAIDIS, N. S. Food colours for bakery products, snack foods, dry soup mixes, and seasonings. In: SCOTTER, Michael J. (Ed.). **Colour Additives for Foods and Beverages**. Cambridge: Woodhead Publishing, Cap. 8. 2015, p. 211-226. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-011-8.00008-8>.

POLÔNIO, M. L.T; PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Caderno de Saúde Pública**, v. 25, n. 8, p. 1653-1666, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2009000800002>.

POLÔNIO, M. L. T. **Percepção de mães quanto aos riscos à saúde de seus filhos em relação ao consumo de aditivos alimentares: o caso dos pré-escolares do Município de Mesquita**. Orientador: Frederico Peres. 2010. 129f. Tese (Doutorado em Ciências na área de Saúde Pública e Meio Ambiente). Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2010.

POURREZA, N.; RASTEGARZADEH, S.; LARKI, A. Determination of Allura red in food samples after cloud point extraction using mixed micelles. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1465-1469, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.158>.

PRADO, M. A. **Desenvolvimento e comparação de técnicas analíticas, cromatografia líquido de alta eficiência e eletroforese capilar, na determinação de corantes artificiais**. Orientador: Helena Teixeira Godoy. 2003. 130f. Tese (Doutorado em ciências de alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2003.

PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Corantes artificiais em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 14, n. 2, p. 237-250, 2003.

_____. Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 268-273, 2007.

QUIST, A. J. L. *et al.* Ingested nitrate and nitrite, disinfection by-products, and pancreatic cancer risk in postmenopausal women. **International Journal of Cancer**, v. 142, n. 2, p. 251–261, 2018. <https://doi.org/10.1002/ijc.31055>.

ROCÍO, J. S. La Química del Color en los Alimentos. **Revista Química Viva**, v. 12, n. 3, p. 234-246, diciem. 2013.

ROMIERO, S., DELGADO, M. Aditivos alimentares: conceitos básicos, legislação e controvérsias. **Revista Nutricias**, n. 18, p. 22-26, 2013.

ROVINA, K. *et al.* Methods for the analysis of Sunset Yellow FCF (E110) in food and beverage products-a review. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 85, p. 47-56, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.05.009>.

SARIKAYA, R.; SELVI, M.; ERKOÇ, F. Evaluation of potential genotoxicity of five food dyes using the somatic mutation and recombination test. **Chemosphere**, v. 88, n. 8, p. 974-979, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.03.032>.

SASAKI, Y. F. *et al.* The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 519, n. 1-2, p.103-119, 2002. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(02\)00128-6](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(02)00128-6).

SHIBAMOTO, T.; BJELDANES, L. F. **Introdução à toxicologia de alimentos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. 306 p.

SHIMADA, C. *et al.* Differential colon DNA damage induced by azo food additives between rats and mice. **The journal of toxicological sciences**, v. 35, n. 4, p. 547-554, 2010. <https://doi.org/10.2131/jts.35.547>.

SMITH, T. J. S. *et al.* Caramel Color in Soft Drinks and Exposure to 4-Methylimidazole: A Quantitative Risk Assessment. **PLoS One**, v. 10, n. 2, p. e0118138, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118138>.

SOFFRITTI, M. *et al.* Sucralose administered in feed, beginning prenatally through lifespan, induces hematopoietic neoplasias in male swiss mice. **International Journal of Occupational and Environmental Health**, v. 22, n. 1, p. 7-17, 2016. <https://doi.org/10.1080/10773525.2015.1106075>.

SPELLMEIER, J. G.; STÜLP, S. Avaliação da degradação e toxicidade dos corantes alimentícios eritrosina e carmim de cochonilha através de processo fotoquímico. **Acta Ambiental Catarinens**, v.6, n.1/2, p. 65-83, 2009. <https://doi.org/10.24021/raac.v6i1/2.431>.

STEFANI, G. P. *et al.* Presença de corantes e lactose em medicamentos: avaliação de 181 produtos. **Revista Brasileira de alergia e imunopatologia**, v. 32, n. 1, p. 18-26, 2009.

SUN, B.; WANG, J. Food Additives. In: **Food Safety in China: Science, Technology, Management and Regulation**. China, 2017. p.186-200.

TANAKA, T. Reproductive and neurobehavioural toxicity study of erythrosine administered to mice in the diet. **Food and Chemical Toxicology**, v. 39, n. 5, p. 447-454, 2001. [https://doi.org/10.1016/s0278-6915\(00\)00163-0](https://doi.org/10.1016/s0278-6915(00)00163-0).

TOMASKA, L. D.; BROOKE-TAYLOR, S. Food Additives. In: MOTARJEMI, Y.; MOY, G.; TODD, E. (ed.). **Encyclopedia of Food Safety**, 1 ed. v. 2. Cambridge: Academic Press, 2014. p. 449-454.

TSUDA, S. *et al.* DNA damage induced by red food dyes orally administered to pregnant and male mice. **Toxicological Sciences**, v. 61, n. 1, p. 92-99, 2001. <https://doi.org/10.1093/toxsci/61.1.92>.

UYSAI, O. K.; ARAL, E. Teratogenic effects and the role in the etiology of atopic diseases of erythrosine (FD and C Red No. 3). **Turkish Journal of Medical Sciences**, v. 28, n. 4, p. 363-368, 1998.

YADAV, A. *et al.* Sunset yellow FCF, a permitted food dye, alters functional responses of splenocytes at non-cytotoxic dose. **Toxicology Letters**, v. 217, n. 3, p. 197-204, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.12.016>.

YASSUNAKA, N. N. *et al.* Photodynamic Inactivation Mediated by Erythrosine and its Derivatives on Foodborne Pathogens and Spoilage Bacteria. **Current Microbiology**, v. 71, p. 243-251, 2015. <https://doi.org/10.1007/s00284-015-0827-5>.

WU, D. *et al.* Characterisation of interaction between food colourant allura red AC and human serum albumin: Multispectroscopic analyses and docking simulations. **Food chemistry**, v. 170, p. 423-429, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.088>.

VAN HOOFT, J. A. Fast green FCF (food green 3) inhibits synaptic activity in rat hippocampal interneurons. **Neuroscience Letters**, v. 318, n. 3, p. 163-165, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(01\)02452-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(01)02452-1).

VIENNOIS, E. *et al.* Dietary Emulsifier-Induced Low-Grade Inflammation Promotes Colon Carcinogenesis. **Journal of Cancer Research**, v. 77, n. 1, p. 27–40, 2017. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-1359>.

VIENNOIS, E.; CHASSAING, B. First victim, later aggressor: How the intestinal microbiota drives the pro-inflammatory effects of dietary emulsifiers? **Gut Microbes**, v. 9, n. 3, p. 289–291, 2018. <https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1421885>.

ZHANG, J. *et al.* A fluorescence-quenching method for quantitative analysis of Ponceau 4R in beverage. **Food Chemistry**, v. 221, p. 803-808, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.100>.

Autores

Josiane Bizzi Schlemmer Braun^{1,*}, Rosane da Silva Rodrigues²

1. Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* em Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil; Faculdade Metodista Centenário, R. Dr. Turi, 2003 - Centro, Cep 97050.180, Santa Maria, RS.

2. Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil

* Autor para correspondência: jobizzi@yahoo.com.br

CAPÍTULO 10

Características nutricionais e compostos bioativos com atividade antioxidante de frutos nativos do cerrado: uma revisão

Graciele Lorenzoni Nunes, Lucas Nojosa Oliveira, Shamara Ribeiro De Almeida, Márcia Arocha Gularte

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-3-8.c10>

Resumo

Os compostos bioativos com atividade antioxidante presentes em alimentos, especialmente em frutas e vegetais, são considerados de grande importância para a saúde, pois apresentam a capacidade de reduzir o risco de doenças crônicas não transmissíveis. Os frutos do Cerrado são considerados fontes potenciais de compostos fenólicos, apresentam valor nutricional significativo, sendo alguns deles fontes importantes de macronutrientes e micronutrientes, além de apresentarem sabor e aroma peculiares. No entanto, as perdas da vegetação natural do Cerrado vêm progredindo, o que pode resultar, a longo prazo, em extinção de alguns alimentos típicos, como por exemplo os frutos. Dessa maneira, é necessário difundir o conhecimento acerca desses frutos, principalmente em relação às suas características nutricionais e compostos bioativos, os quais podem contribuir para a saúde humana, agregar valor comercial e colaborar para a preservação desse bioma. Sendo assim, este capítulo fornece informações sobre as características nutricionais e compostos bioativos com atividade antioxidante dos seguintes frutos: pequi, baru, buriti, cajá-manga e cagaita, os quais são nativos do Cerrado brasileiro.

Palavras-chaves: compostos fenólicos, baru, buriti, cagaita, cajá-manga, pequi.

1. Introdução

Os frutos no Brasil apresentam grande importância e potencial para serem explorados, especialmente pelo seu valor nutricional e sensorial (LAGO, 2018). O cerrado brasileiro é situado em quase sua totalidade no planalto central e compreende uma das principais áreas para conservação da biodiversidade mundial e a mais rica flora dentre as savanas do mundo. Apresenta uma área equivalente de 2 milhões de km², correspondendo aproximadamente a 23% do território nacional, contendo cerca de 11.627 espécies de plantas nativas (BRASIL, 2020; DUTRA, 2015).

As condições ambientais do Cerrado, compreendem períodos alternados de seca e de chuvas, solos nutricionalmente pobres, grande incidência de radiação UV e ocorrência de incêndios. Devido a essas condições distintas, existe a necessidade de as plantas utilizarem mecanismos de defesa para se protegerem de agentes físicos, químicos e

biológicos, os quais têm sido associados a uma elevada presença de compostos bioativos (REIS; SCHMIELE, 2019).

Sendo assim, a flora do Cerrado apresenta diferentes espécies frutíferas, cujos frutos se sobressaem por suas agradáveis características sensoriais, apreciável valor nutricional e elevadas concentrações de fibras, vitamina C, compostos fenólicos e também significativa atividade antioxidante (DA PAZ *et al.*, 2014; LIMA *et al.*, 2014). Nesse contexto, os frutos do Cerrado vêm sendo considerados uma fonte de substâncias bioativas, as quais são reconhecidas por exercerem efeitos benéficos sobre a saúde humana, reduzindo o risco de doenças crônicas não transmissíveis (BAILÃO *et al.*, 2015). Sendo assim, entende-se que as escolhas de consumo não se baseiam apenas no gosto e na preferência pessoal, mas também no desejo de uma vida saudável. A crescente preocupação dos consumidores com a sua saúde e qualidade de vida resultaram em um aumento significativo pela procura de alimentos saudáveis, ricos em nutrientes, provocando assim, maior exploração dos produtos e subprodutos de frutos específicos (YAHIA, 2010).

Portanto, os frutos do Cerrado representam uma potencial fonte alimentar, não somente para consumo *in natura*, como também para o desenvolvimento de sucos, doces, sorvetes e outros alimentos que podem ser explorados pela indústria de alimentos e conseqüentemente difundidos para além do Cerrado Brasileiro (ALVES *et al.*, 2014; NASCIMENTO-SILVA; NAVES, 2019; SCHIASSI *et al.*, 2018).

Apesar de tal importância, recentemente alguns alimentos típicos do Cerrado, incluindo os frutos, estão ameaçados de extinção (RODRIGUES, 2017). Dessa forma, a preservação desse bioma por meio do desenvolvimento sustentável e aproveitamento do potencial comercial é uma alternativa para a sua manutenção (MATTIETTO; LOPES; MENEZES, 2010). Além disso, são necessários mais estudos sobre o Cerrado brasileiro, os quais podem ampliar o conhecimento, auxiliar na preservação e promover diversos benefícios nutricionais a população (RUFINO, 2010). Neste contexto, este capítulo tem por objetivo fornecer informações sobre os frutos do Cerrado, destacando suas características nutricionais, compostos bioativos e atividade antioxidante.

2. Frutos do cerrado

Os frutos do Cerrado além dos nutrientes essenciais, que exercem funções vitais no desenvolvimento do organismo, apresentam em sua composição compostos bioativos com atividade antioxidante, tais como os compostos fenólicos, os carotenoides e o ácido ascórbico, que são capazes de reduzir significativamente o risco da ocorrência de diversas doenças relacionadas ao estresse oxidativo (BAILÃO *et al.*, 2015; NASCIMENTO-SILVA; NAVES, 2019; SCHIASSI *et al.*, 2018; YAHIA, 2010).

Cinco frutos do cerrado foram selecionados para serem abordados no presente capítulo, sendo eles: Pequi, Baru, Cajá-Manga, Buriti e Cagaita. O levantamento de dados e informações foi realizado em bases de dados científicos (*Scielo* - Scientific Electronic Library Online, *Science Direct* e Google acadêmico) e no catálogo de Teses e Dissertações da Capes. A seleção dos trabalhos de maior relevância foi realizada através do refino das informações, tomando-se por critérios as publicações nos últimos dez anos, sem prejuízo da utilização de documentos e artigos clássicos sobre o tema publicados anteriormente.

2.1. Pequi

O pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Cambess) (Figura 1) é uma árvore frondosa, nativa do Cerrado, que alcança de oito a dez metros de altura e frutifica de setembro a março. O nome pequi, fruto do pequizeiro, é de origem indígena, que se origina da palavra “pyqui”, no qual “py” significa casca e “qui” espinho (ALMEIDA; SILVA, 1994).

É mais frequentemente encontrado nos estados de Mato Grosso, Minas Gerais e Goiás, sendo os dois últimos responsáveis por 63,8% da produção nacional, sendo que os maiores polos de concentração dessa produção são as regiões do Norte de Minas e Vale do Jequitinhonha (RODRIGUES, 2016). A comercialização do pequi gera grande impacto na economia do país, movimentando aproximadamente 3,5 milhões de reais anualmente, promovendo emprego e representando grande parte da renda anual de trabalhadores rurais e produtores (ALVES, 2019).



Figura 1. Árvore de pequizeiro comum (*Caryocar brasiliense* Cambess).
Fonte: JUNQUEIRA, 2017.

O pequi (Figura 2) é constituído por epicarpo de coloração marrom-esverdeada, mesocarpo externo (polpa branca), que abriga de 1 a 6 pirênios (caroços), e mesocarpo interno (polpa comestível do fruto) de coloração amarelada, com odor forte e característico. O endocarpo espinhoso do pequi protege uma amêndoa macia e saborosa, por isso é preciso ter cuidado ao roer o pequi cozido, pois embaixo da polpa há uma camada de espinhos finos que podem perfurar a mucosa bucal (RODRIGUES, 2016).

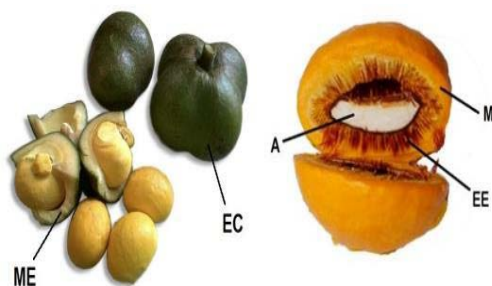


Figura 2. Partes do fruto do pequizeiro: Epicarpo Coriáceo de cor verde (EC), Mesocarpo Externo (ME), Mesocarpo Interno (MI) de onde pode ser extraído o óleo, Endocarpo Espinhoso (EE) e amêndoa ou semente (A) parte que também pode ser extraído o óleo. Fonte: EMERENCIANO, 2016.

A polpa do pequi é rica em lipídeos, apresentando aproximadamente 33,4 g/100g (principalmente ácidos graxos oleico e palmítico) e fibras alimentares, como pectina e hemicelulose. A coloração amarela é devida à presença de carotenoides (α e β -caroteno) com teores em torno de 21 a 34 $\mu\text{g/g}$ de polpa. Possui ainda compostos fenólicos (polifenóis, proantocianidinas não extraíveis), componentes bioativos com expressiva capacidade antioxidante, tanto para sequestro de radicais livres como para oxirredução (LEÃO *et al.*, 2017; LIMA *et al.*, 2007). A polpa também apresenta alto valor nutritivo, sendo rica em proteínas, carboidratos, vitaminas, fibras, água e minerais superiores ao encontrados em outros frutos brasileiros (OLIVEIRA *et al.*, 2006; PAULA-JUNIOR *et al.*, 2006; ROSSO; MERCADANTE, 2007). A amêndoa pode ser utilizada para a extração de óleo com altos teores de ácidos graxos poli-insaturados e ácidos graxos essenciais (ω -3 e ω -6), além de compostos bioativos (TORRES *et al.*, 2016).

Estudos realizados com óleo de pequi por Miranda e colaboradores (2009, 2011, 2016) mostraram que indivíduos com suplementação oral de 400 mg do óleo durante 14 dias obtiveram melhora do perfil lipídico, redução da pressão sistólica e diastólica e inibição de danos no DNA.

Um estudo realizado por Ribeiro *et al.* (2014) avaliaram o teor de carotenoides de diferentes regiões da savana brasileira e reportaram valores variando de 37,08 a 187,00 $\mu\text{g/g}$ de carotenoides. Novaes *et al.* (2013) relataram que é importante notar a variação das características físicas e químicas dos frutos do pequi devido as diferentes regiões estudadas apresentarem diferenças no clima, pH do solo, precipitação, dentre outras condições ambientais.

Por fim, estudos destacam a utilização do pequi além da forma *in natura*, como por exemplo, minimamente processado, congelado ou desidratado, o que poderia contribuir para sua expansão comercial além do Cerrado brasileiro (RODRIGUES *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2010). Além disso, é utilizado na culinária de diversas formas, como na fabricação de licores e doces (FALEIRO; FARIAS-NETO, 2008).

2.2. Baru

O baru (*Dipteryx alata* Vog.) é um fruto retirado de uma árvore frutífera nativa do Cerrado (Figura 3), pertencente à família Fabaceae e apresenta altura média de quinze metros, com caule ereto e ramos lisos. A mesma floresce de outubro a janeiro e os frutos amadurecem entre março e agosto, produzindo em média de 2000 a 6000 frutos por planta. Segundo Vera *et al.* (2009), o barueiro apresenta frutos do tipo drupa, ovóides, levemente achatados e de coloração marrom, contendo uma semente comestível, conhecida como a amêndoa de baru (Figura 4).

A polpa externa do baru possui sabor doce, que envolve um endocarpo lenhoso bastante duro, que protege no seu interior a castanha. Tanto a polpa como a castanha podem ser exploradas através do uso sustentável para o aproveitamento das frações proteicas e lipídicas (GUIMARÃES *et al.*, 2012). No entanto, a polpa de baru também pode ser usada na alimentação humana, sendo composta sobretudo de carboidratos (63%), predominantemente por amido, fibras insolúveis e açúcares (ZUFFO; ANDRADE; ZUFFOJUNIOR, 2014).



Figura 3. Árvore de barueiro. Fonte: BRANDT, 2018.



Figura 4. Fruto, amêndoa e corte transversal do fruto: ep (epicarp), me (mesocarp) e em (endocarp). Fonte: SILVA, 2017.

A amêndoa do baru é classificada como uma semente comestível pertencente à família das leguminosas que apresenta medidas que podem variar de 1,0 a 2,6 cm, largura de 0,9 a 1,3 cm e espessura de 0,7 a 1,0 cm (FREITAS; NAVES, 2010). A castanha de baru torrada é muito consumida no Brasil devido ao seu alto valor nutricional e sabor semelhante ao do amendoim (BIANCHI *et al.*, 2007). Quanto a sua composição nutricional destaca-se seus altos teores de lipídeos, cerca de 40%, especialmente compostos por ácidos graxos insaturados, aproximadamente 30% de proteínas, além de conter diversos minerais, como ferro, zinco, potássio e cálcio (OLIVEIRA; RESENDE; COSTA, 2017). As amêndoas de baru cruas possuem fatores antinutricionais, que são os inibidores de tripsina, por esse motivo, as sementes devem passar por um processo de torrefação antes do consumo (KALUME; SOUSA; MORHY, 1995).

A amêndoa do baru foi identificada como uma rica fonte de compostos bioativos mesmo após o processo de torrefação, tendo como principal composto identificado o ácido gálico, seguido de ácido ferúlico, ácido elágico e ácido p-cumárico, sendo que, o ácido gálico e seus derivados são antioxidantes que apresentam actividade anti-inflamatória e antimicrobiana (LEMONS, 2012; KROS, 1992).

O óleo proveniente da semente de baru exibe teores de α -tocoferol e γ -tocoferol referentes a 5% e 4,3% respectivamente, os quais possuem ação antioxidante (MACIEL JUNIOR, 2010). Para se obter farinha as amêndoas podem ser processadas e a polpa utilizada na produção de doces, também podem ser submetidas à torrefação (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Devido aos seus múltiplos usos, dentre eles alimentar, madeireiro, medicinal, industrial, paisagístico. O baru é uma das espécies mais

promissoras para cultivo no cerrado e pode auxiliar na recuperação de áreas degradadas (ALVES *et al.*, 2010).

Os baruzeiros adultos da vegetação nativa original são mantidos na pastagem em função de fornecer sombra e alimentação para o gado, que ingere todo o mesocarpo (polpa) e depois elimina o endocarpo com a semente, tanto sob árvores quanto nas áreas onde permanecem para ruminar. Assim, os baruzeiros proporcionam bem-estar aos animais e, de forma recíproca, o gado também contribui para a dispersão das sementes. Além disso, o baru é um alimento rico em calorias, potássio e fósforo, e acaba por tornar-se uma importante fonte complementar de calorias para os animais durante a estação seca, momento em que a disponibilidade de forragem é reduzida (SANO; RIBEIRO; BRITO, 2014).

2.3. Cajá-manga

O cajá-manga (*Spondias mombin* L.) pertence à família Anacardiaceae, nativo das Ilhas da Polinésia e adequou-se ao cerrado brasileiro por ter características que representam o bioma, sendo então, conhecido popularmente como um fruto do cerrado, do qual geram múltiplos subprodutos (Figura 5). Devido às excelentes características sensoriais, rico em fibras e em sais minerais, é destinado em sua totalidade para consumo *in natura* (LORENZI, 2006).

O fruto possui formato cilíndrico (4-12 cm de comprimento; 3-8 cm de diâmetro), com casca lisa de cor amarelada, exibe forma elipsoidal do tipo drupa (fruto carnoso, com apenas uma semente), a polpa é composta por fibras rígidas e espinhosas, sendo considerada succulenta, agri-doce e fortemente aromática (DANTAS *et al.*, 2011; FRANQUIN *et al.*, 2005; SIQUEIRA *et al.*, 2017).

O fruto da cajá-mangueira possui formato cilíndrico com casca lisa de cor amarelada, que está relacionada com a presença de teores de carotenoides. As sementes são grandes, brancas, lenhificadas e rugosas. O endocarpo é a parte mais característica do fruto devido à sua massa consistente que contém o loculus e o parênquima, um tecido esponjoso que cobre a semente botânica (LOZANO, 1986; VILLACHICA, 1966).

O fruto da cajá-mangueira quando no estágio verde - madura (de vez) apresenta polpa compacta, quando madura torna-se amarelo pálida, sumarenta, acídula e doce (FRANQUIN *et al.*, 2005).



Figura 5. Fruto da cagaiteira (*Eugenia desynerica*). Fonte: CARDOSO, 2011.

O cajá-manga destaca-se como uma das frutas tropicais mais aromáticas, com 33 compostos que ajudam a formar o aroma característico da fruta. As características

físico-químicas dos frutos podem variar com a espécie, fator genético, local de cultivo, época de frutificação e de colheita, fatores ambientais, entre muitos outros (SILVA, 2016). Além disso, sua composição nutricional, e a presença de compostos bioativos como carotenoides e vitaminas também têm despertado interesse de pesquisadores para o desenvolvimento de técnicas que permitam a conservação dos frutos e de seus nutrientes fora do período de safra (FERREIRA; PINTO, 2017).

Segundo Lorenzi *et al.* (2006), o cajá manga possui em sua composição química alguns minerais, como, magnésio, fósforo, ferro e zinco. Ishak *et al.* (2005) constataram que o teor de fósforo (P) foi mais elevado que os outros minerais presentes no fruto, independentemente do estado de maturação (verde, semi-maduro ou maduro). Em estudos realizados por Damiani *et al.* (2011), a composição química do cajá – manga, apresentou no teor de cinzas um valor de (0,45%), proteínas (0,78%), lipídios (0,03%), carboidratos (15,18%), teores de açúcares redutores e totais foram em média de 5,35% e 3,63%, respectivamente. Para fibras totais, fibras insolúveis e fibras solúveis, foram encontrados valores de 1,11%, 3,17%, 1,30% (CHEUCZUK; ROCHA, 2014). Além disso, foram reportados teores importantes de vitamina C e carotenoides nos frutos de cajá-manga (SACRAMENTO; SOUZA, 2000). Em um estudo recente realizado por Almeida *et al.* (2020), após realizarem a secagem de cajá-manga em estufa, os autores verificaram que não houve perda significativa na sua composição nutricional.

Por fim, a polpa de caja-manga tem despertado o interesse de muitas regiões do Brasil, por apresentar boas características para a industrialização, devido ao sabor e aroma típicos podendo ser utilizada tanto *in natura* quanto na forma processada. A sua polpa pode ser utilizada na fabricação de sucos, sorvetes, geleias, polpa congelada (AROCHA *et al.*, 2005).

2.4. Buriti

O buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) pertence à família Arecaceae sendo uma das palmeiras mais largamente difundidas no território nacional. É apontada como a palmeira símbolo do cerrado, tendo sua ocorrência principalmente na presença de água nas formações florestais do Cerrado conhecidas como veredas (BITAR; ALCANTARA, 2020). O fruto apresenta uma forma elipsoidal, coloração castanho-avermelhada, podendo apresentar até dois caroços (Figura 6). O período de desenvolvimento do fruto, desde o surgimento dos cachos até o seu amadurecimento dura mais de um ano. A temporada da colheita varia entre as regiões, no cerrado o amadurecimento dos frutos ocorre comumente entre os meses de setembro a fevereiro (SAMPAIO; CARRAZZA, 2012).

O mesocarpo é fino e a cor varia do amarelo ao alaranjado, devido principalmente a presença de carotenoides, como o β -caroteno, sendo ainda muito carnoso e oleoso. O endocarpo é constituído por um tecido esponjoso, delgado, que vai do branco ao amarelado e o endosperma é muito duro, de formato ovoide, possuindo em média 2,5 cm de tamanho, o que ocupa a maior parte do volume do fruto (CÂNDIDO; SILVA; AGOSTINI-COSTA, 2015; PESSOA, 2017; SAMPAIO; CARRAZZA, 2012).



Figura 6. A) Palmeira do Buriti, B) Fruto do Buriti, C) Polpa do Buriti.
Fonte: FILHO, 2017.

A polpa do fruto por apresentar quantidades significativas de compostos fenólicos, possui capacidade antioxidante significativa, incluindo polifenóis e ácido ascórbico, apresentando assim um potencial a ser utilizado na prevenção de doenças causadas pelo stress oxidativo (AGUIAR; SOUZA, 2017; CÂNDIDO; SILVA; AGOSTINI-COSTA, 2015). Além disso, os frutos são muito ricos em vitaminas A, B, C, E, em fibras e em ácidos graxos insaturados (SAMPAIO, 2011). A presença desses compostos químicos concede ao fruto e aos seus produtos (polpa e óleo) um significativo valor nutricional e terapêutico (AQUINO *et al.*, 2015; BOSCO; DOMINGOS; 2016; NASCIMENTO-SILVA; SILVA; SILVA, 2020; SANTOS, 2005).

Segundo Fuentes *et al.* (2013) o óleo de buriti possui efeito protetor do extrato oleoso na ativação plaquetária e na formação de trombose, tendo atividade antiplaquetárias e antitrombóticas. O óleo de buriti é classificado como um óleo oleico, mesma classificação dada ao azeite de oliva, ao óleo de canola e ao óleo de amendoim, uma vez que este ácido graxo está presente em quantidades bastante elevadas (cerca de 75% no óleo de buriti) (ALBUQUERQUE *et al.*, 2005). Da polpa também pode ser extraído óleo com características sensoriais de sabor e aroma agradáveis, e com elevada composição de ácidos graxos monoinsaturados, principalmente de ácido oleico. Além disso, apresenta teor considerável de ácidos graxos saturados, sobretudo de ácido palmítico (AQUINO *et al.*, 2012; CRUZ *et al.*, 2016).

A parte lipídica é composta na maior parte por tocoferol e óleos que predominam ácidos graxos, sendo eles o oleico, ômega-9 e palmítico, que ajudam a prevenir doenças cardiovasculares (SANTANA; JESUS, 2012). Estudos mostram que é possível extrair 45 kg de óleo similar ao óleo de dendê a partir de 1000 kg do fruto maduro (ALBUQUERQUE *et al.*, 2005; DARNET *et al.*, 2011). A polpa é considerada uma ótima fonte de vitamina E, devido ao seu alto teor de tocoferol ($1169 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ MS ou $0,001169 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$) (DARNET *et al.*, 2011).

Mariath; Lima e Santos (1989), Tavares *et al.* (2003) e Manhães (2007) analisando a composição química do buriti encontraram para umidade 69,6%; 67%; $62,93 \pm 0,12$; proteínas 1,8%; 1,4%; 2,10%; lipídeos 8,1%; 3,8%; 13,85%; cinzas 0,7%; 1,4%; 0,94% e carboidratos 19,8%; 12,1%; 8,25%, respectivamente.

2.5. Cagaita

A cagaiteira (Figura 7) pertence à família Myrtaceae, sendo representada no Cerrado por 14 gêneros, com 211 espécies conhecidas. É uma árvore frutífera, nativa dos

cerrados, de altura mediana, alcançando de 4 a 10 metros de altura, de tronco e ramos tortuosos, casca grossa e fissurada (SANTOS, 2015). Além disso, destaca-se por sua grande capacidade produtiva, variando de 500 a 2000 frutos por planta. A sua frutificação ocorre aproximadamente um mês depois do florescimento nos meses de agosto e setembro (SANTOS, 2015; SILVA, 2016). O sistema reprodutivo da cagaita ocorre tanto por autofecundação quanto fecundação cruzada, sendo a polinização realizada principalmente pelas espécies do gênero *Bombus*, no período da manhã (SILVA *et al.*, 2011).



Figura 7. Árvore cagaiteira. Fonte: TATAGIBA, 2006.

A cagaita (*Eugenia dysenterica*) é um fruto com formato globoso, cor amarelo-claro e sabor ligeiramente ácido (Figura 8). O mesocarpo e o endocarpo são carnosos e o epicarpo é membranoso, de brilho intenso e apresenta peso de aproximadamente 14 a 20 g (SILVA, 2016) e comprimento de 3-4 cm e diâmetro de 3-5 cm, com uma média de 3-4 caroços (NAVES; BORGES; CHAVES, 2002).

Esses frutos apresentam características físicas que indicam a possibilidade de sua exploração, tanto para consumo *in natura* quanto para industrialização (SANTOS, 2015). Os frutos *in natura* podem ser usados na preparação de licores, refrescos, sorvetes, sucos, geleias e doces. Além disso, são utilizados na medicina popular brasileira no tratamento de diversas doenças (CARDOSO, 2011; CHAVES; VENCOVSKY; SILVA, 2011; COELHO; CARREIRO, 2018).

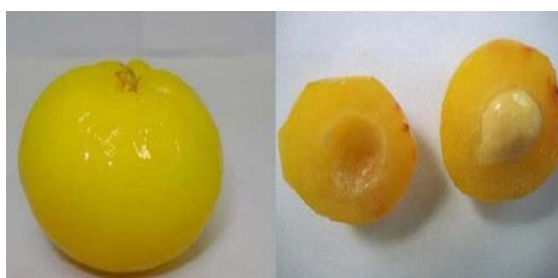


Figura 8. Fruto da cagaiteira (*Eugenia desynerica*). Fonte: CARDOSO, 2011.

Segundo Silva *et al.* (2008) os frutos da cagaita *in natura*, quando em estágio de maturação verde e maduro, apresentam concentrações similares de vitamina C, sólidos, solúveis e acidez titulável. Além disso, o armazenamento da polpa da cagaita, congelada por quatro meses e, do refresco, por 24 h, nas condições testadas, afeta negativamente a concentração de vitamina C, com reduções de 33% e 57%,

respectivamente (SILVA; SANTOS JÚNIOR; FERREIRA, 2008). A perecibilidade dos frutos prejudica a comercialização deles. O fruto perece em apenas três dias se conservado a 28 °C, mas pode ser conservado por até treze dias quando armazenado em geladeira a 15 °C. Sua polpa, se for congelada, pode ser conservada em condições de consumo por mais de um ano, sem perder o sabor (MORAIS, 2020).

Estudos demonstraram que os frutos de *E. dysenterica* são ricos em polifenóis e outros componentes orgânicos que fazem com que este apresente atividade antioxidante. Além disso, cajá-manga vem sendo reportado por apresentar efeito laxativo, o qual foi comprovado em foi comprovada com estudos *in vivo* em ratos e atribuída a fração proteica do fruto (GENOVESE, 2010; LIMA *et al.*, 2007; ROSLER *et al.*, 2007; SOUZA; LAJOLOA, GENOVESE, 2010).

Com relação a sua composição nutricional em 100 g do fruto da cagaiteira tem-se em média 20 kcal, cerca 0,82 g de proteínas, 0,44 g de lipídios, 3,08 g de carboidratos, 1,04 g de fibras alimentares e 94% de umidade (ALMEIDA; SILVA; RIBEIRO, 1987). A cagaíta é considerada boa fonte de vitamina C (18-72 mg/100 g), vitamina B2 (0,4 mg/100 g), cálcio (172,8 mg/100 g), magnésio (62,9 mg/100 g) e ferro (3,9 mg/100 g) (RIBEIRO; SILVA; BATMANIAN, 1995). No óleo essencial obtido através dos frutos semimaduros e imaturos, são identificados α -limoneno, (E)- β -cimeno e β -pineno. Nos frutos maduros são identificados γ -muuroleno, β -cariofileno e α -humuleno. No óleo essencial obtido de sementes foram identificados os sesquiterpenos β -cariofileno, δ -cadineno e β -pineno, entre outros (ALMEIDA; SILVA; RIBEIRO, 1987; BRANDÃO, 1991; DAZA; FUJITA; FÁVARO-TRINDADE, 2016; MORAIS, 2020; RIBEIRO; SILVA; BATMANIAN, 1995; ROSLER *et al.*, 2007; SOUZA; LAJOLOA; GENOVESE, 2010). Além disso, apresenta teor de umidade de aproximadamente 95% e teores significativos de fibras alimentares.

Um estudo realizado por Cardoso (2011) demonstrou que 100 g de cagaíta pode suprir as necessidades diárias de Vitamina C. Além disso, quantidades consideráveis de ácidos graxos essenciais, principalmente ácido linoleico (ω -6), cerca de 10,5%, e ácido linolênico (ω -3), cerca de 11,8% também foram reportados (SILVA, 2016).

3. Compostos bioativos com atividade antioxidante dos frutos do cerrado

Os compostos bioativos são definidos como metabólitos secundários produzidos nas plantas, representados por um grupo muito amplo de compostos, encontrados em diferentes partes das frutas e hortaliças, os quais são reconhecidos por apresentarem atividade antioxidante (QUIDEAU *et al.*, 2011).

Os antioxidantes são substâncias que possuem a propriedade química de doar elétrons, o que os tornam capazes de estabilizar as moléculas de radicais livres. Assim, esses radicais livres deixam de agredir os tecidos do organismo, os quais previnem a ocorrência de diversas enfermidades como doenças cardiovasculares, circulatórias, cancerígenas e neurológicas. Uma ampla definição de antioxidante é qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz (NOGUEIRA, 2017).

Os frutos do Cerrado, além dos nutrientes essenciais, que exercem funções vitais no desenvolvimento do organismo, apresentam em sua composição compostos bioativos com atividade antioxidante, tais como os compostos fenólicos, os carotenoides e o ácido ascórbico (Tabela 1), que são capazes de reduzir significativamente o risco da

ocorrência de diversas doenças relacionadas ao estresse oxidativo (BAILÃO *et al.*, 2015; NASCIMENTO-SILVA; NAVES, 2019; SCHIASSI *et al.*, 2018; YAHIA, 2010). Os compostos fenólicos agem como antioxidantes, não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também em virtude de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento, particularmente de lipídios (BERSET, 1995; BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995).

Nos últimos anos tem surgido uma grande demanda da população por alimentos saudáveis, com redução de aditivos sintéticos e o mínimo possível de alteração do alimento durante o processamento. Em decorrência dessa exigência, as indústrias alimentícias têm substituído aditivos sintéticos por aditivos naturais, como por exemplo, os antioxidantes, que são aditivos utilizados em diversos processamentos, para evitar a oxidação e consequentemente alterações indesejáveis do produto final (PODSEDEK, 2007).

Os frutos do cerrado são considerados boas fontes de antioxidantes, os quais podem ser mais eficientes e menos onerosos que os suplementos sintéticos para proteger o corpo contra danos oxidativos sob diferentes condições. Os antioxidantes absorvem radicais livres e inibem a cadeia de iniciação ou interrompem a cadeia de propagação das reações oxidativas promovidas pelos radicais (PODSEDEK, 2007).

Soares e Silva (2020) demonstraram que frutos mais amarelados como jatobá, buriti e cajuí apresentaram altos valores de compostos fenólicos totais, indicando a presença de flavonoides e tocoferóis. Os frutos de coloração amarelo mais intenso, como murici e buriti se destacaram quanto a quantidade de atividade antioxidante, o que reforça a presença de carotenoides. Já a cagaita e a mangaba que são frutos mais cítricos demonstraram alto teor de ácido ascórbico que corresponde a vitamina C. Isso reforça o poder nutricional desses frutos visto que todos esses compostos são substâncias que previnem várias doenças. Os resultados do estudo mostram também que apenas o consumo de uma pequena porção desses frutos por dia é suficiente para ingerir a quantidade mínima necessária de vitamina, recomendado pela Organização Mundial da Saúde (SOARES; SILVA, 2020).

O pequi e o Baru (amêndoa) se destacam por conter elevados teores de fibras, principalmente insolúvel. Ribeiro *et al.* (2014) reportaram que uma porção de 20 g de polpa de pequi fornece 10% da ingestão dietética de referência (DRIs). O pequi também é reportado na literatura como uma fonte elevada de lipídeos (33,4 g/100g) e carotenoides (7250 µg/100g) (LIMA *et al.*, 2007). Um estudo realizado por Ribeiro *et al.* (2014) avaliaram o teor de carotenoides de diferentes regiões da savana brasileira e reportaram valores variando de 37,08 a 187,00 µg/g de carotenoides. Novaes *et al.* (2013) relataram que é importante notar a variação das características físicas e químicas dos frutos do pequi devido as diferentes regiões estudadas apresentarem diferenças no clima, pH do solo, precipitação, dentre outras condições ambientais. Ao avaliar os efeitos biológicos do pequi, Nascimento-Silva e Naves (2019) reportaram atividade antígeno-tóxica para a polpa. Além disso, para o óleo de pequi estudos realizados por Miranda-Vilela *et al.* (2009, 2011, 2016) encontraram melhora do perfil lipídico, redução da pressão sistólica e diastólica e inibição de danos no DNA após suplementação oral de 400 mg durante 14 dias em humanos.

A amêndoa de Baru ainda se destaca pelo seu elevado teor de lipídios, principalmente de ácidos graxos como o ômega 9 e o ômega 6 e proteínas quando comparadas a outras oleaginosas (BENTO *et al.*, 2014; VERA *et al.*, 2009). Seu teor de compostos fenólicos também é significativo uma vez que apresenta teores maiores quando comparadas a outras castanhas brasileiras como macadâmia, castanha do

Brasil e castanha de caju (LEMOS, 2012). Além disso, maiores teores de compostos fenólicos foram relatados para a amêndoa de baru com casca (LEE *et al.*, 2016). Estudo recente realizado por Souza *et al.* (2018) reporta que uma dieta rica em amêndoa de baru (20 g) por 8 semanas reduziu a adiposidade abdominal (-2,45 cm na circunferência da cintura) e melhorou o HDL-colesterol em mulheres com sobrepeso e obesidade.

O Cajá-manga é referido na literatura por apresentar valores de vitamina C acima do encontrado por outros gêneros *Spondias*. Santos *et al.* (2010) e Silva *et al.* (2011) reportaram valores médios de 16,4 e 34,18 mg/100g, respectivamente. Além disso, laranja pêra (37,34 mg/100g) e abacaxi (24,98 mg/100g), que são frutas usualmente consumidas, também apresentam teores de vitamina C inferiores ao da cajá-manga.

Segundo Barreto; Benassib e Mercadante (2009) além do ácido ascórbico, o cajá-manga apresenta outros compostos bioativos como os pigmentos, clorofila, carotenoides, flavonoides amarelos e antocianinas, destacando também a presença dos polifenóis extraíveis totais e atividade antioxidante.

Barreto, Benassib e Mercadante (2009) e Franquin *et al.* (2005) determinaram a atividade antioxidante de polpa de frutos de cajá-mangueira, e constataram valores médios de AAT pelo método ABTS variando entre 0,50 e 2,10 μM trolox g^{-1} , respectivamente. Os valores de atividade antioxidante do cajá-manga, são semelhantes, quando comparada a do umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) colhidos maduros, citada por Rufino *et al.* (2010) e Almeida *et al.* (2011), com 0,31 e 1,07 μM .trolox g^{-1} , respectivamente. Valores superiores foram reportados por Almeida *et al.*, (2011), que reportaram valores de 6,25 μM .trolox g^{-1} para ciriguela (*Spondias purpurea* L.), Rufino *et al.* (2010) e Tibursk *et al.* (2011), constataram valores médios de 40,7 e 17,47 μM .trolox g^{-1} para cajá (*Spondias mombin* L.), espécies do mesmo gênero do cajá manga.

Segundo a classificação de Ramful *et al.* (2011) o cajá-manga e a cagaita apresentam um conteúdo intermediário de vitamina C (30-50 mg/100g), o pequi, baru e buriti apresentam baixos teores de vitamina C (<30 mg/ 100g). Os polifenóis encontrados na cagaita, incluem elagitaninos e flavonoides os quais exibiram *in vitro* alta capacidade inibitória contra enzimas envolvidas no metabolismo dos carboidratos, demonstrando assim potencial antidiabético através da diminuição da hiperglicemia pós-prandial. Além disso, o suco de cagaita melhorou a atividade antioxidante do plasma de humanos (BALISTEIRO *et al.*, 2017; GONÇALVES; LAJOLO; GENOVESE, 2010).

O buriti se destaca pelo seu alto conteúdo de carotenoides, sendo superior a outros frutos, tais como goiaba (360 μg /100g), mamão (540 μg /100g) e manga (1550 μg /100g) (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Carneiro (2016) reportou que o buriti é notado especialmente por apresentar elevado teor de carotenoides pró-vitamina A, principalmente β -caroteno. Esse pesquisador demonstrou ainda que essa fruta também possui quantidades substanciais de α -caroteno, γ -caroteno e zeaxantina. Além disso, o consumo de óleo de buriti foi associado a melhora do perfil lipídico, reduzindo o LDL-colesterol e triglicerídeos (AQUINO *et al.*, 2015).

Os teores de compostos fenólicos encontrados para os frutos do Cerrado classificam o pequi e a cajá-manga como frutos que apresentam baixos teores (<100 mg/100 g) e o baru, buriti e cagaita como frutos que apresentam teores médios (100-150 mg/100 g) de acordo com a classificação previamente reportada (VASCO; RUALES; KAMAL-ELDIN, 2008).

Tabela 1. Nutrientes e compostos bioativos dos frutos nativos do Cerrado.

Frutos nativos do Cerrado										
	Pequi	(a)	Baru	(a)	Cajá-manga	(a)	Buriti	(a)	Cagaita	(a)
	%RDA (b)		%RDA (b)		%RDA (b)		%RDA (b)		%RDA (b)	
Energia (kcal/100g)	293,99 ⁴	14,7% ^(a)	570,9 ⁵	28,5% ^(a)	65,62 ⁷	3,28% ^(a)	93,08 ¹	4,65% ^(a)	39,87 ¹	1,99% ^(a)
Proteínas totais (g/100g)	3,73 ⁴	0,75% ^(a)	21,07 ³	4,2% ^(a)	0,62 ⁷	0,12% ^(a)	1,43 ¹	0,3% ^(a)	0,77 ¹	0,15% ^(a)
Lipídios totais (g/100g)	24,27 ⁴	10,9% ^(a)	42,16 ³	18,9% ^(a)	13,90 ⁷	6,25% ^(a)	7,72 ¹	3,47% ^(a)	0,49 ¹	0,22% ^(a)
Fibras totais (g/100g)	9,35 ⁶	37,4% ^(a)	10,97 ³	43,8%	1,87 ⁷	7,48 ^(a)	2,65 ¹	10,6% ^(a)	1,56 ¹	6,24% ^(a)
Compostos Fenólicos totais (mg/100g)	1,78 ⁶	1,78% ^(a)	250,4 ⁸	250,4% ^(a)	98,97 ¹	98,97% ^(a)	110,72 ¹	110,72% ^(a)	143,44 ¹	143,44% ^(a)
Vitamina C (mg/100g)	14,33 ⁸	19,1% ^(b)	17,99 ³	23,98% ^(b)	46,49 ²	61,98% ^(b)	7,42 ¹	9,89% ^(b)	31,95 ¹	42,6% ^(b)
Carotenoides Totais (µg/100g)	3708 ⁶	14,7% ^(b)	170 ³	0,67% ^(b)	227,87 ²	0,9% ^(b)	4650 ^{1*}	72,32% ^(b)	960 ^{1*}	15% ^(b)
							2850 ^{1**}		600 ^{1*}	

Observações: Baru: amêndoa crua sem casca. Carotenoides µg de β-caroteno/100g*. Carotenoides µg de licopeno/100g**.

Percentual de adequação de acordo com as Dietary Reference Intakes (DRIs)^(a), considerando uma dieta de 2000 Kcal/dia (Proteínas: 10-35%; Lipídios: 10-35%. Carboidratos: 45-65%); Fibras: 25 g/dia; Polifenóis: 100 mg/dia; Vitamina C: 75 mg/dia e Carotenoides: 700 µg de Equivalentes de Retinol (ER)/dia. Para Vitamina C e carotenoides foram consideradas recomendações de RDA^(b) para mulheres com idade entre 19 e 30 anos.

A atividade antioxidante é avaliada através de diferentes métodos com princípios diferentes, como por exemplo, ABTS e DPPH, que são baseados na captura de radicais livres e o método beta-caroteno, baseado na quantificação de produtos formados durante a peroxidação lipídica (HASSIMOTTO; GENOVESE; LAJOLO, 2005).

Schiassi *et al.* (2018) avaliaram a atividade antioxidante de diferentes frutos do Cerrado e encontram em ordem decrescente: Marolo, Cagaita, Araça, Buriti, Cajá-manga e magaba quando avaliados pelo método ABTS e DPPH. Os mesmos frutos quando avaliados pelo método do beta-caroteno mostraram atividade antioxidante em ordem decrescente: Cagaita, Araçá, Mangaba, Cajá-manga, Marolo e Buriti. Esses autores reportaram ainda a necessidade e importância de avaliar a atividade antioxidante através de mais de um método para que existe uma melhor compreensão e confirmação dos resultados obtidos.

Dessa maneira, a principal fonte de antioxidantes está na ingestão de compostos provenientes dos alimentos, especialmente as vitaminas, compostos fenólicos e carotenoides, que atuam interagindo com os radicais livres antes que estes possam reagir com as moléculas biológicas, isto é, evitam as reações em cadeia ou previnem a ativação do oxigênio a produtos altamente reativos (BERNARDES; PESSANHA; OLIVEIRA, 2010).

Lee e Kader (2000) relataram que a redução gradual do teor de ácido ascórbico em frutos, pode ser devido a fatores como pH, ácidos, enzimas, teor de umidade, presença de oxigênio, atividade de água, luz e elevação da temperatura e do tempo de armazenamento. Além disso, assim como outros parâmetros analisados, o teor de ácido ascórbico nos frutos também pode variar de acordo com a região.

Estudos comparativos entre os frutos de pequi das regiões de Tocantins (TO), Goiás (GO) e Minas Gerais (MG), foi possível notar que a massa dos frutos oriundos de TO e GO apresentou valores inferiores a dos frutos de MG e ao valor médio encontrado para a massa de frutos procedentes de oito regiões do Cerrado, de 180,89 g (MOURA; CHAVES; NAVES, 2013).

Cordeiro *et al.* (2013), em estudo com frutos de pequi oriundos do estado de Mato Grosso, observaram massa média dos frutos de 154 g, valor superior ao encontrado nesse estudo para os frutos de TO e GO, e inferior ao valor médio constatado para os frutos de MG. O valor médio obtido para os frutos das regiões estudadas foi de duas a três vezes maior que os valores médios constatados na literatura, entre 3,31 g e 3,98 g (VERA *et al.*, 2007) o que denota grande variabilidade em relação à massa da polpa dos frutos de pequi. Sendo assim, é possível concluir que a capacidade antioxidante total varia, consideravelmente, de um tipo de fruta para a outra (MOKBEL; HASHINAGA, 2006).

4. Conclusão

O Cerrado brasileiro apresenta uma grande diversidade de frutos nativos, os quais vêm sendo reconhecidos por apresentarem elevadas quantidades de compostos bioativos, como os compostos fenólicos, carotenoides e o ácido ascórbico. Esses compostos químicos são relatados na literatura por apresentarem significativa atividade antioxidante, podendo contribuir diretamente para a saúde dos indivíduos. Além disso, seus teores de vitaminas e minerais, proteínas, carboidratos e lipídios demonstram que esses frutos apresentam uma composição em macronutrientes e

micronutrientes de grande relevância. No entanto, apesar de todas as características reportadas, os frutos do Cerrado ainda são pouco explorados, e assim, são necessários mais estudos que busquem identificar as potencialidades desses frutos, bem como formas para a sua utilização, visando aumentar sua exportação, comercialização e consequentemente seu consumo por outras regiões do Brasil. Por fim, a perspectiva de se investigar e difundir, através deste capítulo de livro, as características nutricionais e os compostos bioativos dos frutos do Cerrado, se torna uma ferramenta importante para a promoção de conhecimento e maior compreensão acerca das potencialidades de utilização desses frutos, tanto do ponto de vista tecnológico, como nutricional, agregando valor aos frutos do Cerrado.

5. Agradecimentos

Este trabalho foi realizado na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), sob orientação de Márcia Arocha Gularte, em parceria com a Faculdade Estácio de Sá Goiás (FESGO). Lucas Nojosa Oliveira e Graciele Lorenzoni Nunes são bolsistas do Programa Pesquisa Produtividade da FESGO (DPE – CI 2020) e Shamara Ribeiro de Almeida é bolsista de iniciação científica (FESGO).

6. Referências

- AGUIAR, J. P. L.; SOUZA, F. C. A. Desidratação e pulverização de polpa de buriti (*Mauritia flexuosa* L.): avaliação da vida-de prateleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, p. 1-7, 2017. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452017034>.
- ALBUQUERQUE, M. L. S. *et al.* Characterization of Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) oil by absorption and emission spectroscopies. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6, p. 1113- 1117, 2005.
- ALMEIDA, M.M.B. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v.44, n.7, p.2155-2159, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.051>.
- ALMEIDA, S. P.; SILVA, J. A.; RIBEIRO, J. F. **Aproveitamento alimentar de espécies nativas dos cerrados: araticum, baru, cagaita e jatobá**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1987. 83 p.
- ALMEIDA, S.P.; SILVA, J.A. **Piqui e buriti: importância alimentar para a população dos Cerrados**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1994. 38p.
- ALMEIDA, S.R. *et al.* Efeito do processo de secagem sobre as características nutricionais de cajá-manga (*Spondias Mombin* L.). **Revista Referências em Saúde da Faculdade Estácio de Sá de Goiás- RRS-FESGO**, v.3, n.02, p.33-36, 2020.
- ALVES, A. M. *et al.* Características físicas e nutricionais de pequis oriundos dos estados do Tocantins, Goiás e Minas Gerais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 3, p. 198-203, 2014. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.6013>.
- ALVES, A. M. *et al.* Avaliação química e física de componentes do baru (*Dipteryx alata* vog.) Para estudo da vida de prateleira. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 40, n. 3, p. 266-273, 2010. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=253019612004>. Acesso em 16 dez. 2020.

ALVES, B. **Cultura do pequi movimenta agricultura familiar em Goiás**. EMATER – Agência Goiana de Assistência Técnica, Extensão rural e pesquisa agropecuária, 2019. Disponível em: <https://www.emater.go.gov.br/wp/cultura-do-pequi-movimenta-agricultura-familiar-em-goias/>. Acesso em 24 nov. 2020.

AQUINO, J. D. S. *et al.* Effects of dietary brazilian palm oil (*Mauritia flexuosa* L.) on cholesterol profile and vitamin A and E status of rats. **Molecules**, v. 20, p. 9054-9070, 2015. <https://doi.org/10.3390/molecules20059054>.

AQUINO, J. S. *et al.* Refining of buriti oil (*Mauritia flexuosa*) originated from the Brazilian Cerrado: Physicochemical, thermal-oxidative and nutritional implications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, p. 212-219, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532012000200004>.

AROUCHA, E. M. M. *et al.* Efeito de temperatura e período de armazenamento na qualidade pós-colheita da cajarana. In: Simpósio Brasileiro de Pós-Colheita de Frutos Tropicais (SBPCFT). 2005. 1. Anais. João Pessoa, 2005.

BAILÃO, E. F. L. C. *et al.* Bioactive compounds found in Brazilian Cerrado fruits. International. **Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 23760-23783, 2015. <https://doi.org/10.3390/ijms161023760>.

BALISTEIRO, D. M. *et al.* Effect of clarified Brazilian native fruit juices on postprandial glycemia in healthy subjects. **Food Research International**, v. 100, p. 196-203, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.044>.

BARRETO, G. P. M.; BENASSIB, M.T.; MERCADANTE, A.Z. Bioactive compounds from several tropical fruits and correlation by multivariate analysis to free radical scavenger activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.20, n.10, p.1856-1861, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532009001000013>.

BENTO, A. P. N. *et al.* Baru almond improves lipid profile in mildly hypercholesterolemic subjects: A randomized, controlled, crossover study. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 24, p. 1330-1336, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2014.07.002>.

BERNARDES, N. R.; PESSANHA, F. B.; OLIVEIRA, D. B. Alimentos funcionais: Uma breve revisão. **Ciência e Cultura- Revista Científica Multidisciplinar do Centro Universitario da FEB**, v.6, p. 11-19, 2010.

BIANCHI, F. *et al.* Retention indices in the analysis of food aroma volatile compounds in temperature-programmed gas chromatography: database creation and evaluation of precision and robustness. **Journal of Separation Science**, v. 30, p.563–572, 2007. <https://doi.org/10.1002/jssc.200600393>.

BITAR, M. J. F.; ALCÂNTARA, M. M. Extração do óleo vegetal da palmeira de buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) em itumbiara. Disponível em: <<http://www.anais.ueg.br/index.php/semanainterdisciplinar/article/view/4316>>. Acesso em: 24 nov. 2020.

BOSCO, C. S.; DOMINGOS, R. N. A utilização de frutos regionais na merenda escolar do município de Palmas-TO: um estudo do buriti quanto componente enriquecedor. **Agrienviromental Sciences**, v. 1, n. 2, p.18-21, 2016. Disponível em: <

<https://revista.unitins.br/index.php/agri-environmental-sciences/article/view/86>.
Acesso em: 16 dez. 2020

BRANDÃO, M. Plantas medicamentosas do cerrado mineiro. **Informe Agropecuário**, v. 15, n. 168, p. 15-20, 1991.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**, v. 28, p. 25-30, 1995. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Departamento de Conservação de Biodiversidade. **O Bioma Cerrado**. 2004. Disponível em: <https://antigo.mma.gov.br/biomas/cerrado>. Acesso em 24 de nov. De 2020.

CÂNDIDO, T. L. N.; SILVA, M. R.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) from the Cerrado and Amazon biomes. **Food Chemistry**, v. 177, p. 313–319, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.041>.

CARDOSO, L. M. Araticum, cagaita, jatobá, mangaba e pequi do cerrado de Minas Gerais: Ocorrência e conteúdo de carotenoides e vitaminas. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

CARNEIRO, B. L. A. Estabilidade química e funcional dos compostos bioativos da polpa de buriti congelada, liofilizada e atomizada. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

CHAVES, L.J.; VENCovsky, R.; SILVA, R.S.M. Estimating inbreeding depression in natural plant populations using quantitative and molecular data. **Conservation Genetics**, v.12, n.2, p.569-76, 2011. <https://doi.org/10.1007/s10592-010-0164-y>.

CHEUCZUK F.; ROCHA, L. A. Propriedades antioxidantes de bebida láctea fermentada prebiótica incorporada de polpa de cajá manga. 2014. Monografia (Graduação em Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. 2014.

COELHO, A.L.S; CARREIRO, S.C. Avaliação microbiológica de frutos de cagaita (*Eugenia dysenterica*). **Acta Tecnológica**, v.12, n.1, p.73-83, 2018. <https://doi.org/10.35818/acta.v12i1.426>.

CORDEIRO, M. W. S. *et al.* Características físicas, composição químico-nutricional e dos óleos essenciais da polpa de *Caryocar brasiliense* nativo do estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 1127-1139, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000400024>.

CRUZ, M. B. *et al.* Extração de óleo de polpa de buriti: Perfil de ácidos graxos e capacidade antioxidante. In: Anais do XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos (CBCTA). 2016. Gramado: UFRGS.

DA PAZ, J. G. *et al.* Análise da composição nutricional e de parâmetros físico-químicos do pequi (*Caryocar brasiliense* camb) *in natura*. **Revista Científica Linkania Master**, v. 1, n. 8, 2014.

DAMIANI, C. *et al.* Néctar misto de cajá-manga com hortelã: caracterização química, microbiológica e sensorial. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 13, n. 3, p. 299-307, 2011. <https://doi.org/10.15871/1517-8595/rbpa.v13n3p301-309>.

DANTAS, A.L. *et al.* Mudanças nos compostos bioativos em frutos da cajá-mangueira (*Spondias cytherea* sonn.) na maturação. In: Anais: III SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PÓS-COLHEITA – SPC. 2011, Nova Friburgo-RJ.

DARNET, S. H. *et al.* Nutritional composition, fatty acid and tocopherol contents of buriti (*Mauritia flexuosa*) and patawa (*Oenocarpus bataua*) fruit pulp from the Amazon region. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n.2, p.488-491, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000200032>.

DAZA, L.D.; FUJITA, A.; FÁVARO-TRINDADE, C.S. Effect of spray drying conditions on the physical properties of Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit extracts. **Food and Bioproducts Processing**, v.97, n.1, p.20-29, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.10.001>.

DUTRA, R. M. S. Entre os impactos socioambientais da modernização da agricultura e as alternativas para transformação: uma análise a partir do cerrado goiano. 2015. 91 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Cerrado RENAC) – Campus Central – Sede: Anápolis – CET, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2015.

EMERENCIANO, N. M. J. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo de Pequi extraído artesanalmente (*Caryocar* sp.) (Trabalho de conclusão de curso). 2016. Curso de Graduação em Nutrição, Universidade Federal do Pernambuco, Vitória de Santo Antão.

FALEIRO, F. G.; FARIAS-NETO, A. L. **Savanas: desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais**. Planaltina: EMBRAPA. 2008. 1198p.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos**. 2 ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2006, 602p.

FERREIRA, L.; PINTO, L.S.R.C. Estruturados de cajá-manga (*Spondias dulcis*) com diferentes hidrocoloides. **Enciclopédia biosfera**, v. 14, p. 32- 41, 2017.

FRANQUIN, S. *et al.* Physicochemical characterisation of the mature-green Golden apple (*Spondias cytherea* Sonnerat). **Fruits**, v..60, n.3, p.203-210, 2005. <https://doi.org/10.1051/fruits:2005027>.

FREITAS, J. B.; NAVES, M. M.V. N. Composição química de nozes e sementes comestíveis e sua relação com a nutrição e saúde. **Revista de Nutrição**, v. 23, p. 269-279, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52732010000200010>.

FUENTES, E. *et al.* *Mauritia flexuosa* presents *in vitro* and *in vivo* antiplatelet and antithrombotic activities. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1-11, 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/653257>.

GONÇALVES, A. E. S. S.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Chemical composition and antioxidant/antidiabetic potential of brazilian native fruits and commercial frozen pulps. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 58, p.4666– 4674, 2010. <https://doi.org/10.1021/jf903875u>.

GUIMARÃES, R. DE C. A. *et al.* Estudo das proteínas da farinha desengordurada e concentrado protéico de castanhas de baru (*Dipteryx alata* Vog.). **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 3, p. 464-470, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612012005000065>.

HASSIMOTTO, N. M. A.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables and comercial frozen fruit pulps. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 53, p. 2928-2935, 2005. <http://dx.doi.org/10.1021/jf047894h>.

ISHAK, S. A. *et al.* Some physical and chemical properties of ambarella (*Spondias cytherea* Sonn.) at three different stages of maturity. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, n 8, p. 819- 827, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2004.11.007>.

KALUME, D.R.; SOUSA, M.V.; MORHY, L. Purification, characterization, sequence determination and Mass Spectrometric Analysis of a trypsin inhibitor from seeds of the Brazilian Tree *Dipteryx alata* (Leguminosae). **Journal of Protein Chemistry**, v. 14, n.8, p.685-693, 1995. <https://doi.org/10.1007/BF01886907>.

KROES, B.H. *et al.* Anti-inflammatory activity of gallic acid. **Planta Medica**, v.58, p.499-504, 1992. <https://doi.org/10.1055/s-2006-961535>.

LAGO, R. C. Frutos do Cerrado como agregadores de valor nutricional e funcional em pães. 2018 154 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

LEÃO, D. P. *et al.* Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) fruit byproducts. **Food Chemistry**, v. 225, p. 146- 153, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.027>.

LEE, J. *et al.* Walnut phenolic extract and its bioactive compounds suppress colon cancer cell growth by regulating colon cancer stemness. **Nutrients**, v. 8, p. 1-14, 2016. <https://doi.org/10.3390/nu8070439>.

LEE, S. K.; KADER, A. A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v. 20, n. 3, p. 207-220, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00133-2](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00133-2).

LEMOS, M. R. B. Caracterização e estabilidade dos compostos bioativos em amendoas de Baru (*Dipteryx alata* Vog.), submetidos a processo de torrefação. 2012. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Universidade de Brasília, Brasília 2012.

LIMA, A. de *et al.* Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa de pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, p. 695-698, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452007000300052>.

LIMA, J. P. de. *et al.* Identificação e quantificação de compostos fenólicos de polpas de frutos do Cerrado. **Revista Magistra**, v. 26, p. 1815-1819, 2004.

LORENZI, H. *et al.* **Frutas Brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo in natura)**. São Paulo: Instituto plantarum de estudos da Flora, 2006. 672p.

LOZANO, N.B. Desarrollo y anatomia del fruto del jobo (*Spondias mombin* L.). **Caldasia**, v.14, n.68/70, p.465-490, 1986. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/23641445>>. Acesso em: 16 dez. 2020.

MACIEL JUNIOR, S. Caracterização físico-química, qualidade e estabilidade oxidativa do óleo de *Dipteryx alata* Vog. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

MANHÃES, L. R. T. Caracterização da polpa de buriti (*Mauritia flexuosa*, Mart.): um potente alimento funcional. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 78p, 2007.

MARIATH, J. G.; LIMA, M. C.; SANTOS, L. M. Vitamin A activity of buriti (*Mauritia vinifera* Mart) and its effectiveness in the treatment and prevention of xerophthalmia. **The American journal of clinical nutrition**, v. 49, n. 5, p. 849-853, 1989. <https://doi.org/10.1093/ajcn/49.5.849>.

MATTIETTO, R. A.; LOPES, A. S.; MENEZES, H. C. Caracterização física e físicoquímica dos frutos da cajazeira (*Spondias mombin* L.) e de suas polpas obtidas por dois tipos de extrator. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13, n. 3, p. 156-164, 2010.

MIRANDA-VILELA A. L.; RIBEIRO I. F.; GRISOLIA C. K. Association between interleukin 6–174 G/C promoter gene polymorphism and runners' responses to the dietary ingestion of antioxidant supplementation based on pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) oil: A before-after study. **Genetics and Molecular Biology**, v. 39, p. 554–566, 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2015-0299>.

MIRANDA-VILELA A. L. *et al.* Under increased hydrogen peroxide conditions, the antioxidant effects of pequi oil (*Caryocar brasiliense* Camb.) to decrease DNA damage in runners are influenced by sex, age and oxidative stress-related genetic polymorphisms. **Free Radicals Antioxidants**, v.1, p. 27–39, 2011. <http://dx.doi.org/10.5530/ax.2011.3.5>.

MIRANDA-VILELA A. L. *et al.* Pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp oil reduces exercise-induced inflammatory markers and blood pressure of male and female runners. **Nutrition Research**, v. 29, p. 850-858, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2009.10.022>.

MOKBEL, M. S.; HASHINAGA, F. Evaluation of the antioxidant activity of extracts from buntan (*Citrus grandis* Osbeck) fruit tissues. **Food Chemistry**, v. 94, n. 4, p. 529–534, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.11.042>.

MORAIS, M. DE S. Caracterização Bioquímica E Biofísica Da Fração Proteica Do Fruto Da Cagaiteira (*Eugenia Dysenterica*). 2020. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade de Brasília. Brasília, 2020.

MOURA, N. F.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V. Caracterização física de frutos de Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) do Cerrado. **Revista Árvore**, v. 37, n. 5, p. 905-912, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622013000500013>.

NASCIMENTO-SILVA, N. R. R.; NAVES, M. M. V. Potential of whole pequi (*Caryocar* spp.) fruit—pulp, almond, oil, and shell—as a medicinal food. **Journal of Medicinal Food**, v. 22, n.9, p. 1-11, 2019. <http://dx.doi.org/10.1089/jmf.2018.0149>.

NASCIMENTO-SILVA, N. R. R.; SILVA, A. F.; SILVA, M. R. Physicochemical composition and antioxidants of buriti (*Mauritia flexuosa* Linn. F.) – pulp and sweet. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v.7, p. 1-12, 2020. <http://dx.doi.org/10.18067/jbfs.v%25vi%25i.279>.

NAVES, R. V.; BORGES, J. D.; CHAVES, L. J. A cagaiteira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 2, p. 1, 2002. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452002000200001>.

NOGUEIRA, G. M. Avaliação da extração de compostos antioxidantes da polpa de buriti (*Mauritia flexuosa*) por metodologia de superfície de resposta. 2017. Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2017.

NOVAES, P. *et al.* Ecological phytochemistry of Cerrado (*Brazilian Savanna*) plants. **Phytochemistry Reviews**, v. 12, p. 839-855, 2013. <http://dx.doi.org/10.1007/s11101-013-9315-3>.

OLIVEIRA, D. DA S. O. *et al.* Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v. 33, p. 89-98, 2011. <http://dx.doi.org/10.4025/actascihealthsci.v33i1.8052>.

OLIVEIRA, D. E. C.; RESENDE, O.; COSTA, L. M. Efeitos da secagem na coloração dos frutos de baru (*Dipteryx alata* Vogel). **Revista Agroambiente**, v. 10, p. 364-370, 2017. <http://dx.doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v10i4.3584>.

OLIVEIRA, L. C. *et al.* Propriedades físicas de sementes de baru em função da secagem. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 1, n.1, p. 92-96, 2014. <http://dx.doi.org/10.32404/rean.v1i1.223>.

OLIVEIRA, M. N. S. *et al.* Estádio de maturação dos frutos e fatores relacionados aos aspectos nutritivos e de textura da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p.380-386, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452006000300010>.

PAULA-JUNIOR, W. de *et al.* Leishmanicidal, antibacterial, and antioxidant activities of *Caryocar brasiliense* Cambess leaves hydroethanolic extract. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p.625- 630, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000500007>.

PESSÔA, P. A. P. Avaliação das propriedades do óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) e sua aplicação em creme vegetal. 2017. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto. 2017.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT-Food Science and Technology**, v. 40, p. 1-11, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.07.023>.

QUIDEAU, S. *et al.* Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 50, p. 586-621, 2011. <https://doi.org/10.1002/anie.201000044>.

RAMFUL, D. *et al.* Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. **Food Research International**, v. 44, p.2088-2099, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.056>.

REIS, A. F.; SCHMIELE, M. Características e potencialidades dos frutos do Cerrado na indústria de alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, p. 1-12, 2019. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.15017>.

RIBEIRO, D. M. *et al.* Carotenoids are related to the colour and lipid content of the pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp from the Brazilian Savanna. **Food Science and Technology**, v. 34, p. 507-512, 2014. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.6369>.

RIBEIRO, J. F.; SILVA, J. C. S.; BATMANIAN, G. J. Fitossociologia de tipos de cerrado em Planaltina - DF. **Revista Brasileira de Botânica**, v.8, p.131-142, 1995.

RODRIGUES, D. B. Análise de resultados de um projeto de frutos do cerrado: Pequi em foco. 2016. Monografia (Bacharelado em Biossistemas) – Campus Sete Lagoas - UFSJ. Curso de bacharelado interdisciplinar em Biossistemas, Universidade Federal de São João Del Rei, Sete Lagoas.

RODRIGUES, L. J. *et al.* Efeito do tipo de corte e de sanificantes no escurecimento de pequi minimamente processado. **Ciência e Agrotecnologia Lavras**, v. 35, p. 560-567, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000300018>.

RODRIGUES, R. **Conheça ingredientes do Cerrado que estão ameaçados de extinção**. 2017. Disponível em: <http://iasb.org.br/noticia/conheca-ingredientes-docerrado-que-estao-ameacados-de-extincao>. Acesso em 24 nov. 2020.

ROSLER, R. *et al.* Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.1, p. 53-60, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000100010>.

ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Identification and quantification of carotenoids, By HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n.13, p.5062-5072, 2007. <https://doi.org/10.1021/jf0705421>.

RUFINO, M. S. M. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996 – 1002, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.037>.

SACRAMENTO, C.K.; SOUZA, F.X. **Cajá (*Spondias mombin* L.)**. Jaboticabal: Funep. 2000. 42p.

SALES, V. F. Importância da preservação, potencialidades e viabilidade para exploração econômica de frutos de buriti. 2016. Monografia (Graduação em Agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília. 2016.

SAMPAIO, M. B. **Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável do buriti**. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza. 2011. 84p.

SAMPAIO, M. B.; CARRAZZA, L. R. **Manual tecnológico de aproveitamento integral do fruto e da folha do Buriti**. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza, 2012. 76p.

SANO, S. M.; RIBEIRO, F. J.; BRITO, M. A. **Baru: biologia e uso**. Planaltina. Embrapa – CPAC. 2004. 52p.

SANTANA, G. P. E.; JESUS, J. A. Estudo de metais presentes na *Mauritia flexuosa* L. e *Euterpe precatória* mart. da região do pólo industrial de Manaus. **Scientia Amazonia**, v. 1, n.1, p.21-24, 2012.

SANTOS, L. M. P. Nutritional and ecological aspects of buriti or aguaje (*Mauritia flexuosa* Linnaeus filius): A carotene-rich palm fruit from Latin America. **Ecology of Food and Nutrition**, v.44, n.5, p.345–358, 2005. <https://doi.org/10.1080/03670240500253369>.

SANTOS, M. N. G. Avaliação de polpa de cagaita (*Eugenia dysenterica* dc.) Submetida ao congelamento e atomização. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Goiás, 2015. Goiânia, 2015.

SANTOS, P. *et al.* Avaliação físico-química e sensorial do pequi (*Caryocar brasiliensis* camb.) submetido à desidratação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 12, p. 115-123, 2010. <https://doi.org/10.15871/1517-8595/rbpa.v12n2p115-123>.

SCHIASSI, M. C. E. V. *et al.* Fruits from the Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidante activities and sensory evaluation. **Food Chemistry**, v. 245, p. 305-311, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.104>.

SILVA, L. R. *et al.* Qualidade de frutos de genótipos de umbu-cajazeiras (*Spondias* sp.) oriundos da microrregião de Iguatu-CE. **Scientia Plena**, v.7, p.1- 7, 2011.

SILVA, M. M. M. Estudo do desenvolvimento fisiológico da cagaita (*Eugenia dysenterica*). 2016a. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016.

SILVA, M.R.; SANTOS JÚNIOR, R.T.O.J.; FERREIRA, C.C.C. Estabilidade da vitamina c em cagaita in natura e durante a estocagem da polpa e refresco. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 38, n.1, p. 53-58, 2008.

SILVA, S. M. *et al.* Characterization of oil extracted from buriti fruit (*Mauritia flexuosa*) grown in the Brazilian amazon region. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 86, n.1, p.611-616, 2009. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1400-9>.

SILVA, T. L. L. Cajá-maga (*Spondias mombin* L.): Caracterização fisiológica e avaliação do padrão respiratório. 2016b. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016.

SIQUEIRA, A. P. S. *et al.* Climatization for scheduled ripening of cajamanga. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, p. 424-428, 2017. <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.11565>.

SOARES, M. F.; SILVA, D. X. Investigação de compostos bioativos e atividade antioxidante em frutos do cerrado tocantinense. **Revista Cereus**, v.12, n.1, p.64-76, 2020.

SOUZA, R. G. M. *et al.* A baru almond-enriched diet reduces abdominal adiposity and improves high-density lipoprotein concentrations: a randomized, placebo controlled trial. **Nutrition**, v.55, p. 154-160, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2018.06.001>.

SOUZA, S.G.; LAJOLO, A.E.; GENOVESE, F.M. Chemical composition and antioxidant/antidiabetic potential of Brazilian native fruits and commercial frozen pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 8, p. 4666-4674, 2010. <https://doi.org/10.1021/jf903875u>.

TAVARES, M. *et al.* Composição química e estudo anatômico dos frutos de buriti do Município de Buritizal, Estado de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.62, n.3, p. 227-232, 2003.

TIBURSKI, J. H. *et al.* Nutritional properties of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) pulp. **Food Research International**, v. 44, p. 2326-2331, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.037>.

TORRES, L. R. DE O. *et al.* Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) almond oil attenuates carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in rats: Antioxidant and anti-inflammatory effects. **Food Chemical Toxicology**, v. 97, p. 205-216, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.09.009>.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, p. 816-823, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.054>.

VERA, R. *et al.* Características químicas de amêndoas de barueiros (*Dipteryx alata* Vog.) de ocorrência natural no cerrado do estado de Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, p. 112-118, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452009000100017>.

VERA, R. *et al.* Caracterização física e química de frutos do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) oriundos de duas regiões no Estado de Goiás, Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, n. 2, p. 93-99, 2007.

VILLACHICA, H. **Ubos (*Spondias mombin* L.)**. In: VILLACHICA, H. Frutales y hortalizas promisorios de la Amazonia. Lima: Secretaría Pro-Tempore/Tratado de Cooperación Amazónica, 1996. p.270-274.

YAHIA, E. M. **The contribution of fruit and vegetable consumption to human health**. In: ROSA, L. A.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; GONZALESAGUILARA, G. A. Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry, nutritional value and stability. Hoboken: Wiley-Blackwell. 2010. p. 03-51.

ZUFFO, A. M.; ANDRADE, F. R.; ZUFFO JÚNIOR, J. M. Caracterização biométrica de frutos e sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.) na região leste de Mato Grosso. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, p. 463-471, 2014.

Autores

Graciele Lorenzoni Nunes^{1,3,*}, Lucas Nojosa Oliveira², Shamara Ribeiro de Almeida³, Márcia Arocha Gularte⁴

1. Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* em Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil; Departamento de Nutrição, Faculdade Estácio de Sá de Goiás, Avenida Goiás, 2151, CEP. 74063-010 - St. Central, Goiânia, GO, Brasil.
2. Departamento de Biomedicina da Faculdade Estácio de Sá de Goiás, Avenida Goiás, 2151, CEP. 74063-010 - St. Central, Goiânia, GO, Brasil.
3. Departamento de Nutrição, Faculdade Estácio de Sá de Goiás, Avenida Goiás, 2151, 74063-010 - St. Central, Goiânia, GO, Brasil.
4. Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP. 96010-900, Pelotas, RS, Brasil.

* Autor para correspondência: graciele.nunes@estacio.com.br

