

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN*
VITRO EM POLPAS DE FRUTAS MISTAS
CONGELADAS**

ANA BEATRIZ FERREIRA BRITO

NATAL-RN

2017

ANA BEATRIZ FERREIRA BRITO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN*
VITRO EM POLPAS DE FRUTAS MISTAS
CONGELADAS**

*Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Nutrição da Universidade Federal do Rio
Grande do Norte.*

Orientadora: Prof.^a Dra. Renata Alexandra Moreira das Neves

Co-orientadora: Prof.^a Dra. Kátia Cristina Borges

NATAL-RN

2017

ANA BEATRIZ FERREIRA BRITO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN*
VITRO EM POLPAS DE FRUTAS MISTAS
CONGELADAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Graduação em Nutrição da
Universidade Federal do Rio Grande do Norte como requisito final para obtenção do grau de
Nutricionista.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Renata Alexandra Moreira das Neves
Orientadora - UFRN

Prof.^a Dra. Katia Cristina Borges
Co-orientadora - UFRN

Prof.^a Dra. Liana Galvão Bacurau Pinheiro
Professora - UFRN

Natal, 14 de junho de 2017.

Dedico este trabalho a todos que
contribuíram de forma direta e indireta para a
realização do mesmo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Fandovaldo Soares Brito e Luciene Ferreira da Silva que deram todo o apoio para que, diante de tanto trabalho e noites de sono perdidas, eu chegasse até onde cheguei. À minha irmã Karoline Ferreira Nascimento de Oliveira, que mesmo de longe, sempre mandou energias positivas. À minha avó Maria Augusta Ferreira da Silva que sempre esteve ao meu lado, dando palavras de conforto diante de qualquer situação, alegrando minhas manhãs de sábado e me fazendo a neta mais feliz e orgulhosa do mundo. E a toda a minha família, desde tios, primos até sobrinhos.

À minha orientadora Renata Alexandra Moreira das Neves, que se fez sempre presente e compromissada para a conclusão deste trabalho.

À minha co-orientadora, Katia Cristina Borges, que me recebeu de braços abertos em seu laboratório, sempre com um sorriso largo no rosto, com uma vontade imensa de ajudar o próximo. E a Thaís Veríssimo que, pacientemente, me acompanhou em todas as análises e mostrou-se sempre disposta a ajudar quando mais precisei.

Às minhas colegas de projeto, que junto comigo, deram o melhor de si para que tudo saísse da melhor forma possível.

Às minhas amigas, em especial Brunna Nayara Martins dos Santos, que sem dúvidas foi essencial nessa jornada e me deu forças quando nem eu mesma sabia de onde tirar.

E a esta universidade, que me proporcionou todos os recursos necessários para a realização desse trabalho.

Ana Beatriz Ferreira Brito

BRITO, Ana Beatriz Ferreira. **Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* em polpas de frutas mistas congeladas**. 2017. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição), Curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.

RESUMO

Polpas mistas de frutas congeladas comercializadas na cidade de Natal-RN foram submetidas a extrações sequenciais para obtenção de extratos metanólicos. Dos extratos metanólicos foi realizada a determinação do teor de fenólicos totais, a capacidade de sequestrar o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e a determinação do teor de carotenoides. O extrato metanólico da polpa C (caju, abacaxi, couve e hortelã) foi o que apresentou os maiores teores de fenólicos com $138,39 \pm 18,85$ mg/100g, seguido da polpa B (abacaxi, couve-folha e hortelã) com $68,02 \pm 12,65$ mg/100g e depois a polpa A (abacaxi, couve-folha e hortelã) com $29,09 \pm 1,35$ mg/100g. Para a atividade antioxidante, a polpa C mais uma vez destacou-se com $27,4 \pm 0,50$ μ mol/100g, seguido da polpa B com valores de $24,4 \pm 0,74$ μ mol/100g e logo após a polpa A com $15,2 \pm 1,8$ μ mol/100g. E com relação ao teor de carotenoides, a polpa A mostrou-se com os maiores valores apresentando $83,80 \pm 2,29$ mg/100g, seguido da B com $74,59 \pm 0,785$ mg/100g e a polpa C com $49,84 \pm 0,426$ mg/100g. Diante dos resultados, conclui-se que as polpas congeladas de frutas apresentam compostos fenólicos e carotenoides, além de substâncias com atividade antioxidante, contribuindo para promoção dos benefícios à saúde.

Palavra-chave: compostos fenólicos, carotenoides, caju, abacaxi, DPPH

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVOS	10
2.1 GERAL.....	10
2.2 ESPECÍFICOS	10
3. REVISÃO DA LITERATURA	11
3.1 FRUTAS.....	11
3.2 POLPA DE FRUTA	12
3.3 COMPOSTOS BIOATIVOS.....	14
3.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	15
3.4.1 Métodos para determinação da atividade antioxidante	17
4. MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS.....	19
4.2 AVALIAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS	20
4.2.1 Obtenção dos extratos para determinação dos compostos fenólicos e atividade antioxidante	20
4.2.2 Determinação do teor de compostos fenólicos	21
4.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	22
4.4 DETERMINAÇÃO DE CAROTENOIDES	23
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24
5. RESULTADOS	25
5.1 ESCOLHA DO SOLVENTE EXTRATOR.....	25
5.2 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	25
5.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	27
5.4 CAROTENÓIDES	28
6. CONCLUSÕES	30
REFERÊNCIAS	31

1. INTRODUÇÃO

A promoção de práticas alimentares saudáveis está inserida no contexto da adoção de estilos de vida saudáveis, sendo importante para a promoção da saúde. A busca por uma alimentação saudável e equilibrada está sendo adotada por uma grande parcela da população, visto sua importância na prevenção do surgimento de doenças crônicas como o câncer, doenças cardiovasculares, hipertensão, diabetes *mellitus* tipo 2, obesidade, além de estar intimamente ligada a uma melhoria da qualidade de vida (SILVA, 2013).

As frutas contêm substâncias que atuam no organismo humano modulando funções bioquímicas e/ou fisiológicas, que resultam em maior proteção à saúde, promovendo bem-estar, e sendo capazes de retardar processos patológicos que conduzem a doenças crônicas e degenerativas. Por isso, são reconhecidas como promotoras de benefícios à saúde, gozando do prestígio de alimentos funcionais, por desempenharem funções além das nutricionais conhecidas como fonte de energia e de substrato para formação de células e tecidos. Porém, vale salientar que as substâncias contidas nas frutas devem estar presentes em quantidades suficientes para promoverem seus efeitos (SGARBIERI; PACHECO, 1999).

O consumo de 4 a 5 porções de frutas, todos os dias, é recomendado visando à manutenção do peso saudável e a prevenção de algumas doenças crônicas não transmissíveis (Sichieri et al. 2000). Devido a crescente preocupação com a ingestão de alimentos saudáveis, o consumo de sucos de frutas processados está em ascensão, principalmente, em virtude da falta de tempo para preparar sucos de frutas *in natura* e pela facilidade e praticidade oferecida pelos produtos congelados (MATSUURA, 2002). Por essa razão, além de agregar os benefícios que as frutas apresentam, as polpas de frutas congeladas tornam-se uma alternativa bastante viável por trazer praticidade no preparo de sucos (COSTA, 2013; SILVA et al, 2016).

Em razão das importantes atividades biológicas e funcionais desempenhadas pelas frutas, polpas de frutas mistas que tem em sua composição frutas e vegetais verdes escuros, vêm sendo bastante comercializadas com alegação de saúde, auxiliando na desintoxicação do organismo, por poderem estimulá-la através da presença de fotoquímicos (MAHAN, 2010).

A associação entre a promoção da saúde e a praticidade advinda da polpa de fruta congelada é importante e necessária. Além disso, nos dias atuais, observa-se uma

demanda crescente do consumo desse produto, com grande potencial mercadológico, despertando o interesse de aprofundar estudos a esse respeito. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade antioxidante de polpas de frutas mistas congeladas, com alegações funcionais comercializadas na cidade de Natal-RN.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar a propriedade antioxidante de polpas de frutas mistas congeladas.

2.2 ESPECÍFICOS

- Obter extratos metanólicos das polpas de frutas mistas congeladas
- Determinar o teor de compostos fenólicos nos extratos metanólicos;
- Avaliar a atividade antioxidante nos extratos metanólicos;
- Determinar o teor de carotenoides nas polpas de frutas mistas congeladas.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 FRUTAS

A fruticultura é um dos setores de maior destaque do agronegócio brasileiro e apresenta uma grande diversidade de frutas durante o ano todo. Por ser um país de grande extensão e de climas variados, permite o cultivo tanto de frutas tropicais quanto de frutas de clima temperado ou frio (OETTERER, 2006). Visto essa grande diversidade, o consumo de frutas *in natura* ou processadas na forma de polpa é altamente recomendado.

As frutas *in natura* são nutritivas e contribuem com um alto conteúdo de carboidratos, fibras, minerais, vitaminas como o ácido ascórbico e carotenoides. Além de apresentarem compostos com atividade biológica como as substâncias fenólicas e flavonoides, protegendo as células contra danos oxidativos (FALLER, 2009).

Evidências epidemiológicas têm demonstrado que o consumo regular de frutas está associado à redução da mortalidade e morbidade por algumas Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT). Compostos fitoquímicos com ação antioxidante presentes nas frutas, como por exemplo, os polifenóis, têm apresentado efeito protetor nestes alimentos, contra doenças crônico-degenerativas (SILVA, 2013; MELO, et al., 2008).

Alguns estudos comprovam que a incidência e a progressão das doenças crônicas são, em parte, desencadeadas pelo balanço inadequado de componentes funcionais nos sistemas biológicos, como os compostos fenólicos, os carotenoides, os flavonoides, as antocianinas, a vitamina C, fibras, minerais dentre outros fitoquímicos comumente presentes em quase todos os frutos encontrados na fruticultura brasileira (NEVES, 2012; MAIA, 2007).

Partilhando do mesmo consenso, a Organização Mundial de Saúde (OMS) indica o consumo de frutas e hortaliças como prioridade nas políticas nutricionais e alimentares, contribuindo para redução do risco de DCNT (WHO, 2004). Além do consumo desse grupo de alimentos em no mínimo 5 dias na semana ser considerado marcador de alimentação saudável, a ingestão de 400 g diárias poderia evitar 1,7 milhões de mortes e 16 milhões de incapacidades anualmente no mundo (WHO, 2011; VIGITEL, 2014). Opinião também compartilhada por Skuladottir et al (2006), os quais verificaram que a ingestão aumentada de frutas e vegetais têm efeito favorável na melhora do quadro de pacientes com câncer de pulmão e, que mulheres que consomem 4 ou mais porções de legumes e frutas por

semana tem uma incidência menor de adenomas colorretais do que aquelas que consomem apenas uma porção semanal (MICHELS et al, 2006).

Para Figueira et al (2016) o principal fator motivador para o consumo de frutas e hortaliças está relacionado com a percepção de seus benefícios para saúde ou para prevenção/controlar de determinada doença. Porém, apesar da conscientização de todos os benefícios para o organismo, ainda se observa um baixo consumo de frutas e hortaliças pela maior parte da população. Uma pesquisa realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2011, revelou que o consumo médio de frutas, legumes e verduras (FLV) pela população brasileira é inferior (138g diárias) à metade recomendada pela OMS, o que pode estar associado ao custo elevado, uma vez que a situação econômica é decisiva para a aquisição desses alimentos (CLARO, 2010).

A conservação desses alimentos tem se tornado um grande desafio para a agroindústria, em vista do crescente aumento da cadeia de frutas e seus derivados. Devido à alta perecibilidade, elas não conseguem ser comercializadas em tempo hábil para o consumo, com garantida integralidade da estrutura física e preservação das características nutricionais e sensoriais, visto que há uma significativa perda causada pela deterioração das mesmas (SILVA et al, 2016; COSTA, 2013).

3.2 POLPA DE FRUTA

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) define polpa de fruta como um produto não fermentado, não concentrado e não diluído, obtido pelo esmagamento de frutos polposos, por meio de um processo tecnológico adequado com um teor mínimo de sólidos totais proveniente da parte comestível do fruto, específico para cada polpa de fruta (BRASIL, 2000).

Ainda de acordo com o mesmo regulamento, a polpa de fruta deve ser obtida de frutas sãs, limpas, isentas de matéria terrosa, de parasitas e detritos de animais ou vegetal. Não deverão conter fragmentos das partes não comestíveis da fruta, nem substâncias estranhas à sua composição normal, devendo ser observada também a presença ou ausência de sujidades, parasitas e larvas (BRASIL, 2000).

E com relação à definição de Polpa mista, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) também dispõe do decreto nº 6.871 de 4 de junho de 2009, a respeito do registro, padronização, classificação, inspeção e a fiscalização da

produção e do comércio de bebidas, que obedecem às normas fixadas pela Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994. E de acordo com o parágrafo único da seção II referente à Bebidas não alcoólicas, Polpa mista é a bebida obtida pela mistura de fruta polposa com outra fruta polposa ou fruta não polposa ou com a parte comestível do vegetal, ou com misturas destas, sendo a denominação constituída da expressão polpa mista, seguida da relação de frutas e vegetais utilizados, em ordem decrescente das quantidades presentes na mistura (BRASIL, 2009).

A produção de polpa de fruta congelada, antes concentrada somente na Região Nordeste, já se expandiu por todo o território nacional. É um negócio que, apesar de englobar grandes indústrias, está caracterizado pela presença de micro e pequenas empresas. O mercado tem crescido e disseminado-se em todos os estados como um importante segmento da cadeia produtiva (MATTA et al., 2005)

A alta perecibilidade dos frutos leva a perdas expressivas, o que tem incentivado produtores a desenvolver diversos processos tecnológicos, dentre os quais pode-se destacar a produção de polpas, que é considerado um processo agroindustrial importante por agregar valor econômico à fruta, evitar desperdícios e minimizar perdas que possam ocorrer durante a comercialização do produto *in natura*, além de permitir estender sua vida útil, através do armazenamento, com manutenção da qualidade (EVANGELISTA; VIEITES, 2006).

Outro fator que impulsionou e contribuiu para o desenvolvimento do comércio desses produtos nos últimos anos e conseqüentemente para o aumento da sua demanda foi a conscientização do consumidor quanto às vantagens de uma alimentação saudável baseada em uma dieta rica em frutas, com alto valor nutricional e ampla variedade de sabores exóticos e palatáveis.

A obtenção de um produto armazenável, a partir de alimentos altamente perecíveis, torna a produção de polpas de frutas congeladas um importante segmento da cadeia produtiva, favorecendo o aproveitamento integral das frutas, também na entressafra (SANTOS et al., 2014; SANTOS; BARROS, 2012) além de permitir a estocagem das frutas, na forma de polpa, fora da época de sua produção e preservar as propriedades originais da fruta, igualando a alimentação saudável à praticidade que os tempos modernos exigem. (COSTA, 2013; SILVA et al., 2016).

3.3 COMPOSTOS BIOATIVOS

Os compostos bioativos são substâncias químicas sintetizadas por organismos vivos, que apresentam efeitos biológicos em humanos e animais. Podem ser produzidos como mecanismo de defesa contra fatores adversos, sendo também chamados de metabólitos secundários (DENNY e BUTTRISS, 2007) e podem ser classificados como substâncias funcionais. Estes compostos têm atividades biológicas promotoras à saúde, tais como atividades antioxidantes, antiinflamatórias e hipocolesterolêmica (KWAK e JUKES, 2001).

Segundo a Resolução RDC nº2 de 07 de janeiro de 2002, os compostos bioativos são aqueles que estão presentes em fontes alimentares, sendo de origem natural ou sintética, que possuem ação metabólica ou fisiológica específica, desde que comprovada à segurança para o consumo humano (BRASIL, 2002).

Dentre as fontes alimentares, destaca-se os presentes nas plantas, que estão relacionados, principalmente, com a proteção, conferindo alta resistência a microrganismos e pragas. Nos alimentos, estes compostos podem influenciar o valor nutricional e a qualidade sensorial, conferindo atributos como cor, textura, amargor e adstringência. Na maioria dos vegetais, os compostos fenólicos constituem os antioxidantes mais abundantes (EVERETTE et al., 2010).

As frutas são as principais fontes dietéticas de polifenóis tanto em razão de fatores intrínsecos (cultivo, variedade, estágio de maturação) quanto extrínsecos (condições climáticas) e apresentam, quantitativamente e qualitativamente, composição variada desses constituintes. Vale salientar que a eficácia da ação antioxidante irá depender da estrutura química e da concentração de fitoquímicos no alimento (MELO, et al., 2008).

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

Os compostos fenólicos são produtos secundários produzidos por plantas que apresenta pelo menos um grupo fenol e entre as inúmeras atividades atribuídas a este grupo de compostos destaca-se a atividade de proteção contra estresse oxidativo por meio da capacidade de atuar como sequestrador de radicais livres e na quelatação de metais de transição (SANTOS et al, 2016). Este grande e complexo grupo age como antioxidante não apenas pela

habilidade em doar hidrogênios ou elétrons, mas também pela capacidade de seus radicais intermediários estáveis de impedir a oxidação de vários ingredientes do alimento, principalmente de lipídios (SILVA et al., 2010).

Para que os compostos fenólicos sejam considerados antioxidantes e possam exercer seu papel biológico é necessário que, em baixa concentração, sejam capazes de impedir, retardar e prevenir a auto oxidação ou oxidação mediada por radicais livres e que o produto formado após a reação seja estável (MILLER, 1996).

3.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

O papel da dieta na saúde humana vem recebendo atenção crescente nos últimos anos. Diversos estudos epidemiológicos mostram e indicam que a ingestão de produtos vegetais está associada com uma redução no risco de uma variedade de doenças crônicas como aterosclerose e câncer, e esses efeitos têm sido atribuídos aos compostos que possuem atividade antioxidante. As vitaminas C e E, os carotenoides, e os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides são os principais antioxidante nos vegetais e estes absorvem radicais livres e inibem a cadeia de iniciação ou interrompem a cadeia de propagação das reações oxidativas promovidas pelos radicais (PODSEDEK, 2007).

Dietas contendo uma quantidade elevada de frutas e vegetais podem aumentar significativamente a capacidade antioxidante do sangue. Em um estudo realizado com 123 pessoas num período de 11 semanas, examinaram-se os efeitos de três dietas diferentes no processo oxidativo. Um grupo de pessoas consumiu uma dieta rica em gordura e pobre em frutas e vegetais; o segundo grupo recebeu uma dieta pobre em gordura e rica em frutas e vegetais; e o terceiro grupo consumiu dieta rica em gordura, frutas e vegetais. Foi medida a produção de etano expirado, um marcador do processo oxidativo, sendo essa medida reduzida nas dietas ricas em frutas e vegetais. Esses participantes também mostraram uma resistência maior ao dano oxidativo (MILLER et al., 1998).

Devido aos seus grandes benefícios a saúde, a aderência da população aos alimentos *in natura* é crescente, simultaneamente com a progressiva busca à alimentos e dietas denominadas detox. Esses alimentos são utilizados para intervenções de curto prazo destinadas a eliminação de toxinas do corpo, promoção da saúde e auxílio na perda de peso (ALLEN, 2011).

O pensamento atual a respeito de uma melhor saúde em função de uma alimentação para desintoxicação está baseado em um sistema de escolha de alimentos para proteger, manter ou renovar o organismo. O organismo é protegido contra xenobióticos (compostos estranhos ao organismo) por barreiras naturais, incluindo o sistema gastrointestinal, os pulmões e a pele. Porém, os alimentos também podem ser capazes de realizar o mesmo mecanismo (MAHAN, 2010).

Os mecanismos para a associação de alimentos e nutrientes à desintoxicação estão sendo explorados, mas sugere-se que fitoquímicos estejam envolvidos, juntamente com nutrientes mais tradicionais que produzem e apoiam os sistemas enzimáticos. Alimentos que tem em sua composição fitoquímicos que estimulam a desintoxicação incluem vegetais como brócolis e couve, sucos de vegetais frescos, clorofila em vegetais com folhas verde-escuras entre outros (MAHAN, 2010).

Um estudo realizado por Nogueira et al (2016) com a finalidade de avaliar o uso de dietas veiculadas pela mídia utilizadas por desportistas frequentadores de um clube e academias de São Paulo mostrou que relativo aos alimentos da moda, 62% dos desportistas acreditam que contribuem para perda de peso independentemente de inseri-los na alimentação ou não e quanto às dietas da moda, a dieta mais frequente e conhecida é a dieta Detox.

Os alimentos *detox* também são utilizados para tratar pacientes, visto que em uma recente pesquisa realizada nos EUA demonstrou que 92% dos médicos naturopatas (medicina alternativa que incide principalmente sobre a capacidade de cura natural de cada indivíduo) entrevistados fazem uso de terapias de desintoxicação para tratar pacientes e 75% relataram o uso de medidas de desintoxicação à base de dieta (KLEIN, 2015). As razões mais comuns para a prescrição desse tipo de terapia são a exposição ambiental a toxinas, medicina preventiva, desordens gastrointestinais, doença autoimune, fibromialgia, síndrome da fadiga crônica e perda de peso.

Todavia, é importante ressaltar que a dieta Detox é divulgada e utilizada sob a justificativa de que auxilia a remoção de substâncias tóxicas do corpo, contudo, independente da utilização dessa dieta, o corpo elimina as toxinas pelos rins, fígado e cólon, e não é possível aumentar suas funções sem tratamento médico (CLEMENS; PRESSMAN, 2005).

As substâncias antioxidantes podem apresentar diferentes propriedades protetoras e agir em diversas etapas do processo oxidativo, funcionando por diferentes mecanismos. São, portanto, classificadas em duas categorias principais: antioxidantes

primários e secundários. São considerados primários os compostos de ação antioxidante capazes de inibir ou retardar a oxidação por inativação de radicais livres graças à doação de átomos de hidrogênio ou de elétrons, o que transforma os radicais em substâncias estáveis. Os secundários apresentam uma grande variedade de modos de ação: ligação de íons metálicos (alteração de valência); inativação de ERO, conversão de hidroperóxidos em espécies não-radicalares ou absorção de radiação UV (MAISUTHISAKUL; SUTTAJIT; PONGSAWATMANIT, 2007).

3.4.1 Métodos para determinação da atividade antioxidante

Para um antioxidante ser considerado eficaz, são necessárias algumas características, por exemplo, ter a presença de substituintes doadores de elétrons ou de hidrogênio ao radical, em função de seu potencial de redução; capacidade de deslocamento do radical formado em sua estrutura; capacidade de quelar metais de transição implicados no processo oxidativo; e acesso ao local de ação, dependendo de sua hidrofília ou lipofília e de seu coeficiente de partição (MANACH et al., 2004).

Entretanto, as metodologias para a determinação da capacidade antioxidante são numerosas e podem estar sujeitas a interferências, além de se basearem em fundamentos diversos. Dessa forma, levando-se em conta os pontos fortes, pontos fracos e aplicabilidade de cada tipo de ensaio, atualmente preconiza-se a utilização de duas ou mais técnicas, já que nenhum ensaio utilizado isoladamente para determinar a capacidade antioxidante irá refletir exatamente a “capacidade antioxidante total” de uma amostra (HUANG et al., 2005).

Existem vários métodos para avaliar a ação antioxidante dos compostos presentes nos alimentos, e os mais utilizados para determinar a capacidade antioxidante *in vitro* são o DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic 45 acid), ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) e FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).

O método que utiliza o DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) é um método químico, aplicado para determinar a capacidade antioxidante de um composto em sequestrar radicais livres, sendo um dos mais utilizados, pois ele é considerado um método rápido, prático, preciso, altamente sensível, simples, econômico e com boa estabilidade (OLIVEIRA, 2015; SUCUPIRA et al, 2012). A redução do radical DPPH é monitorada pelo decréscimo da

absorbância durante a reação (HUANG et al., 2005; BRAND-WILLIANS et al., 1995). Os radicais livres de DPPH, que inicialmente apresentam cor roxa por possuírem elétron livre, perdem esta cor quando um radical hidrogênio doado por uma molécula antioxidante entra em ressonância com a molécula de DPPH, diminuindo-se assim, a absorbância. O DPPH é um radical estável e com baixa taxa de deterioração e reatividade com a maioria dos compostos. Assim sendo, apenas reagentes redutores fortes são capazes de reagir com estes radicais estáveis em um modo estequiométrico. A baixa absorbância indica atividade sequestrante de radicais livres (SANTOS et al., 2007).

O método do ABTS está baseado na habilidade dos antioxidantes em capturar o cátion ABTS. Esta captura provoca um decréscimo na absorbância, que é lida a partir da mistura do radical com o antioxidante em diferentes tempos, sendo representadas graficamente (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006). Apresenta vantagem em relação a outros métodos por poder ser utilizado para amostras hidrossolúveis e também lipossolúveis, além de ser um método rápido e apresentar excelente estabilidade (KUSKOSKI et al., 2005).

O método ORAC consiste na medida do decréscimo da fluorescência das proteínas, como consequência da perda de sua conformidade ao sofrer dano oxidativo. Utiliza-se como molécula alvo dos radicais livres de oxigênio as ficobiliproteínas β -ficoeritrinas ou R-ficoeritrina (PE), altamente fluorescentes, que contêm um pigmento vermelho fotorreceptor (PRIOR; CAO, 1999). Uma vantagem do método ORAC em relação aos outros métodos que determinam através da absorbância é a utilização da fluorescência como medida do dano oxidativo, pois dessa forma verifica-se menos interferência de compostos coloridos que possam estar presentes nas amostras (LIMA, 2008).

Por fim, no método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) o complexo férrico-tripiridiltriazina (FeIII-TPZ) é reduzido ao complexo ferroso (FeII-TPZ), na presença de um antioxidante e em condições ácidas. O complexo formado por esta reação possui uma coloração azul intensa, com absorção máxima a 593 nm (BENZIE; STRAIN, 1996).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram adquiridas no mercado da cidade de Natal/RN, no mês de agosto de 2016, três tipos de polpas de fruta mistas processadas contendo frutas e vegetais verde-escuros na composição, de duas marcas diferentes, as quais foram denominadas polpa A, polpa B e polpa C. Obteve-se no comércio, duas caixas de um mesmo lote, para cada tipo de polpa. Cada caixa continha quatro embalagens menores contendo 100g, totalizando 400g de polpa por caixa. Os ingredientes listados nas embalagens das polpas estão descritos no quadro 1.

Quadro 1. Informações listadas na embalagem das polpas de frutas mistas congeladas adquiridas no comércio da cidade de Natal/RN no mês de agosto de 2016.

Polpas	Ingredientes listados	Validade
A (marca 1)	Abacaxi (<i>Ananas comosus</i>), hortelã (<i>Mentha</i>), couve-folha (<i>Brassica oleracea var. sabellica</i>), espinafre (<i>Spinacia oleracea</i>) e gengibre (<i>Zingiber officinale</i>).	Junho de 2017
B (marca 2)	Abacaxi (<i>Ananas comosus</i>), couve-folha (<i>Brassica oleracea var. sabellica</i>) e hortelã (<i>Mentha</i>)	04 de setembro de 2017
C (marca 2)	Caju (<i>Anacardium occidentale</i>), abacaxi (<i>Ananas comosus</i>), couve-folha (<i>Brassica oleracea var. sabellica</i>) e hortelã (<i>Mentha</i>)	21 de setembro de 2017

Após a obtenção no comércio, as polpas foram transportadas imediatamente para o Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Nutrição da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) em caixas térmicas e armazenadas em freezer, a -24°C, na embalagem original. As análises foram realizadas no período de máximo 30 dias após a aquisição dos produtos.

4.2 AVALIAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

4.2.1 Obtenção dos extratos para determinação dos compostos fenólicos e atividade antioxidante

Para a preparação dos extratos, as polpas foram submetidas a uma extração sequencial, segundo metodologia descrita por Melo et al (2008). Inicialmente, 100g de polpa foram diluídas em 100 ml de água, de acordo com as recomendações do fabricante. Após a homogeneização, utilizando liquidificador doméstico, as amostras foram transferidas para tubos tipo falcon e centrifugadas na centrífuga Excelsa 4, a 3800 rpm a 20°C por 20 minutos. Após a centrifugação, as amostras foram filtradas utilizando papel de filtro qualitativo Nalgon 33cm. O sobrenadante aquoso foi armazenado em frasco de vidro âmbar no freezer a -24°C, para futuras análises. Os resíduos resultantes do processo de filtração foram retirados do papel de filtro com muito cuidado e juntamente com o precipitado foram ressuspensos em 30 mL de metanol a 80%, sendo posteriormente submetidos à centrifugação e filtração sob as mesmas condições. O sobrenadante 2 (extrato metanólico) foi armazenado em frasco de vidro âmbar no freezer a -24°C até o momento da análise. O processo de obtenção do extrato metanólico é apresentado na figura 1.

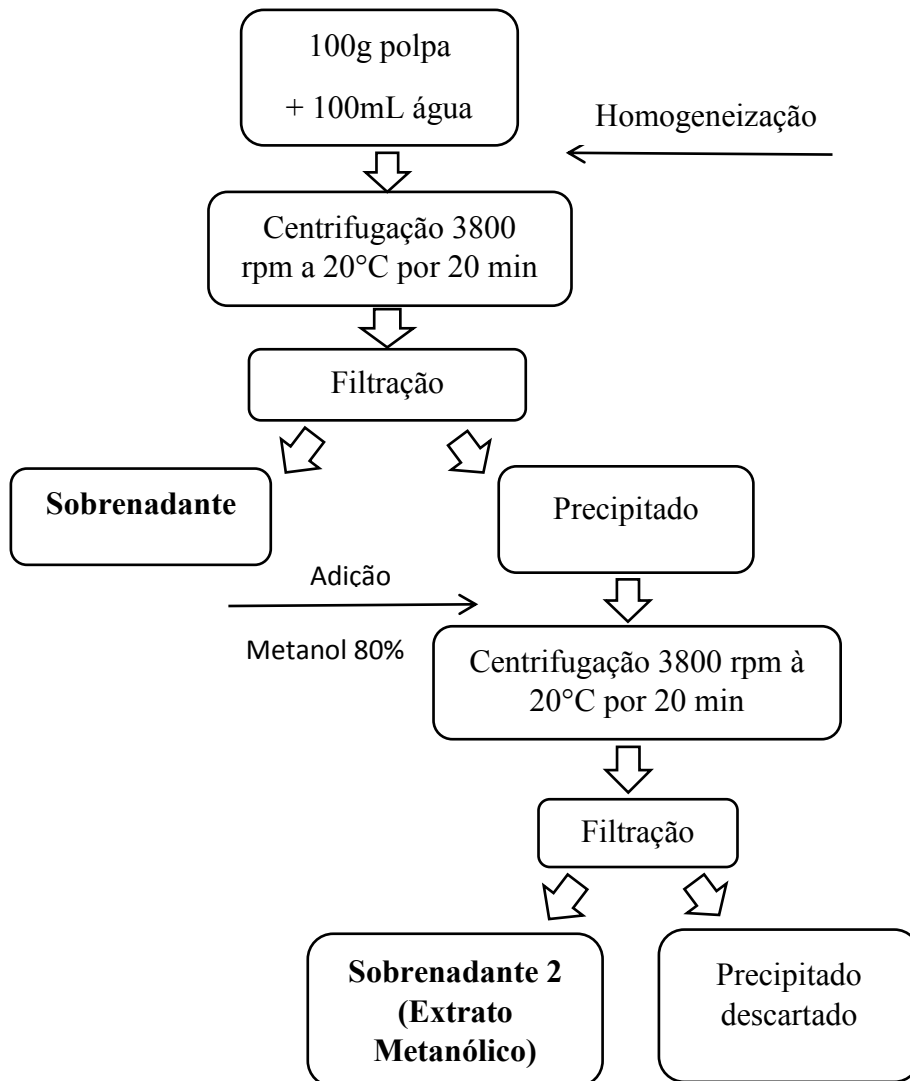


Figura 1. Fluxograma referente à obtenção do extrato aquoso e metanólico (80%) a partir das polpas de frutas mistas.

4.2.2 Determinação do teor de compostos fenólicos

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada segundo a metodologia descrita por Fujita et al. (2013) utilizando o reagente Folin Ciocalteu.

Do extrato metanólico de cada amostra, foi tomado 250 μ L e adicionado 2 mL de água destilada e 250 μ L do reagente Folin Ciocalteu em tubos de ensaio. A solução foi homogeneizada em agitador de tubos (AP 56 Phoenix) e, após 3 minutos, foi acrescentado 250 μ L de solução saturada de carbonato de sódio. Posteriormente, foram colocadas em banho maria com agitação (SL 155 SOLAB) à 37°C por 30 minutos. Após decorrido esse tempo, foram realizadas as leituras em triplicata das absorbâncias em espectrofotômetro UV-visível

(Genesys 10S VIS Thermo Scientific) a 750 nm. Foi utilizado o ácido gálico como padrão, nas concentrações de 10, 25, 50, 100 e 200 $\mu\text{g/mL}$, para construir uma curva de calibração. O resultado foi expresso em mg eq AG/100g.

O processo de determinação do teor de compostos fenólicos está representado na figura 2.

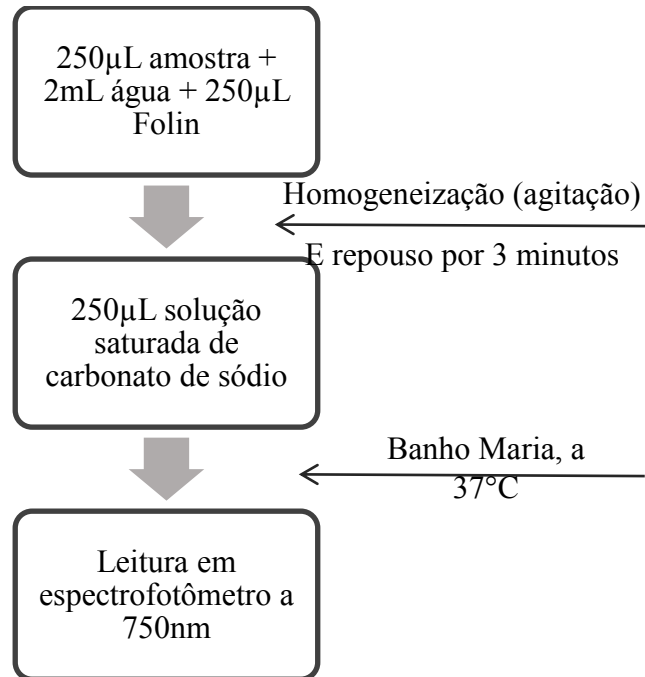


Figura 2. Fluxograma referente ao processo de quantificação de compostos fenólicos a partir do extrato metanólico das polpas mistas.

4.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante foi determinada por meio da capacidade dos antioxidantes presentes nas amostras em seqüestrar o radical estável DPPH segundo a metodologia descrita por Duarte-Almeida et al (2006).

Para o preparo do reagente, foi necessário diluir 0,004g de DPPH em 100 ml de metanol. Após isso, foram adicionados 40 μL do extrato e 200 μL da solução de DPPH em microplacas de polietileno, e para o preparo do branco foram adicionados 200 μL da solução de DPPH e 40 μL de metanol nas microplacas. Posteriormente, as amostras descansaram por 25 minutos em ambiente protegido de luz e a partir daí realizada as leituras em espectrofotômetro a 517 nm. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e acompanhadas de um controle (Branco = solução de DPPH + Metanol). A queda na leitura da absorbância das amostras foi correlacionada com o controle, estabelecendo-se a porcentagem

de descoloração do radical DPPH conforme a equação a equação 1. Como solução padrão foi utilizado o Trolox nas concentrações de 0, 50, 100, 150, 200 e 250. A partir da equação da reta obtida foi realizado o cálculo do teor de antioxidantes, expressos em Eqv/Trolox.

O processo de determinação da atividade antioxidante está representado na figura 3.

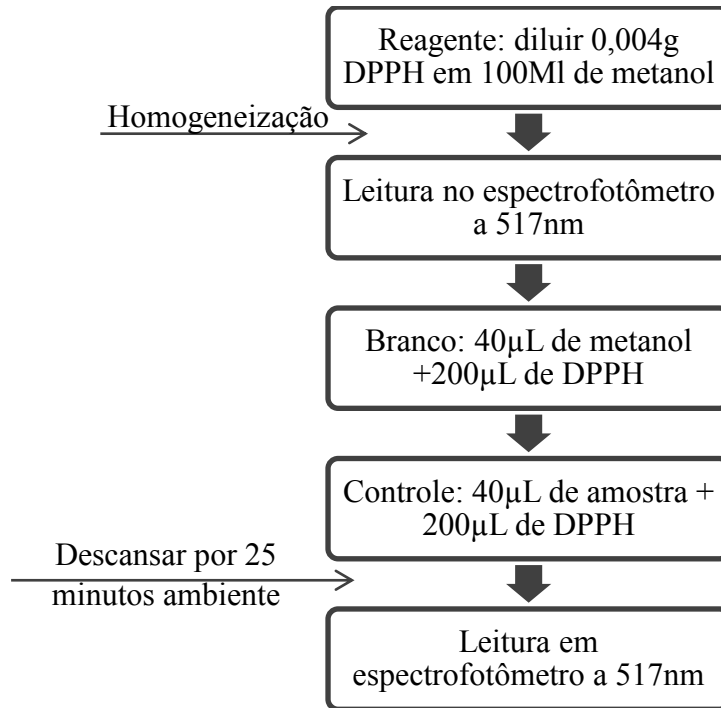


Figura 3. Fluxograma referente ao processo de determinação da atividade antioxidante a partir do extrato metanólico das polpas mistas.

4.4 DETERMINAÇÃO DE CAROTENOIDES

A determinação de carotenoides foi realizada através do método espectrofotométrico descrito por Lichtenthaler e Buschmann (2001).

Foram pesados 0,3g de amostra (polpa de fruta) em tubo com tampa rosqueada e submetidos à extração com 18 ml de acetona. Em seguida, os extratos foram homogeneizados por 30 segundos em agitador de tubos (AP 56 da marca Phoenix), filtrados em papel de filtro qualitativo da marca Nalgon 33cm e submetidas à leitura em espectrofotômetro UV-visível (Genesys 10S VIS Thermo Scientific) em 3 comprimentos de onda diferentes: 470 nm, 645 nm e 662 nm. Todas as determinações foram realizadas em triplicata acompanhadas de um controle.

Os extratos obtidos foram filtrados e as amostras foram submetidas à leitura em espectrofotômetro e os resultados expressos em $\mu\text{g}/100\text{g}$. O processo de determinação do teor de carotenoides está representado na figura 4.

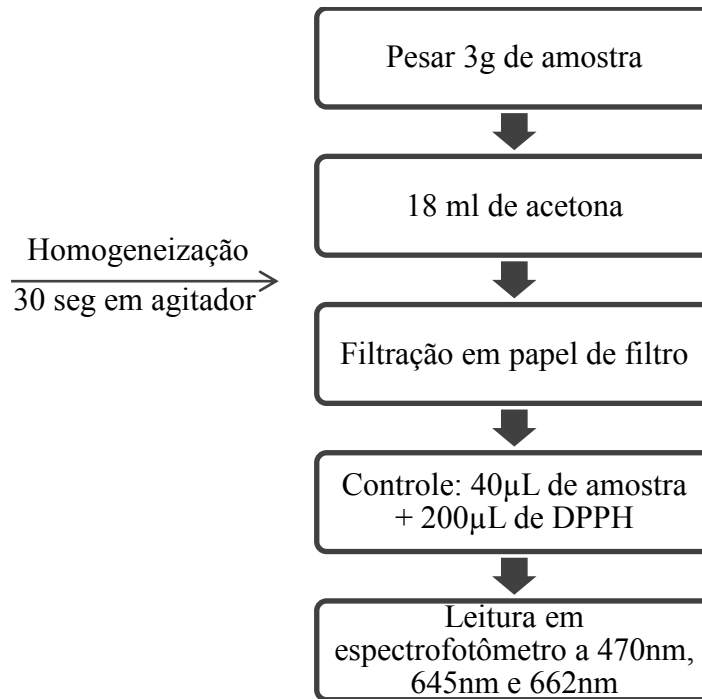


Figura 4. Fluxograma referente ao processo de quantificação de carotenoides a partir das polpas mistas.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram submetidos à análise por estatística descritiva, sendo expressos como média \pm desvio-padrão. A análise estatística foi realizada utilizando o software Graphpad Prism (versão 5.03), empregando-se a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para determinar as diferenças entre as médias dos grupos a um nível de significância $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1 ESCOLHA DO SOLVENTE EXTRATOR

Com relação à eficiência do solvente de extração, evidencia-se que nessas polpas de fruta há uma mistura de diferentes compostos fenólicos, com polaridade diversificada, visto que houve a extração através do solvente utilizado, o metanol 80%.

O metanol foi escolhido como solvente por conseguir extrair elevada quantidade de compostos bioativos, e por isso tem sido apontado como o mais efetivo (DE OLIVEIRA et al., 2009). Além disso, segundo Goulart et al. (2009), que analisou extratos metanólicos de farinhas de resíduos de acerola (FRAC), maracujá (FRMA) e abacaxi (FRAB), observou que esses exibem capacidade antioxidante e que podem, inclusive, ser úteis como suplementos antioxidantes ou aditivos alimentares, em particular o extrato da acerola.

Em um estudo realizado por Razali et al. (2008), que utilizou o ensaio de Folin-Ciocalteu, observou-se que o extrato metanólico de brotos de caju apresentou 7 vezes o conteúdo total de fenóis quando comparado ao extrato hexânico e em acetato de etila. Portanto, justifica-se, mais uma vez, a escolha do metanol como solvente extrator.

Ademais, Freire et al. (2013) que objetivou quantificar compostos fenólicos e avaliar a atividade antioxidante dos extratos acetônico-etanólico e acetônico-metanólico de frutos de acerola, caju, goiaba e morango e suas respectivas polpas congeladas, verificou que o extrato acetônico-metanólico foi mais efetivo para extrair os compostos antioxidantes das amostras.

5.2 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A tabela 1 apresenta os resultados do conteúdo de fenólicos totais das três diferentes polpas de frutas mistas congeladas obtidas pela extração sequencial metanólica.

Verifica-se que todas as polpas de frutas apresentaram quantidades diferentes de fenólicos totais, com destaque para a polpa C com $138,39 \pm 18,85$ mg/100g de fenólicos totais no extrato metanólico, exibindo o mais elevado teor destes constituintes, entre as polpas estudadas, sendo estatisticamente diferentes das demais ($p < 0,05$).

Tabela 1. Teores de fenólicos totais expressos em mg ácido gálico por 100g de polpa de fruta congelada.

Amostras	Teores de fenólicos totais (mgEAG/100g de polpa)
Polpa A	29,09 ± 1,35 ^a
Polpa B	68,02 ± 12,65 ^b
Polpa C	138,39 ± 18,85 ^c

Médias de três repetições analíticas ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem significativamente, segundo o teste de Tukey a 5%.

Os teores de compostos fenólicos totais das polpas congeladas de frutas obtidas neste estudo usando metanol 80% foram ligeiramente inferiores aos relatados por outros autores. Hassimotto, et al. (2005), utilizando como solvente extrator o metanol a 70%, encontraram valores de fenólicos totais de 234 mg/100g para polpa de caju comercializada em São Paulo - SP. Vieira, et al. (2011) também analisaram os compostos fenólicos de extratos hidroalcoólicos (álcool etílico 95%) de polpas de caju, apresentando valores de 165,07 ± 4,10 mg/100g. Enquanto que na polpa C analisada, o valor observado foi de 138,39 ± 18,85 mg/100g.

Com relação às polpas A e B, os teores de fenólicos encontrados correspondem a 29,09 ± 1,35 e 68,02 ± 12,65 mgEAG/100g, respectivamente. Melo, et. al (2008), ao avaliarem o teor de compostos fenólicos em extrato metanólico 80% da polpa de abacaxi, obtiveram 2,58 ± 1,24 mg/Catequina/100g, valor inferior ao obtido no presente estudo.

Ainda com relação às polpas A e B, apesar de apresentarem semelhança entre os ingredientes, houve discrepância entre os teores de fenólicos totais. A polpa B, como citado anteriormente, apresentou concentrações maiores de fenólicos totais quando comparado com a polpa A. Essas polpas são de marcas diferentes e possuem ingredientes distintos. Além disso, os mesmos ingredientes presentes nas duas polpas podem apresentar diferenças no estágio de maturação, espécie, práticas de cultivo, origem geográfica, estágio de crescimento, condições de colheita e processo de armazenamento das frutas. Todos esses fatores podem influenciar nos teores desses compostos. A peculiaridade metodológica relacionada ao solvente extrator e aos fenólicos usados como padrão para a quantificação dos compostos fenólicos também podem contribuir para as diferenças observadas (VIEIRA et al., 2011; SOARES, 2008).

5.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A tabela 2 demonstra os resultados da atividade antioxidante dos extratos metanólicos proveniente das diferentes polpas mistas. A atividade antioxidante total das polpas de fruta oscila entre mínimos e máximos, de 15,2 $\mu\text{mol Trolox}/100\text{g}$ a 27,4 $\mu\text{mol}/100\text{g}$. A polpa C destacou-se mais uma vez, pois além de apresentar o maior teor de fenólicos, exibiu a maior atividade antioxidante, com valores de $27,4 \pm 0,50 \mu\text{mol}/100\text{g}$, seguido novamente da polpa B com valores de $24,4 \pm 0,74 \mu\text{mol}/100\text{g}$ e pela polpa A com $15,2 \pm 1,8 \mu\text{mol}/100\text{g}$.

Tabela 2. Capacidade antioxidante pelo método DPPH de extratos metanólicos obtidos de diferentes polpas de fruta.

Amostras	Capacidade antioxidante ($\mu\text{mol Trolox}/100\text{g}$ de polpa)
Polpa A	$15,2 \pm 1,8^a$
Polpa B	$24,4 \pm 0,74^b$
Polpa C	$27,4 \pm 0,50^c$

Médias de três repetições analíticas \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem significativamente, segundo o teste de Tukey a 5%.

Em um estudo realizado por Rockenbach et al., 2007, que utilizou metanol 50% na análise da atividade antioxidante de extratos metanólicos de bagaços de uva, encontrou valores de $454 \pm 20 \mu\text{mol Trolox}/\text{g}$, evidenciando que através do metanol também é possível extrair compostos bioativos.

Moraes (2014) objetivando avaliar a polpa de caju amarelo desidratado do ponto de vista físico-químico e bioativo, verificou que a polpa de caju *in natura* apresentou valores de 48,29 $\mu\text{mol Trolox}/\text{g}$ expressa em base seca, enquanto que a polpa C que tem o caju como ingrediente prioritário, mostrou valores de $27,4 \pm 0,50 \mu\text{mol Trolox}/100\text{g}$. Vale salientar que o estudo realizado por Moraes (2014) expressou os resultados através de $\mu\text{mol Trolox}/\text{g}$, enquanto no presente estudo foi expresso por $\mu\text{mol Trolox}/100\text{g}$.

Babbar et al. (2011) demonstraram que a atividade antioxidante pode ser atribuída aos ascobartos, carotenoides, tocoferóis, terpenos e pigmentos e não apenas destinada aos compostos fenólicos.

Houve uma dificuldade de comparação dos resultados obtidos com outros estudos visto que a capacidade antioxidante é influenciada por diversos fatores: pelo substrato utilizado no ensaio, pelo solvente, pela técnica de extração utilizada e também pelo binômio tempo-temperatura (OLIVEIRA et al., 2009). Além do mais, há outro obstáculo que bloqueia e dificulta a comparação dos dados, que seria a forma de expressão dos resultados. A maioria dos autores expressa seus resultados através da porcentagem de descoloração e também por EC50. E no presente estudo foi preconizada a expressão por $\mu\text{mol Trolox}/100\text{g}$.

Ainda, há também escassez de estudos na literatura que abordem a respeito da atividade antioxidante em polpas mistas de fruta. Os vegetais, em particular as frutas, apresentam em sua constituição vários compostos com ação antioxidante, os quais incluem o ácido ascórbico, carotenóides e polifenóis. A quantidade e o perfil destes fitoquímicos variam em função do tipo, variedade e grau de maturação da fruta bem como das condições climáticas e edáficas do cultivo (LEONG, SHUI, 2002).

5.4 CAROTENÓIDES

De acordo com os resultados expressos na tabela 3, verifica-se que a polpa A e B apresentaram os maiores teores de carotenoides. A polpa C apresentou o menor teor de carotenoides. Nota-se que, diferentemente do que ocorreu nas determinações de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, apesar do não uso do metanol para a extração, a polpa C que vinha apresentando sempre os melhores resultados nas duas determinações anteriores, obteve os menores teores de carotenoides entre as três amostras, e a polpa A que mostrou-se sempre com os menores resultados nas duas determinações anteriores, obteve na determinação de carotenoides o maior teor.

Tabela 3. Teor de carotenoides em extrato metanólico de diferentes polpas de fruta congeladas.

Amostras	Carotenoides (mg/100g de polpa)
Polpa A	$83,80 \pm 2,29^a$
Polpa B	$74,59 \pm 0,78^{ab}$
Polpa C	$49,84 \pm 0,426^b$

Médias de três repetições analíticas \pm desvio padrão. Letras minúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente, segundo o teste de Tukey a 5%.

No que se refere às polpas A e B, que tem como principal componente o abacaxi, ambas mostraram resultados superiores quando comparadas aos resultados obtidos por Lima (2011) que formulou néctares mistos de frutas tropicais, entre eles um blend de abacaxi e cajá. Este, obteve resultados de $0,23 \pm 0,01$ mg/100g, enquanto que a polpa A e B apresentaram valores de $83,80 \pm 2,29$ mg/100g e $74,59 \pm 0,785$, respectivamente.

Lima (2011) também analisou o teor de carotenoides no blend de caju e abacaxi e obteve resultados de $0,48 \pm 0,03$ mg/100g. Ou seja, verifica-se que a polpa C com resultados de $49,84 \pm 0,426$ mg/100g apresentou valores levemente superiores ao destacado pelo estudo, assim como verificado nas polpas A e B.

Segundo Almada (2013), que teve como objetivo avaliar o efeito hepatoprotetor da polpa de caju, os teores de carotenoides observados na polpa de caju foram de $0,71 \pm 0,004$ mg/100g. Resultados estes pouco superiores aos obtidos no presente estudo, quando comparamos com os resultados da polpa C $49,84 \pm 0,426$.

Além disso, MENEZES et al. (2013) que objetivou verificar o teor de carotenoides em polpas de acerolas congeladas, demonstrou resultados também inferiores às 3 polpas mistas analisadas no presente estudo, $23,49 \pm 5,75$ caroteno em mg/100ml. Estes resultados podem, possivelmente, ter diferido em virtude do tipo da fruta utilizada para a análise, que nesse caso foi a acerola.

6. CONCLUSÕES

Todas as polpas congeladas de frutas, mais especificamente os seus extratos metanólicos, apresentaram quantidades relevantes de compostos fenólicos, carotenoides e exibiram ação antioxidante. A polpa C (caju, abacaxi, couve e hortelã) exibiu a maior atividade antioxidante, enquanto que a polpa A (abacaxi, couve, hortelã, espinafre e gengibre) apresentou a menor atividade antioxidante. Apesar disso, independente da atividade antioxidante de cada polpa de fruta, as polpas congeladas de frutas podem ser consideradas como produtos que apresentam importante fonte de antioxidantes dietéticos.

REFERÊNCIAS

1. ALLEN, J.; MONTALTO, M.; LOVEJOY, J. (2011) Detoxification in naturopathic medicine: a survey. **J Altern Complement Med** 17, 1175–1180.
2. ALMADA, C. N. Atividades antioxidante e hepatoprotetora da polpa de caju (*Anacardium occidentale* L.) e ácidos anacárdicos em resposta ao estresse induzido por paracetamol. 2013. 78 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.
3. BABBAR, N.; OBEROI, H.S.; UPPAL, D.S.; PATIL, R.T. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruits residues. **Food Research International**, v. 44, p. 391-396, 2011.
4. BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.
5. BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**, London, v. 28, p. 25-30, 1995.
6. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº2, de 02 de janeiro de 2002**. Aprova o regulamento técnico das substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedade funcional e ou de saúde. Brasília, DF. ANVISA, 2002. Disponível em: Acesso em: 15 nov. 2016.
7. BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, de 7 de janeiro de 2000. Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de frutas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2000.
8. BUENO, S. M. R. V.; GRACIANO, R. A. S.; FERNANDES, E. C. B.; GARCIA-CRUZ, C. H. Avaliação da qualidade de polpas de frutas congeladas. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 62, n. 2, p. 121-126, 2002.
9. CLARO, R.M; MONTEIRO C.A. Renda familiar, preço de alimentos e aquisição domiciliar de frutas e hortaliças no Brasil. **Rev Saúde Pública** 2010; 44: 1014-20.
10. Clemens R, Pressman P. Detox diets provide empty promises. **Food Technology**. 2005; 59(5):18.
11. COOPERSTONE, J. L.; SCHWARTZ, S. J. Recent Insights Into Health Benefits of Carotenoids. In: Carle, R., Schweiggert, R.M. (Eds.), **Handbook on Natural**

- Pigments in Food and Beverages: Industrial Applications for Improving Food Color**, Columbus, First Edition, p. 473-497, 2016.
12. COSTA, D. O. da; CARDOSO, G. R.; SILVA, G. M. V. da. A evolução do setor produtivo e comercialização de polpa de fruta no brejo paraibano: estudo de caso na coaprodes. In: A Gestão dos processos de produção e as parcerias globais para o desenvolvimento sustentável dos sistemas produtivos, 33, 2013, Salvador, Ba. **XXXIII ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUCAO**. Salvador, Ba, 2013. p. 01 - 16.
 13. DAMODARAN, S.; PARKIN, K.; FENNEMA, O. R. **Fennema's food chemistry**. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2008. 1144 p.
 14. DASTMALCHI, K.; DORMAN, H.; KOSAR, M.; HILTUNEN, R. Chemical composition and in vitro antioxidante evaluation of water-soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldávica* L.) extract. **LWT-Food Science and Technology**. v. 40, n. 2, p. 239-248, 2007.
 15. DENNY, A. e BUTTRISS, J. Synthesis Report No 4: Plants Foods And Health: Focus on plant bioactives. **British Nutrition Foundation**, 2007. Disponível em: <http://www.ipfn.ie/download/pdf/eurofir_report_plant_bioactives.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2016.
 16. DE OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; DE BARROS, M. P.; MANO, C. M.; GOULART, M. O. F. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. *Food Chemistry* 2009, 115, 469.
 17. DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J. dos; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.
 18. EVANGELISTA, R.M.; VIEITES, R.L. Avaliação da Qualidade de Polpa de Goiaba Congelada, Comercializada na Cidade de São Paulo. *Segurança Alimentar e Nutricional*, Campinas, 2006.
 19. EVERETTE, J. D.; BRYANT, Q. M.; GREEN, A. M.; ABBEY, Y. A.; WANGILA, G. W.; WALKER, R. B. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteou reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, p. 8.139-8.144, 2010.

20. FALLER, A.L.K.; FIALHO, E. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. **Rev Saúde Pública** 2009; 43(2):211-8.
21. FIGUEIRA, T.R.; LOPES, A.C.S.; MODENA, C.M. Barreiras e fatores promotores do consumo de frutas e hortaliças entre usuários do Programa Academia da Saúde. **Rev. Nutr.**, Campinas, 29(1):85-95, jan./fev., 2016.
22. FUJITA, A.; BORGES, K.; CORREIA, R.; FRANCO, B. D. G. M.; GENOVESE, M. I. Impact of spouted bed drying on bioactive compounds, antimicrobial and antioxidante activities of comercial frozen pulp of camu-camu (*Myrciaria dúbia* Mc. Vaugh). *Food Research International*, 54, 495-500, 2013.
23. HASSIMOTTO, N.M.A.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps, *J. Agric. Food Chem.*, v.53, n.8, p.2928-2935, 2005.
24. HO, C. T.; RAFI, M. M.; GHAI, G. Substâncias bioativas: nutracêuticas e tóxicas. In: DAMODARAM, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos**. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. cap. 12, p. 585-608.
25. HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p.1841-1856, 2005.
26. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. 4ª ed. São Paulo, 1º Ed. digital, 1002 p., 2008.
27. KLEIN, A. V.; KIAT, H. Detox diets for toxin elimination and weight management: a critical review of the evidence. **J Hum Nutr Diet**. 2015. p 675–686
28. KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI FILHO J.; FETT, R. **Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos**. *Ciênc. Tecnol. Aliment*. V. 23, n. 4, p. 726-732, 2005.
29. KWAK, N.; JUKES, D., J. Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept. **Food Control**. v. 12, n. 2, p. 99-107, 2001.
30. LEONG, L.P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruit in Singapore markets. *Food Chem.*, Washington, v.76, p.69-75, 2002.
31. LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, p. F4.3.1-F4.3.8, 2001.
32. LIMA, A. de. Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar*

- brasiliense* Camb.). 2008. 186 f. Tese (Doutorado em Bromatologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
33. LIMA, A. S.; Néctares mistos de frutas tropicais adicionados de inulina: ação prebiótica, estabilidade e sensorial. Dissertação (pós-graduação) – Nutrição, Universidade Federal do Pernambuco, Recife. 2011.
 34. LIU, F. Antioxidant activity of garlic acid from rose flowers in senescence accelerated mice. **Life Sciences**, v.77, n.3, p.230-40, 2005.
 35. MAHAN, L. K; STUMP E.S; RAYMOND, J. L. **Krause**: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 13. ed. São Paulo: editora Elsevier, p. 438, 2013.
 36. MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M. S.; LIMA, A. S. **Processamento de sucos de frutas tropicais**. Fortaleza: Editora UFC, 2007. p 320.
 37. MAISUTHISAKUL, P.; SUTTAJIT, M.; PONGSAWATMANIT, R. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. **Food Chemistry**, London, v. 100, p. 1409-1418, 2007.
 38. MANACH C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; REMESY, C.; JIMENEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, n.5, p.727-747, 2004.
 39. MATSUURA, F. C. A. U., ROLIM, R. B. Avaliação da adição de suco de acerola em suco de abacaxi visando à produção de um “blend” com alto teor de vitamina C. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, p.138-141, abril, 2002.
 40. MATTA, Virgínia Martins da; JUNIOR, Murillo Freire; CABRAL, Lourdes Maria Corrêa; FURTADO, Angela Aparecida Lemos. Polpa de Fruta Congelada. 1 ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 35p, 2005.
 41. MELO, E.A; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G; ARAÚJO, C.R. Total phenolic contents and antioxidant capacity of the frozen fruit pulps. **Alim. Nutr., Araraquara**, v.19, n.1, p. 67-72, jan./mar. 2008.
 42. MICHELS, K.B.; GIOVANNUCCI, E.; CHAN, A.T.; SINGHANIA, R.; FUCHS, C.S.; WILLETT, W.C. Fruit and vegetable consumption and colorectal adenomas in the Nurses’ Healthy Study. **Cancer Res.** p. 3942-3953. Abril. 2006.
 43. MILLER, E.R.; APPEL, L.J.; RISBY, T.H.; Effect of dietary patterns on measures of lipid peroxidation; results from a randomized clinical trial. **Circulation.** p. 2390-2395. Abril. 1998.
 44. BRASIL, Decreto, Nº 6.871, de 4 de jun. 2009, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diário Oficial da União, Brasília**, 5 jun. 2009. Aprova o registro, a

padronização, a classificação, a inspeção e a fiscalização da produção e do comércio de bebidas.

45. MORAES, Francisca Pereira - Polpa desidratada de caju amarelo (*Anacardium occidentale* L.) por atomização em spray dryer: caracterização físico-química, bioativa e estudo da vida de prateleira do produto. Dissertação de Mestrado, UFRN, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 2014.
46. MORAES, F. P.; COLLA, F; M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.3, n.2, p.99- 122, 2006.
47. NEVES, L. C. Frutos - O remédio do futuro! **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34 n. 4, p. i, 2012.
48. NOGUEIRA, L. M; MELLO, A. V.; SPINELLI, M. G. N.; MORIMOTO, J. M. Dietas da moda consumidas por desportistas de um clube e academias em São Paulo. *Revista Brasileira de Nutrição Esportiva*, São Paulo. v. 10. n. 59. p.554-561. Set./Out. 2016.
49. OETTERER, M. Material Didático Instrucional: **Agroindústria de Alimentos**. São Paulo: USP, 2006.
50. OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Quím. Nova**, São Paulo , v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.
51. OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 17, n. 1, p. 36-44, Mar, 2015.
52. PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International** v. 39, n. 7, p. 791-800, 2006.
53. Pollonio M. Alimentos funcionais: as recentes tendências e os envolvidos no consumo. *Higiene Alimentar* 2000; 14: 26-31.
54. PRIOR, R.L.; CAO,G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 27, n.11/12, p.1173- 1181, 1999.
55. RAMALHO, A.A.; DALAMARIA, T.; SOUZA, O. F. Consumo regular de frutas e hortaliças por estudantes universitários em Rio Branco, Acre, Brasil: prevalência e fatores associados. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 28(7):1405-1413, jul, 2012

56. RAO, A. V.; RAO, L.G. Carotenoids and human health. **Pharmacological Research**, p. 207-216, 2007.
57. RAZALI, N.; RAZAB, R.; JUNIT, S. M.; AZIZ, A. A.; Radical scavenging and reducing properties of extracts of cashew shoots (*Anacardium occidentale*). *Food Chemistry*. v. 111, n. 1, p. 38-44, novembro, 2008.
58. RICE-EVANS, C.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad. Biol. Med.*, New York, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.
59. ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. *Digestive and Liver Disease*, [S. l.], v. 34, Suppl. 2, p. 105-110, 2002. SANTOS, L. O. dos; REIS, M. R.; OGAVA, L. E.; LEÃO, K. V.; MACHADO, L. L.; LIRA, S. P. de. Avaliação da Atividade Antioxidante dos Compostos Fenólicos Presentes na *Amburana Cearensis*. **Orbital: Electron. J. Chem.**, Bahia, v. 8, n. 1, p. 44-49, fev. 2016.
60. SANTOS, D. P.; BARROS, B. C. V. Perfil higiênico sanitário de polpas de frutas produzidas em comunidade rural e oferecidas à alimentação escolar. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa, v. 6, n. 2, p. 747-756, 2012.
61. SANTOS, J. S.; SANTOS, M. L. P.; AZEVEDO, A. S. Validação de um método para determinação simultânea de quatro ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência em polpas de frutas congeladas. **Química Nova**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 540-544, 2014
62. SANTOS, M. H. dos; BATISTA, B. L.; DUARTE, S. M. S. D.; ABREU, C. M. P. de.; GOUVÊA, C. M. C. P. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 604-610, maio/jun. 2007.
63. Secretaria de Vigilância em Saúde/Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa, Ministério da Saúde. VIGITEL Brasil 2014: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília: Ministério da Saúde; 2014.
64. SGARBIERI, V. C.; PACHECO, M. T. B. Revisão: Alimentos funcionais fisiológicos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, n. 12, p. 7-19, 1999.
65. SILVA, C. L.; COSTA, T.H.M. Barreiras e facilitadores do consumo de frutas e hortaliças em adultos de Brasília. *Scientia Medica*, Porto Alegre, v. 23, n. 2, p. 68-74, 2013.
66. SILVA, C.E.F.; MOURA, E.M.O.; ANDRADE, F.P.A.; GOIS, G.N.S.B.; SILVA, I.C.C.; SILVA, L.M.O.; SOUZA, J.E.A.; ABUD, A.K.S. A importância da

- monitoração dos padrões de identidade e qualidade na indústria de polpa de fruta. **Journal of Bioenergy and Food Science**, Macapá, v.3, n.1, p.17-26, jan./mar., 2016.
67. SILVA, M.L.C.; COSTA, R.S.; SANTANA, A.S.; KOBLITZ, M.G.B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.31, n. 3, p.669- 682, jul/set. 2010.
68. SILVA, M. L. S.; MENEZES, C. C.; PORTELA, J. V. F.; ALENCAR, P. E. B. S.; CARNEIRO, T. B. Teor de carotenoides em polpas de acerola congeladas. *Revista Verde*, Mossoró, v.8, n.1, p.170-173, 2013.
69. SKULADOTTIR, H.; TJOENNELAND, A.; OVERVAD, K.; STRIPP, C.; OLSEN, J.H. Does high intake of fruit and vegetables improve lung câncer survival? **Lung câncer**. p. 267-273. Mar. 2006.
70. SOUSA, M. S. B. et al. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de resíduos de polpas de frutas tropicais. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 14, n. 3, p. 202-210, jul./set. 2011.
71. SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E.M.; GONZAGA, L.; FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas niágara e isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 1, p. 059-064, 2008.
72. SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. L.; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012.
73. TALCOTT, S. T.; PERCIVAL, S. S.; PITTET-MOORE, J.; CELORIA, C. **Phytochemical composition and antioxidant stability of fortified yellow passion fruit (*Passiflora edulis*)**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 51, n. 4, p. 935-941, 2003.
74. VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; FILHO, J. M.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de polpas de frutos tropicais. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 33, n. 3, p. 888-897, Setembro, 2011.
75. World Health Organization. Fruit and vegetables for health. Report of a Joint FAO/WHO Workshop 1-3 September 2004. Kobe: WHO; 2004.
76. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Geneva: WHO; 2011.