

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE TECNOLOGIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CAMPUS CAMPO MOURÃO - PARANÁ

Jucineia Aparecida da Cruz da Silva

**AVALIAÇÃO DE EXTRATOS DE FOLHAS FRUTÍFERAS NA
RETEÇÃO DA VITAMINA C EM SUCO DE LARANJA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Campo Mourão
2013

JUCINEIA APARECIDA DA CRUZ DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE EXTRATOS DE FOLHAS FRUTÍFERAS NA
RETEÇÃO DA VITAMINA C EM SUCO DE LARANJA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Diplomação, do Curso Superior de Tecnologia de Alimento da Universidade tecnológica do Paraná Campus de Campo Mourão, como requisito para a obtenção do título de Tecnóloga.

Orientador: Prof. Dr. Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo.

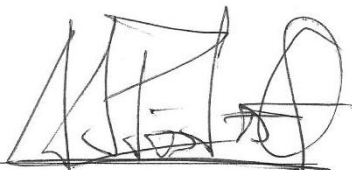
TERMO DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO DE EXTRATOS DE FOLHAS FRUTÍFERAS NA RETENÇÃO DA VITAMINA C EM SUCO DE LARANJA

POR

Jucineia Aparecida da Cruz da Silva

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 24 de setembro de 2013 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnóloga em Tecnologia em Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.



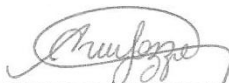
Profº Dr. Manuel S. V. Plata Oviedo:

Orientador



Profº Dr/ Alberto Cavalcante Vitorio

Membro titular



Profº Dr. Angela Marja Gozzo

Membro titular

RESUMO

SILVA, JUCINEIA A. C.. **Avaliação de extratos de folhas frutíferas na retenção da vitamina C em suco de laranja.** 2013. 33f. Trabalho de Conclusão de Curso – Tecnologia em alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campo Mourão, 2013

O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade antioxidante dos extratos etanólicos de folhas de acerola, araçá, guabiroba, pitanga, jabuticaba e goiaba na retenção da vitamina C em suco de laranja. Para a extração dos compostos fenólicos das folhas foi utilizado um solução etanol/água (80:20, v/v) acidulada. Foram encontradas quantidades de 9,13 (araçá), 7,03 (pitanga), 6,28 (guabiroba), 5,01 (jabuticaba), 4,11 (goiaba) e 3,35 (acerola) gramas de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 gramas das folhas secas. Quando eliminado a clorofila dos extratos o teor de compostos fenólicos reduziu indicando perda de substâncias fenólicas de caráter hidrofóbico. Entre os sucos adicionados de extratos para avaliação da retenção de vitamina C, o suco adicionado de extrato de pitanga foi o que apresentou o maior teor de vitamina C, indicando maior capacidade de retenção do ácido ascórbico pelo referido extrato. Na avaliação sensorial de aceitação de odor, cor e sabor tanto o suco adicionado de extrato de pitanga quanto de jabuticaba ficaram na faixa de aceitação “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente” mostrando a viabilidade da aplicação desses extratos em suco de laranja.

Palavras-chave: Suco de laranja. Extratos vegetais. Retenção da vitamina C.

ABSTRACT

SILVA, JUCINEIA A. C.. **Evaluation of leaf extracts on fruit retention of vitamin C in orange juice**. 2013. 33f. Trabalho de Conclusão de Curso – Tecnologia em alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campo Mourão, 2013

The aim of this study was to evaluate the antioxidant activity of ethanol extracts of leaves of acerola, guava, guabiroba, cherry, guava and jaboticaba retention of vitamin C in orange juice. For the extraction of phenolic compounds from the leaves used a solution of ethanol / water (80:20, v/v) acidified. Were found quantities of 9,13 (guava), 7.03 (cherry), 6.28 (guabiroba) , 5.01 (blemish) , 4.11 (guava) and 3.35 (acerola) grams of acid equivalent gallic acid (GAE) per 100 grams of dry leaves. Eliminated when the chlorophyll extracts of the content of phenolic compounds decreased indicating loss of phenolic substances of hydrophobic character. Among the extracts juices added for evaluation of the retention of vitamin C, added the juice extract cherry was presented the highest content of vitamin C, indicating higher retention capacity of ascorbic acid by that statement. In the sensory evaluation of acceptance odor, color and taste both the added juice extract cherry as jaboticaba were in the range of acceptance " like slightly " and " like moderately " showing the feasibility of the application of these extracts in orange juice.

Keywords: Orange juice. Plant extracts. Retention of Vitamin C.

LISTA DE GRÁFICOS

- GRÁFICO 1- Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, adicionado de extratos etanólicos de pitanga sem clorofila.....22.
- GRÁFICO 2- Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, através da adição de extratos etanólicos de pitanga22
- GRÁFICO 3- Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, adicionado de extratos etanólicos de goiaba sem clorofila.....23
- GRÁFICO 4- Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, através da adição de extratos etanólicos de goiaba.....23
- GRÁFICO 5- Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, adicionado de extratos etanólicos de jabuticaba sem clorofila.....24.
- GRÁFICO 6- Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, através da adição de extratos etanólicos de jabuticaba.....24.
- GRÁFICO 7- Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, adicionado de extratos etanólicos de guabiroba sem clorofila24
- GRÁFICO 8- Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, através da adição de extratos etanólicos de guabiroba24.
- GRÁFICO 9- Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, adicionado de extratos etanólicos de araçá sem clorofila.....25
- GRÁFICO 10- Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, através da adição de extratos etanólicos de araçá.....25
- GRÁFICO 11- Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, adicionado de extratos etanólicos de acerola sem clorofila26
- GRÁFICO 12- Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, através da adição de extratos etanólicos de acerola.....26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA	8
2.1 SUCO DE LARANJA E VITAMINA C.....	8
2.2 EFEITOS DO PROCESSAMENTO NA DEGRADAÇÃO DA VITAMINA C.....	9
2.3 COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE VEGETAIS.....	10
3 OBJETIVO GERAL	12
3.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	12
4 MATERIAIS MÉTODOS	13
4.1 MATERIAIS.....	13
4.2 MÉTODOS.....	13
4.2.1 Preparação de extratos etanólicos.....	13
4.2.2 Eliminação de Clorofila em extrato etanólico.....	13
4.2.3 Quantificação de compostos fenólicos totais nos extratos.....	14
4.2.4 Avaliação da retenção da vitamina C em suco de laranja adicionado de extratos.....	14
4.2.5 Análise microbiológica – Determinação do número mais provável de coliforme totais.....	15
4.2.6 Análise sensorial.....	16
4.2.7 Análise estatística.....	17
5 RESULTADOS E DISCUÇÃO	19
5.1 COMPOSTOS FENOLICOS TOTAIS NAS FOLHAS SECAS DE PALNTAS FRUTIFERAS.....	19
5.2 RETENÇÃO DA VITAMINA C EM SUCO DE LARANJA.....	19
5.3 PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS.....	24
5.4 ANÁLISE SENSORIAL.....	25
6 CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIA	28

1. INTRODUÇÃO

A vitamina C (ácido ascórbico) é um dos principais componentes do suco de laranja de maior apelo nutricional, e que traz vários benefícios à saúde humana (SOUZA, et al., 2009). O grande problema do suco é a degradação da vitamina C, tendo como causa a oxidação por vias aeróbica ou anaeróbica e em solução aquosa por reação enzimática e não enzimática.

A ação de enzimas que provoca a oxidação dos compostos fenólicos naturais presentes nos alimentos causa mudanças indesejáveis no produto, resultando na diminuição da vida útil e do valor de mercado (ARAÚJO, 1999).

Nos alimentos, o controle do processo oxidativo é feito através do emprego de substâncias que apresentam a propriedade de retardar a oxidação, denominadas antioxidantes. Os antioxidantes podem ser sintéticos ou naturais, ambos apresentam a mesma função, atuam como inibidores de reação, fazendo o papel de doadores de hidrogênio ou de receptores de radicais livres. Eles intervêm na fase de iniciação da reação, produzindo compostos estáveis (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).

São vários os métodos para avaliação da atividade antioxidante, os mais utilizados são: reação de transferência de elétrons, método Folin- Ciocalteu e seqüestro de radicais livres pelo método do DPPH (HUANG et al., 2005). Para a avaliação da atividade antioxidante através do poder redutor em extratos vegetais, a determinação de fenólicos totais através do método Folin- Ciocalteu é a mais utilizada (PRIOR et al., 2005).

Nesse sentido, esse trabalho tem por objetivo avaliar a atividade antioxidante dos extratos etanólicos de folhas de acerola, araçá, guabiroba, pitanga, jabuticaba e goiaba na retenção da vitamina C do suco de laranja.

2. REVISAO BIBLIOGRAFICA

2.1. Suco de laranja e vitamina C

O suco de laranja é largamente consumido no mercado devido ao seu baixo custo de produção, ótima aceitabilidade sensorial e suas propriedades nutricionais. Segundo Sugai et al., (2002) os principais nutrientes da laranja são a vitamina B, potássio e fibras e como destaque a vitamina C (ácido ascórbico).

A vitamina C é uma substância hidrossolúvel composta por seis carbonos, reversivelmente oxidado no organismo em ácido deidroascórbico (Figura 1) (CONN; STUMPF, 1975; VILLELA et al., 1978; LEHNINGER et al., 1995; TAVARES et al., 2003). A oxidação ocorre pela retirada de dois átomos de hidrogênio, na presença de íons metálicos, calor, luz ou em condições alcalinas com perda parcial da atividade vitamínica (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).

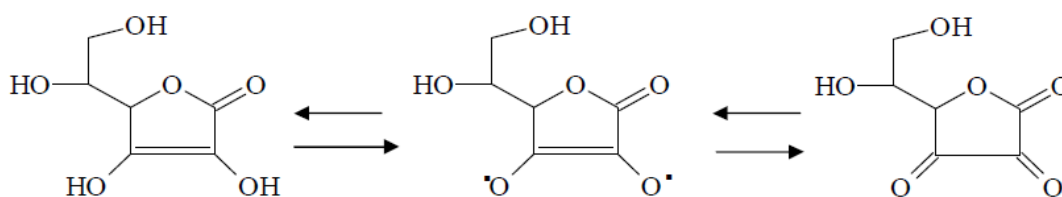


Figura 1- Reação do ácido ascórbico a ácido desidroascórbico, com formação do radical ascorbila como composto intermediário (BUETTNER; SCHAFFER, 1997).

A vitamina C realiza diversas funções em nosso organismo: atua na formação do colágeno, ajuda a evitar manchas na pele, aumenta a absorção de ferro dos alimentos, atua como antioxidante (CHEFTEL, 1976; WONG, 1989; ARAUJO, 1999; PEREIRA, 2008).

Segundo o Ministério da Agricultura e do Abastecimento (2000), o limite mínimo estabelecido de ácido ascórbico presente em uma amostra de suco é de 25 mg/100 mL. De acordo com Daniele et al.,(2009) é possível encontrar quantidades superiores de ácido ascórbico em suco natural de laranja, atingindo teores de 30,66 mg/ 100 mL de suco; ela também comenta que Silva et al., (2006) e Ruschel et al., (2001) encontraram resultados semelhante, variando de 34,78 mg/100 g e 32,11 mg/100 g respectivamente. Teixeira e Monteiro (2006), também observaram quantidade superior de ácido ascórbico

em suco de laranja recém extraído atingindo teor máximo 81,4 mg de ácido ascórbico por 100 mL de suco.

Para atender as necessidades nutricionais do nosso organismo, a ingestão diária de vitamina C recomendada para uma pessoa adulta é de 45 mg/dia, para crianças de seis meses a 10 anos varia de 25 a 35 mg/ dia de acordo com a Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005.

2.2. Efeito do processamento na degradação da vitamina C

O grande problema do processamento do suco de laranja é a degradação da vitamina C, por oxidação, aeróbica ou anaeróbica, ambas devido à formação de furaldeídos, compostos que polimerizam facilmente, formando pigmentos escuros. Ela oxida-se rapidamente em solução aquosa por processos enzimáticos e não enzimáticos, quando exposta ao ar, calor e à luz. A reação é acelerada por íons metálicos (Cu^{++} e Fe^{3+}) (ARAÚJO, 1999; PEREIRA, 2008).

Por processo não enzimático a oxidação ocorre pela reação entre carbonila e os grupos amina livre, havendo a formação de pigmentos escuros denominados melanoidinas (PEREIRA, 2008). Já por via enzimática a enzima responsável pela degradação da vitamina C é o ácido ascórbico oxidase. Essa enzima não está em contato direto com o substrato, mas quando as frutas sofrem algum tipo de dano, como o descascamento, ou quando são cortadas e misturadas durante a homogeneização, ocorre desorganização celular, que permite o contato do substrato e enzima, ocorrendo assim, a oxidação do ácido ascórbico (KABASAKALIS et al., 2000; JAWAHEER, et al., 2003; TEIXEIRA; MONTEIRO, 2006).

Alguns estudos também mostram que outros fatores como condições de estocagem, tipo de embalagem, oxigênio e luz também podem contribuir com destruição do ácido ascórbico. Teixeira e Monteiro (2006) cita em seu trabalho um estudo realizado por Tocchini (1985), onde o autor avaliou suco de laranja reconstituído e pasteurizado, acondicionado em embalagem Tetra Brik e estocado a -20, 8, 23 e 30°C, por 90 dias. Ao final do estudo verifico-se que as maiores perdas de vitamina C (25%) ocorreram no suco estocado a 30°C e as menores perdas (7%) nos sucos estocados a -20°C e 8°C, comprovando que condições de estocagem interferem na quantificação de vitamina C no suco.

2.3. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de vegetais

As plantas no seu ciclo de vida produzem uma diversa ordem de componentes orgânicos divididos em metabólitos primários e secundários. Os primários possuem funções estruturais e de armazenamento de energia (TAIZ; ZEIGER, 2006; VIZZOTO et al., 2010). Os metabólitos secundários possuem funções como síntese protéica, atividade enzimática, assimilação de nutrientes e atividade alelopáticas (PALADINO, 2008).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários que estão presentes nas plantas, são responsáveis pelo sabor, odor e coloração de diversos vegetais, além de proteger os tecidos da planta contra injúria, insetos e ataque de animais (VIZZOTO et al., 2010). Esses compostos são encontrados em frutas cítricas, como limão e laranja, além de outras frutas à exemplo da cereja, uva, ameixa, pêra, maçã e mamão, sendo em maiores quantidades na polpa que no suco da fruta (PIMENTEL et al., 2005). Alguns estudos também mostram que têm sido encontrados compostos fenólicos em extratos de ervas entre elas a erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e a hortelã (*Mentha spicata*) (FELDMAM et al, 2008).

Quimicamente, são chamados de compostos fenólicos substâncias que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos (LEE SJ et al., 2005; ANGELO; JORGE, 2007). Estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares e proteínas (BRAVO, 1998; ANGELO; JORGE, 2007).

Os compostos fenólicos estão distribuídos em diversas categorias como: fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, estilbenos, taninos, lignanas e ligninas (NACZK; SHAHIDI, 2004; SOUZA et al., 2007).

Existem duas categorias de antioxidante, os sintéticos e os naturais. Entre os sintéticos, os mais conhecidos são hidroxianisol de butila (BHA), o hidroxitolueno de butila (BHT) e terc butil hidroquinona (TBHQ) e os naturais destaca-se ácido ascórbico, tocoferóis, β – caroteno, ácidos fenólicos e extratos de plantas (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006; RAMALHO; JORGE, 2006; VIEIRA et al., 2010). Os compostos fenólicos atuam como interruptores dos radicais livres e na prevenção da autoxidação (SHARIDI et al., 1992; ANGELO; JORGE, 2007).

Os relatos sobre a quantificação de compostos fenólicos e da atividade antioxidante em infusões de ervas são escassos. Vieira et al., (2010) avaliou o teor de compostos

fenólicos e a atividade antioxidante de extratos de folhas de acerola, guabiroba e ora-pro-nobis. Para a extração dos compostos fenólicos ele utilizou dois tipos solventes, verificou que o metanol 80% acidulado apresenta melhor poder extrator de compostos fenólicos quando comparado com o etanol 80%. Quando extraída com metanol 80% acidulado o teor de compostos fenólicos totais (mg EAG/100g) encontrado na guabiroba foi de 5196,66, da ora-pro-nobis de 1693,33 e da acerola de 1656,66, já com o etanol 80% o teor encontrado foi de 3316,67 para guabiroba, de 1410,00 para acerola e 940 para ora-pro-nobis.

Para avaliar a atividade antioxidante dos extratos de folhas de acerola, guabiroba e ora-pro-nobis, Vieira et al., (2010) utilizou o método do radical DPPH, onde se verifica atividade antioxidante pela adição de extratos em solução de DPPH que causa a redução rápida na densidade ótica em 517 nm e a descoloração, que indica a capacidade dos extratos em seqüestrar o radical (SHIRAHIGUE, 2008). Vieira et al., (2010) verificaram que os extratos de guabiroba e ora-pro-nobis na concentração de 8,57 µg GAE/mL apresentaram alto grau de atividade antioxidante, 92,6 e 92,76% respectivamente, e que foram superiores ao do BHT (10,13%) e similar ao do trolox (92,79%).

O chá é uma das bebidas mais consumidas no mundo, e é reconhecida como uma das melhores fontes de compostos fenólicos (LIMA, et al., 2004). Feldmamm et al., (2008), para avaliar o potencial antioxidante de 5 tipos de chás bastante consumido no Brasil, ele realizou análise de compostos fenólicos e atividade antioxidante através do método do radical DPPH, e pode observar que entre as cinco ervas analisadas a *Ilex Paraguariensis* (erva-mate) e a *Foeniculum vulgare* Mill. (erva doce), foram as que apresentaram maior capacidade de redução do radical DPPH, 94,3 e 83,26% respectivamente, e em relação a compostos fenólicos totais (mg EAG/100g) a erva-mate apresentou uma concentração de 547,68 e a erva doce de 347,04.

Em estudo realizado por Paladino (2008) comparando a atividade antioxidante de extrato de semente de uva com antioxidante comercial no suco de maçã, percebeu que o extrato pode atuar como antioxidante mais efetivo que o ácido ascórbico, pois num tempo de tratamento de 24 horas, o suco de maçã adicionado de extrato de semente de uva, inibiu a oxidação em 31,51% , enquanto o suco adicionado de ácido ascórbico teve uma inibição de 2,6%, comprovando o poder antioxidante do extrato.

3. OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antioxidante dos extratos etanólicos de folhas de acerola, araçá, guabiroba, pitanga, jabuticaba e goiaba na retenção da vitamina C do suco de laranja.

3.1. Objetivos específicos

- Obter os extratos etanólicos das folhas de acerola, araçá, guabiroba, pitanga, jabuticaba e goiaba e quantificação dos compostos fenólicos totais.
- Determinar a retenção do ácido ascórbico do suco de laranja adicionado dos extratos de folhas através da quantificação pelo método titulométrico do iodato de potássio.
- Realizar análise sensorial para avaliar a aceitação dos sucos adicionados dos extratos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

Para a obtenção dos extratos foram utilizadas folhas de araçá, acerola, guabiroba, pitanga, jabuticaba e goiaba de cultivares não definidos, adquiridas em sítios de Campo Mourão. As análises foram realizadas na UTFPR Campus- Campo Mourão, nos laboratório físico-químico, espectrofotometria, e sensorial.

Como fontes dos sucos foram usadas laranja pêra compradas no mercado local.

4.2. Métodos

4.2.1. Preparação dos extratos etanólicos

Em tubos de plástico de 50 mL, cônico, para centrifuga foram depositados 4 gramas de folha moída (araçá, acerola, guabiroba, pitanga, jabuticaba e goiaba), mais 27 mL de solvente etanol 80% acidulado com 0,5% (v/v) de HCL e agitou manualmente por um minuto, colocou o tubo em um banho de água em ebulição por 30 minutos, após resfriou o tubo em um banho de água fria e centrifugou a 6000 rpm por 5 minutos, com cuidado foi retirado o extrato liquido do tubo e guardado em um frasco opaco, limpo e seco. Em seguida adicionou-se 23 mL de solvente etanol 80% acidulado com 0,5% (v/v) de HCL e com o auxilio de um bastão de vidro revolveu a torta de folha com o solvente e agitou manualmente por um minuto, colocou novamente o tubo em banho em ebulição por 20 minutos, resfriou em banho de água fria e centrifugou a 6000 rpm por 5 minutos, logo após retirou o extrato liquido e juntou com o extrato primário . Determinou-se o pH e elevou para o pH de 6,5 com NaOH 2%. A seguir os extratos foram concentrados por rota evaporação a 65°C até atingir um volume 25 mL, foi lavado o recipiente com água destilada e colocado em um balão de 50 mL e completou o volume.

4.2.2. Eliminação de clorofila de extrato etanólico

A eliminação da clorofila foi realizada de acordo com a metodologia de Ferri (1996) citado por Oliveira et al., (2008) com algumas modificações. Os extratos etanólicos de araçá, acerola, guabiroba, pitanga, jabuticaba e goiaba foram particionada com clorofórmio (1:1) e colocado em um funil de separação, agitou-se e deixou em

repouso por 30 minutos, em seguida eliminou-se a fase de clorofórmio e acrescentou mais 25 mL de clorofórmio e deixando em repouso por 24 horas, após eliminou o clorofórmio e recuperou o extrato.

4.2.3. Quantificação dos compostos fenólicos totais nos extratos

Essa determinação foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu segundo metodologia de Singleton e Rossi citado por Amerine e Ough (1976) com ligeiras modificações. Para o preparo da solução diluída foi pipetado 0,2 mL da solução concentrada de extrato e depositado em um balão de 10 mL e completou com água destilada. Para o desenvolvimento da reação foram pipetados em um tubo de ensaio de 10 mL 0,1 mL do extrato (previamente diluído), 3,0 mL de água destilada e 0,25 mL de Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos de repouso foi adicionado 2,0 mL de solução de carbonato de sódio a 7,5%. O tubo devidamente tampado foi encubado em um banho de água a temperatura de 37°C por 30 minutos. A seguir, a absorvância foi determinada a 765 nm, usando cubeta de vidro de 10 mm, em um espectrofotômetro previamente calibrado contra o branco.

Os teores de compostos fenólicos totais foram determinados por interpolação da absorvância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (100, 300, 500 e 700 mg/L) e expressos em miligramas (mg) de equivalente de ácido gálico (mg EAG) por 100 g da amostra em base. As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.4. Avaliação da retenção da vitamina C em suco de laranja adicionados dos extratos

Foram realizados um experimento com 39 tratamentos com 2 repetições totalizando 78 ensaios. Os tratamentos foram: testemunha, extrato líquido concentrado com clorofila e extrato líquido sem clorofila de folhas de araçá, acerola, guabiroba, pitanga, jabuticaba e goiaba dosados nas concentrações de 2,5, 5 e 10 mg de compostos fenólicos totais por 100 mL de suco laranja.

O suco de laranja foi obtido a partir de laranja Pera, usando um espremedor mecânico seguido de filtragem em peneira de 1 mm de abertura, 200 mL do suco foram acondicionados em garrafas de plásticos contendo o extrato de folha. As garrafas forão tampadas e pasteurizadas em um banho de água a 87°C por 1 min..

A quantificação do teor de ácido ascórbico nos sucos foram realizado no tempo zero e a cada 7 dias durante um mês de armazenamento a temperatura de 8°C usando o método iodato de potássio conforme a metodologia n° 364/ IV descrita por Zenebon et al, 2008 (Adolfo Lutz) com ligeiras modificações. Para a realização do método foi preparado uma solução de ácido sulfúrico 20% v/v, uma solução de iodeto de potássio a 10% m/v, uma solução de amido 1% m/v e uma solução padrão de iodato de potássio 0,02 M (1 mL de iodato de potássio 0,02 M = 8,806 mg de ácido ascórbico). Pipetou 5 mL de suco de laranja adicionado de extrato, transferiu para um Erlenmeyer de 300 mL e adicionou 50 mL de água. Adicionou 10 mL de solução de ácido Sulfúrico 20% e homogenizou. Adicionou 1 mL de solução de iodeto de potássio 10% e 1 mL de solução de amido 1%. Titulou com solução de iodato de potássio até a coloração azul, a foi realizado em duplicata, foi feito uma prova em branco. A maior retenção de ácido ascórbico no suco foi interpretada como a maior atividade antioxidante do extrato. Os resultados são expressos conforme o calculo abaixo (Eq. 1).

$$\frac{100 \times V \times F}{P} = \text{Vitamina C mg (1)}$$

V: volume de iodato gasto na titulação

F: 8,806 para KIO₃ 0,02 M

P: n° de g ou mL de amostra

4.2.5. Análise microbiológica – determinação do número mais provável de coliformes totais

A determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais, foi realizado seguindo a metodologia da APHA- AMERICAN PLUBIC HEALTH ASSOCIATION (2001), sugerida pela Resolução RDC, n.12 (2001).

Para a realização da analise transferiu-se 10 mL da cada amostra devidamente homogenizada para um erlenmeyer contendo 90 mL de água peptonada tamponada estéril e homogenizou (diluição 10⁻¹); a partir desta diluição fez-se as diluições 10⁻² e 10⁻³. Utilizando a técnica dos tubos múltiplos, com 3 tubos por diluição, tranferiu-se 1 mL de cada diluição para os tubos contendo o meio Caldo Lactosado Verde Brilhante e Bile 2% (VBB) com incubação a 35°C durante 24 e 48 horas e Caldo lauril sulfato

triptose (com tubo de Durham invertido). Homogeneizou-se e incubou-se a 35°C durante 48 horas em estufa bacteriológica.

4.2.6. Análise sensorial

A avaliação sensorial do suco de laranja adicionada de extrato realizou-se através da aplicação do teste de aceitação sensorial de escala hedônica. Os sucos foram submetidos a testes de aceitação quanto a cor, sabor e odor, por uma equipe de 40 voluntários, provadores não treinados, consumidores de suco de laranja.

Para a realização do teste, o suco de laranja foi obtido a partir de laranja Pera. As laranjas foram lavadas com sabão neutro em água corrente e enchagadas com água fervente para evitar contaminação do suco por sujidades aderida na parte externa da fruta, usando um espremedor mecânico devidamente limpo o suco foi extraído, em seguida passou por uma filtragem em peneira de 1 mm. de abertura, os sucos foram acondicionados em garrafas de plásticos higienizadas contendo o extrato de jabuticaba, e pitanga na concentração 2,5 mg de compostos fenólicos totais por 100 mL de suco. As garrafas foram tampadas e pasteurizadas em um banho de água a 87°C por 1 min. As amostras ofertadas para análise foram devidamente, codificadas e oferecidas em copos plásticos de 40 ml.

Os sucos com a adição dos extratos, avaliou-se quanto aos atributos de cor, sabor e odor em teste de aceitação, utilizando a escala hedônica de 9 pontos ((1 = desgostei extremamente; 2= desgostei muito; 3 = desgostei moderadamente; 4 = desgostei ligeiramente; 5 = nem desgostei, nem gostei; 6 = gostei ligeiramente; 7 = gostei moderadamente; 8 = gostei muito; 9 = gostei extremamente); juntamente com os sucos serão servida água.

A preferência da bebida determinou-se por análise sensorial seguido do questionário (Figura 2).

Análise Sensorial

Nome: _____ Idade: _____ Data: ___/___/___

Você está recebendo uma amostra de suco de laranja para avaliar quanto aos atributos sensoriais de odor, cor e sabor. Indique, usando a escala seguinte o quanto você gostou ou desgostou da amostra.

9. Gostei extremamente
8. Gostei muito
7. Gostei moderadamente
6. Gostei ligeiramente
5. Nem gostei, nem desgostei
4. Desgostei ligeiramente
3. Desgostei moderadamente
2. Desgostei muito
1. Desgostei extremamente

Código da Amostra: _____

Atributo	Nota
Odor	
Cor	
Sabor	

Figura 2: Questionário utilizado para análise sensorial

4.2.7. Análises estatística

A comparação das médias pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) dos diferentes tratamentos foram feitas através do uso programa Assitat 7.6 beta.

5. RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1. Compostos fenólicos totais nas folhas secas de plantas frutíferas

O conteúdo de compostos fenólicos totais dos materiais vegetais, extraídos com solvente etanol 80% acidulado com 0,5% (v/v) de HCL, expresso em gramas equivalente de ácido gálico (g EAG) por 100 g de material vegetal são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Teor de compostos fenólicos nas folhas secas de araçá, pitanga, goiaba, jabuticaba, guabiroba e acerola.

Amostra	g EAG /100g (b.s) extrato etanólico	g EAG /100g (b.s) extrato etanólico sem clorofila
Araçá	9,13 ^{Aa}	4,21 ^{Bb}
Pitanga	7,03 ^{Ab}	5,49 ^{Ba}
Goiaba	4,11 ^{Ae}	3,05 ^{Bc}
Jabuticaba	5,01 ^{Ad}	3,85 ^{Bb}
Guabiroba	6,28 ^{Ac}	3,60 ^{Bbc}
Acerola	3,35 ^{Af}	1,70 ^{Bd}

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna, ou maiúsculas nas linhas diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey. EAG (equivalente a ácido gálico). b.s (base seca)

Observando os resultados verifica-se que o material vegetal que apresentou maior teor de compostos fenólicos (g EAG/100g), foi araçá (9,13), seguido da pitanga (7,03), guabiroba (6,28), jabuticaba (5,01), goiaba (4,11) e por fim acerola (3,35), nos quais todos apresentaram diferença significativa entre si.

A partir dos resultados obtidos na Tabela 1, observa-se que o solvente Etanol 80% acidulado apresenta um ótimo poder de extrator de compostos fenólicos quando comparados com resultados de outras pesquisas. Os teores verificados de compostos fenólicos totais neste trabalho foram superiores aos determinados por Gandine et al., (2011) nos extratos das folhas de pitanga (1,93 g/100g), jabuticaba (1,79 g/100g) e acerola (0,39 g/100g) quando extraído com etanol hidratado (96° GL).

Quando os extratos etanólicos 80% - acidulados foram extraído com clorofórmio com a finalidade de retirar a clorofila (Tabela 1) observou-se redução nos compostos fenólicos totais indicando a retirada de substâncias fenólicas apolar, apresentando

diferença significativa. O extrato de guabiroba sem clorofila (3,60 g EAG/ 100g) não apresentou diferença significativa quando comparado com os extratos de jabuticaba, goiaba e araçá, que apresentaram valores médios, respectivamente de 3,85, 3,05 e 4,21 de compostos fenólicos (g EAG/100g).

5.2. Retenção da vitamina C em suco de laranja

A avaliação da atividade antioxidante dos extratos de acerola, araçá, guabiroba, pitanga jabuticaba e goiaba na retenção da vitamina C do suco de laranja foram acompanhadas durante um período de 28 dias, estão expressos nos gráficos abaixo.

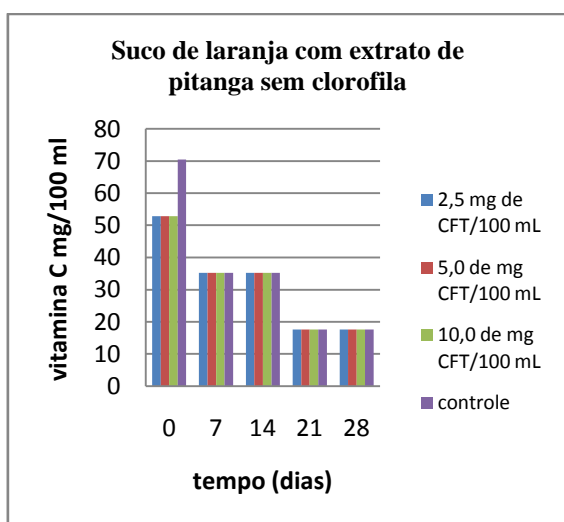


Gráfico 1- Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, adicionado de extrato etanólico de pitanga sem clorofila.

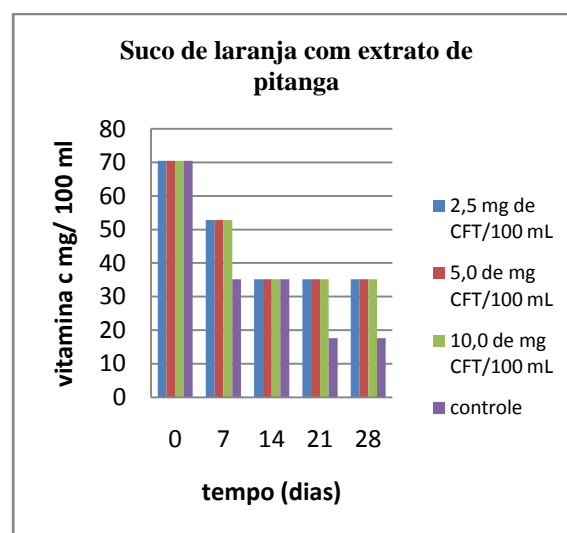


Gráfico 2 - Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C em suco de laranja através da adição de extrato etanólico de pitanga.

Observando os resultados, no gráfico 1, o teor de vitamina C determinada no controle (suco sem adição de extrato) foi de 70,45 mg/ 100 mL no tempo 0 sendo superior aos sucos adicionados de extrato (52,84). No decorrer das semanas percebe-se que os sucos adicionados de extrato com o suco controle tiveram uma redução de vitamina C semelhante, chegando a um teor de 17,61 mg de vitamina C por 100 mL de suco aos 28 dias de tratamentos. Já no gráfico 2 no tempo 0 tanto o suco adicionado de extrato quanto o controle obtiveram a mesma concentração de vitamina C (70,45), e aos 28 dias os sucos adicionados de extratos estavam com uma concentração de 35,22 em quanto o controle com 17,61 mg de vitamina C por 100 mL.

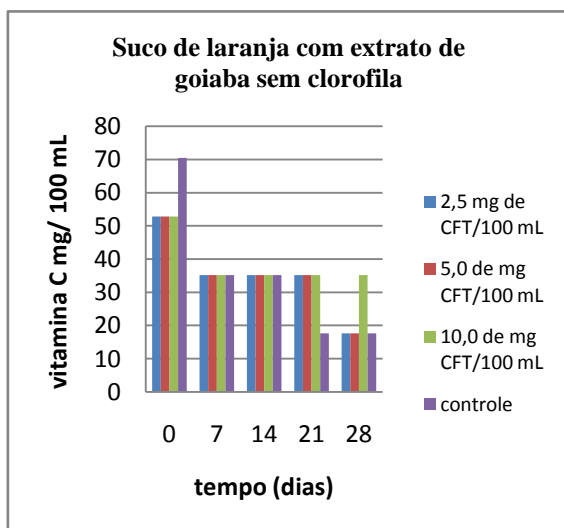


Gráfico 3 - Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, adicionado de extrato etanólico de goiaba sem clorofila.

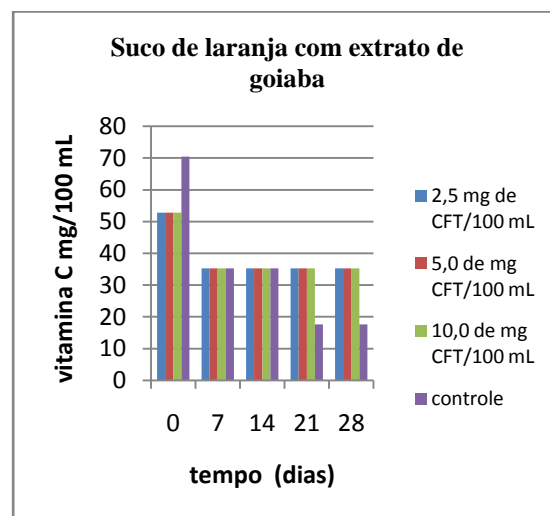


Gráfico 4- Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C em suco de laranja através da adição de extrato etanólico de goiaba.

De acordo com os resultados, no gráfico 3, o teor de vitamina C obtida no controle (70,45) no tempo 0 foi superior aos sucos adicionados de extrato (52,84), e aos 28 dias de tratamento somente o suco que continha extrato com concentração 10,0 mg compostos fenólicos totais (CFT) por 100 mL de suco foi o que se manteve estável, os demais, a concentração de vitamina C se igualou ao controle. No gráfico 4, novamente o teor de vitamina C do controle (70,45) se manteve acima dos encontrados nos sucos adicionado de extrato de goiaba (52,84), no decorrer das semanas a os sucos adicionados de extrato se manteve na faixa de 35,22 mg de vitamina C por 100 mL, enquanto o controle chegou a 17,61 mg de vitamina C por 100 mL de suco.

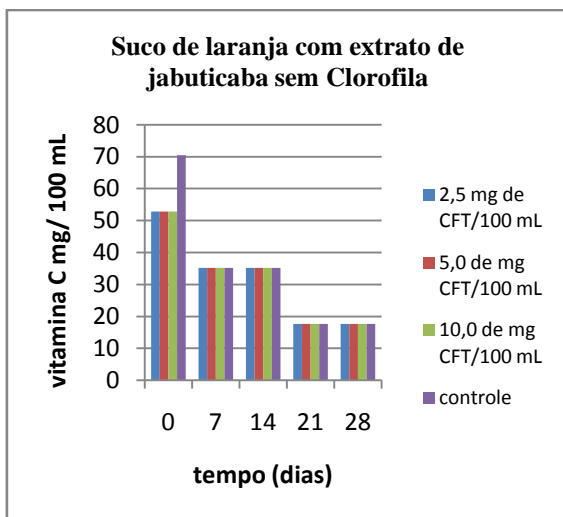


Gráfico 5- Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, adicionado de extrato etanólico de jabuticaba sem clorofila.

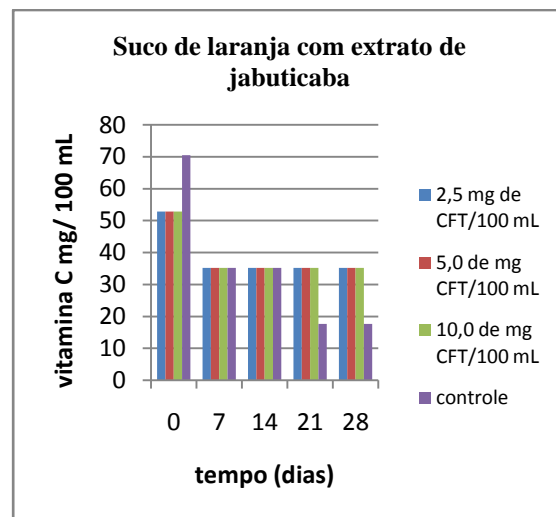


Gráfico 6 - Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C em suco de laranja através da adição de extrato etanólico de jabuticaba.

Através dos resultados expresso nos gráficos 5 e 6, observa-se que no primeiro gráfico a amostra controle no tempo 0 teve um resultado de vitamina C acima dos observados nas amostras dos sucos adicionados de extrato, e com o passar dos dias o decréscimo foi igual em ambas as amostras. E no segundo gráfico (6), no tempo 0 os sucos adicionados de extratos tinha um teor de vitamina C de 52,84 mg e após 7 dias de 35,22 mg, onde se manteve até os 28 dias.

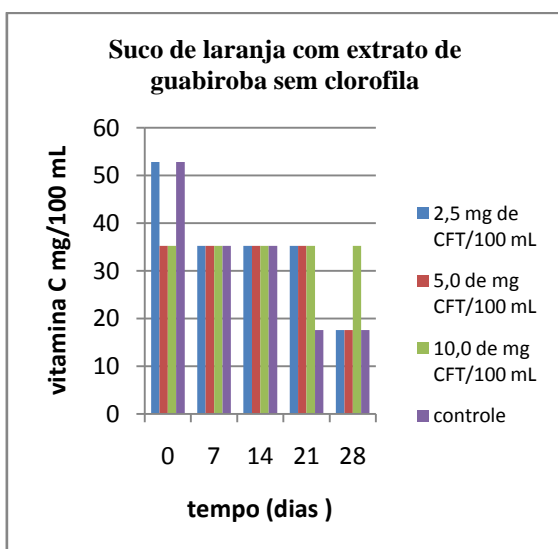


Gráfico 7 - Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, adicionado de extrato etanólico de guabiroba sem clorofila.

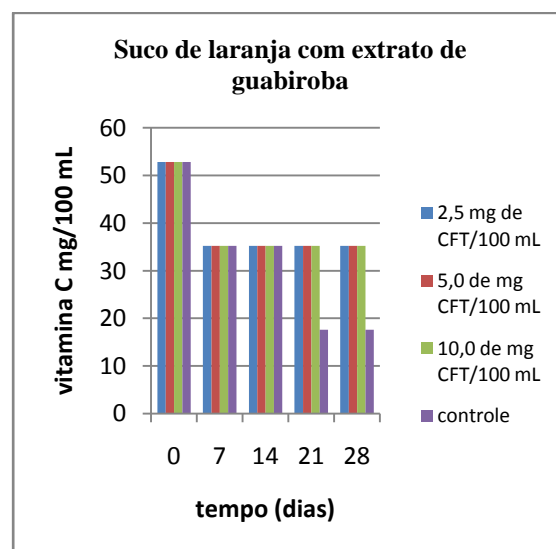


Gráfico 8 - Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C em suco de laranja através da adição de extrato etanólico de guabiroba.

No primeiro gráfico (7), observa que no tempo 0 o controle e o suco adicionado de extrato na concentração 2,5 mg de CFT/100 mL, obtiveram a mesma quantidade de vitamina C (52,84), e nos passar dos dias os sucos independente da concentração de compostos fenólicos adicionados se mantêm na média de 35,22 e somente na ultima semana que foi para 17,61 mg de vitamina C por 100 mL de suco. No segundo gráfico (8), no tempo 0 todas as amostras obteve o mesmo valor de vitamina C, e no decorrer das semanas se manteve na média dos 35,22 mg de vitamina C por 100 mL, somente o controle que ficou com 17,61 mg de vitamina C por 100 mL de suco.

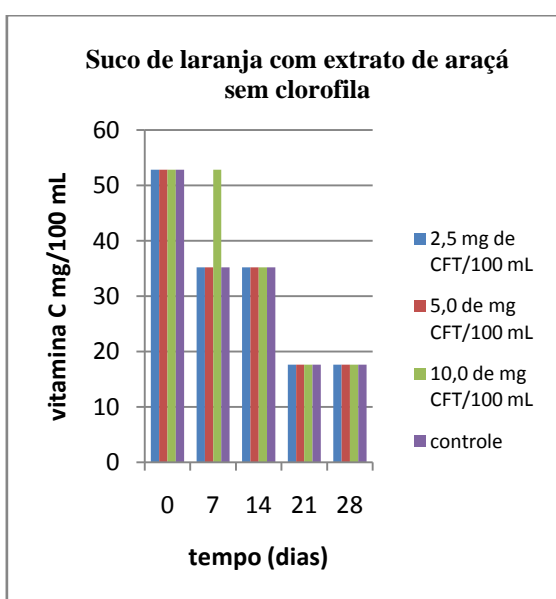


Gráfico 9 - Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, adicionado de extrato etanólico de araçá sem clorofila.

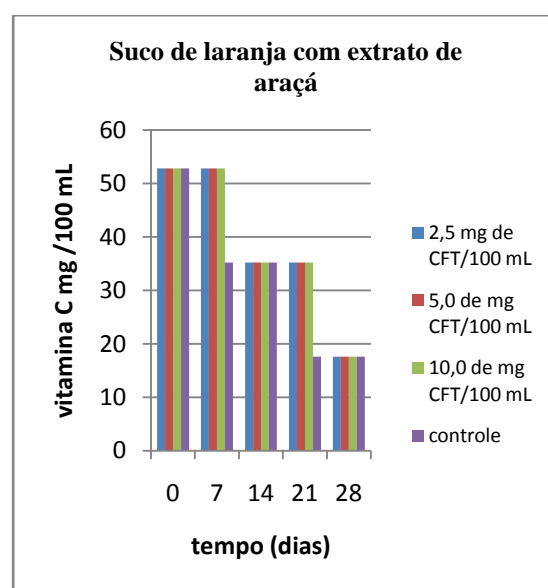


Gráfico 10 - Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C em suco de laranja através da adição de extrato etanólico de araçá.

Observando o gráfico 9, no tempo 0 ambas as amostras apresentaram valores iguais nos teor de vitamina, e com o passar da semana ambas teve a mesma proporção de vitamina C. Já no gráfico (10), nas duas primeiras semana, os sucos adicionados de extrato obteve um valor de vitamina C de 52,84 mg por 100 mL, tendo um decréscimo e na ultima semana chegando a u valor de 17,61 mg por 100 mL de suco.

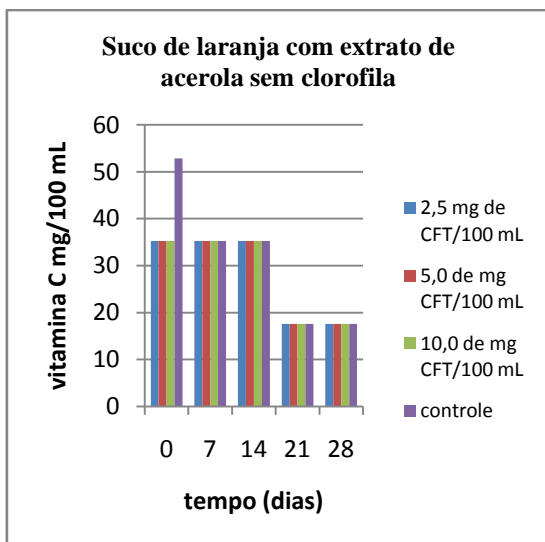


Gráfico 11 - Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C no suco de laranja, adicionado de extrato etanólico de acerola sem clorofila.

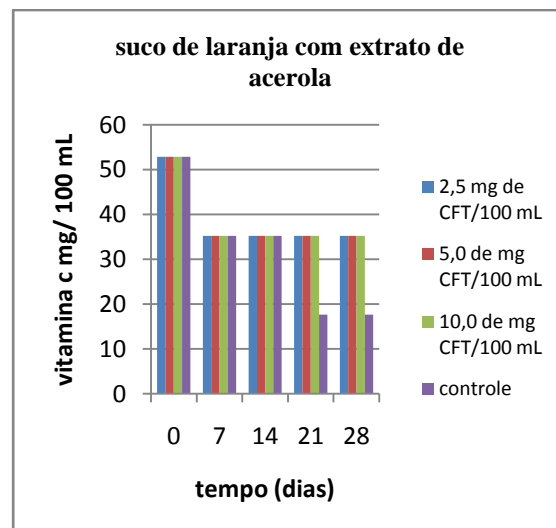


Gráfico 12 - Avaliação da inibição da oxidação da vitamina C em suco de laranja através da adição de extrato etanólico de acerola.

De acordo com os resultados expresso no gráfico 11, no tempo 0 o teor de vitamina C no controle foi superior aos sucos adicionados de extratos, e ao final aos 28 dias ambos continha a mesma quantidade de vitamina C. No gráfico 12 no tempo 0 todas as amostras analisadas apresentaram o mesmo teor de vitamina C e nos passar dos dias ambos permaneceram na faixa 35,22 exceto o controle.

Com base nos gráficos apresentados, pode-se observar que quando eliminado a clorofila a atividade antioxidante dos extratos na retenção da vitamina C diminuiu, isso devido à perda de substância que ocorreram no processo de extração da clorofila, pois segundo Packer, (1999), antioxidante é um conjunto de substâncias formadas por compostos fenólicos, vitaminas, pigmentos naturais e enzimas que bloqueia o efeito dos radicais livres.

A diminuição no teor de vitamina C em tempo 0 dos sucos adicionados de extratos sem clorofila em relação as amostras controle, provavelmente, deve-se a degradação da mesma pela não proteção do extrato sem clorofila, e possíveis traços de clorofórmio presente no extrato. Já a diminuição no teor de vitamina C nos sucos adicionado de extratos com clorofila, pode ter ocorrido pelo fato, tanto suco quanto o extrato contém substâncias com atividade antioxidante, se a vitamina C diminuiu ela pode ter agido como antioxidante protegendo os compostos fenólicos presente no extrato.

Entre os sucos adicionados de extratos o que apresentou melhor atividade antioxidante, na retenção da vitamina C foi extrato de pitanga (gráfico 2). O extrato de pitanga foi o único que no tempo 0 apresentou uma concentração de 70,45 mg de vitamina C por 100 mL de suco e que aos 7 dias de tratamento apresentou uma concentração de 52,84 mg de vitamina C por 100 mL de suco. Os sucos adicionados de extratos de goiaba (gráfico 4), jabuticaba (gráfico 6), guabiroba (gráfico 8) e acerola (gráfico 12) apresentaram valores menores nos tempo 0 e 7 dias de tratamentos mas ao final dos 28 dias apresentaram o mesma quantidade de vitamina C (35,22). Já o extrato de araçá foi o que obteve menor atividade antioxidante aos 28 dias de tratamento. Observando o teor de compostos fenólicos (Tabela 1) o extrato de araçá foi o que obteve maior quantidade de compostos, só que quando adicionado ao suco a concentração dosada de extrato equivalente ao teor de compostos fenólicos foi igual para todos os extratos, então a atividade antioxidante observada nos extratos é independente o teor de compostos fenólicos.

5.3. Parâmetros microbiológicos

O resultado da análise microbiológica realizados nos sucos adicionados de extratos estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2- Determinação microbiológica dos sucos de laranja adicionados de extrato de pitanga e jabuticaba.

Microorganismo	Suco de laranja com extrato		Legislação*
	Pitanga	Jabuticaba	
Coliformes a 35° C (NMP/50 mL)	Ausência	Ausência	Ausência (NMP/ 50 mL)

Coliformes totais incluem as bactérias na forma de bastonetes Gram-negativos, não esporogênicos e são capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C (SILVA, 1997). A presença de coliformes nos alimentos é de grande importância para a indicação de contaminação durante o processo de fabricação ou mesmo pós-processamento.

Observando a Tabela 2, nenhuma das amostras apresentou coliforme a 35°C, de acordo com a resolução a Resolução RDC nº 12 (BRASIL, 2001).

5.4. Análise sensorial

As análises sensoriais foram realizados com extratos com clorofila de pitanga e jabuticaba. Na Tabela 3, encontram-se as aceitabilidades médias dos atributos odor cor e sabor de cada uma das amostras avaliadas pelo teste de Tukey.

Tabela 3 - Aceitação média dos atributos odor, cor e sabor, do suco de laranja adicionado de extrato de pitanga e jabuticaba.

Atributos	Suco de laranja adicionado de extrato	
	Pitanga	Jabuticaba
Odor	7,27 ^a	7,15 ^a
Cor	7,92 ^a	7,87 ^a
Sabor	5,97 ^a	6,35 ^a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Com relação ao atributo de odor, o suco adicionado de extrato de Pitanga foi o que apresentou maior aceitação sendo igual, estatisticamente, com o suco adicionado de extrato de jabuticaba.

Para o atributo de cor, o suco adicionado de extrato de pitanga novamente apresentou maior aceitação sendo igual, estatisticamente, com o suco adicionado de extrato de jabuticaba.

No atributo de sabor, o suco adicionado de extrato de jabuticaba foi o que apresentou maior aceitação sendo igual, estatisticamente, à amostra adicionada de extrato de pitanga.

Com base nas médias obtidas no teste de aceitação, os sucos adicionados de extratos de pitanga e jabuticaba se encontram na faixa de aceitação para todos os atributos entre as categorias “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. Esses resultados demonstram que é viável a aplicação de extratos com atividade antioxidante em sucos, desde que esses extratos não interfiram em nível elevado nas características sensorial do produto.

Estudo realizado por Pereira (2008), adicionando extrato de própolis em suco de goiaba, foi observado uma aceitação de 63% em suco adicionado com 1% de extrato e

56% de aceitação no suco adicionado de 3% de extrato. Pereira (2008) afirma que é possível atingir proporções superiores a 63%, pela adição de valores inferiores a 1% de extrato de própolis, pois o extrato aquoso de própolis apresenta cor, sabor e odor forte e concentrações elevadas tornar o produto inaceitável, devido a transformações nas características sensoriais do suco.

6. CONCLUSÃO

Etanol 80%- acidulado, apresenta ótimo poder extrator de compostos fenólicos em materiais vegetais.

A eliminação da clorofila de extratos etanólicos reduz a capacidade do mesmo agir como antioxidante.

O suco adicionado de extrato de pitanga foi o que apresentou maior retenção da vitamina C nos duas primeiras semanas de tratamento.

Através da análise de aceitação dos sucos, verificou-se que é possível a aplicação de extratos etanólicos de folhas de plantas, na retenção da vitamina C do suco de laranja com notas sete para odor, sete para cor e seis para sabor.

REFERÊNCIA

ANGELO, PRISCILA MILENE; JORGE, NEUZA. **Compostos fenólicos em alimentos**. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 66(1): 232-240, 2007.

AMERINE, M.A; OUGH, C.S. **Análisis de vinos y mostos**. Zaragoza: Acribia, 1976, 158p.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for methods for the microbiological examination of foods**. Washington. DC. 2001. 676 p.

ARAÚJO, J.. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2ª ed. Viçosa: Editora UFV, 1999.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução RDC, n. 12, de 2 jan. 2001**. Dispõe sobre os princípios gerais para o estabelecimento de Critérios e padrões microbiológico para alimentos.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução RDC n. 269, de 22 de set. de 2005**. O regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais.

BRAVO, L.. **Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance**. Nutr Rev 1998; 56 (11): 317-33.

BUETTNER, G. R.; SCHAFER, F.. **Ascorbate (vitamin C) its antioxidant chemistry**. Oxygen Society of Education Program, p. 1-20, 1997.

CHEFTEL, J. C. CHEFTEL, H. **Introducion a la bioquimica y tecnologia de los alimentos**. v.1, Zaragoza: Acribia, 1976. 317p.

CONN, E. E.; STUMPF, P. K. **Introdução à Bioquímica**. São Paulo: Edgard Blücher, 1975. 477 p.

DANIELI, F; COSTA, L. R. L. G.; SILVA, L. C.; HARA, A. S. S.; SILVA, A. A.. **Determinação de vitamina C em amostras de suco de laranja in natura e amostras**

comerciais de suco de laranja pasteurizada e envasado em embalagem Tetra Pak. Rev Inst Ciênc Saúde, 2009; 27(4): 361-5.

DUARTE- ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. **Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β - caroteno/ ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH.** Ciência e tecnologia de alimentos, v. 26, n. 2, 2006.

FELDMANN, V.; KAMIMURA, T.; MANSI, D. N.; SALGADO, J. M., **Potencial Antioxidante de chás consumidos no Brasil: Compostos Fenólicos, Flavonóides e Atividade Antioxidante.** 16º Simpósio de Internacional de Iniciação Científica da USP, Resumos do 16º SIIC, Piracicaba, nov. 2008

FERRI, P.H. **Química de produtos naturais: métodos gerais.** In: DI STASI, L.C. (Ed.). Plantas medicinais: arte e ciência - um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Fundação Editora Unesp, 1996.

GANDINE, S. M. S.; SOUZA, M. T. S.; MOULIN, T.. **Avaliação do potencial antioxidante de diferentes extratos vegetais na estabilidade oxidativa do biodiesel preparado com óleo usado em frituras.** Instituto Federal Espírito Santo, 2011.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L.. **The chemistry behind antioxidant capacity assays.** Journal of agricultural and food chemistry, v. 53, 2005.

JAWAHEER, B.; GOBURDHUN, D.; RUGGOO, A.. **Effect of processing and storage of guava into jam e juice on the ascorbic acid content.** Plant Foods Hum. Nut., v. 58, p. 1-12, 2003.

KABASAKALIS, V.; SIOPIDOU, D.; MOSHATOU, E. **Ascorbic acid content of commercial fruit juice and its rate of loss upon storage.** Food Chem., v. 70, p. 325-328, 2000.

LEE S. J.; UMANO K.; SHIBAMOTO T.; LEE K. G.. **Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties.** Food Chem 2005; 91(1): 131-7.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M.. **Princípios de bioquímica.** 2. ed. São Paulo: Sarvier, 1995. 839p.

LIMA VLAG, MELO EA, LIMA DESL. **Nota prévia: Teor de compostos fenólicos totais em chás brasileiros.** Braz J Food Technol 7: 187-190. 2004

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. **Instrução Normativa nº1, de 7 de janeiro de 2000.** Complementa padrões de identidade e qualidade para suco de laranja. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil (DF), 10 jan 2000. Seção 1.p. 54.

NACZK, M.; SHAHIDI, F.. **Extraction and analysis of phenolics in food.** J. Chromatogr, 2004, *1054*, 95.

OLIVEIRA, R. B.; NASCIMENTO, M. V. M.; VALADARES, M. C.; PAULA, J. R.; COSTA, E. A.; CUNHA, L. C.. **Avaliação dos efeitos depressores centrais do extrato etanólico das folhas de *Synadenium umbellatum* Pax. e de suas frações em camundongos albinos.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, vol. 44 n. 3, 2008.

PACKER, L.; **Principal Oxidants and antioxidants.** San Diego: Academic Press, 1999.

PALADINO, SILVIA CRISTINA. **Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*vitis vinifera* L.):** (Tesis de Maestría). Mendoza, Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias , Universidad Nacional de San Juan, Universidad Nacional de La Rioja, Universidad Nacional de San Luis (2008).

PEREIRA, VINICIUS RODRIGUES. **Ácido Ascórbico – características, mecanismos de atuação e aplicações na indústria.** Trabalho acadêmico apresentado ao curso de bacharelado em química de alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

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

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K.. **Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplementes.** Journal of agricultural and food chemistry, 2005.

RAMALHO, V. C; JORGE, N. Antioxidantes Utilizados em Óleos, Gorduras e alimentos Gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v.24, n.4, jul. / ago. 2006.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G.. **Química de Alimentos.** São Paulo: Editora Edgar Blucher: Instituto Mauá de Tecnologia, 2004.

RUSCHEL, C. K.; CARVALHO, H. H.; SOUZA, R. B.; TONDO, E. C.. **Qualidade microbiológica e físico-química de sucos de laranja comercializados nas vias publica de Porto Alegre/ RS.** Ciência e tecnologia alimentos, 2001.

SILVA, P. T.; LOPES, M. L. M.; MESQUITA, V. L. V.. **Efeito de diferentes processamentos sobre o teor de ácido ascórbico em suco de laranja utilizado na elaboração de bolo, pudim, e geléia.** Ciência tecnologia alimentos, 2006.

SILVA, NEUSELY DA. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** Valéria Christina Amstalden - São Paulo: Livraria Varela, 1997, p31.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C.C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CALVACANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRADÃO, M. S.; CHAVES, M. H.. **Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais.** Quim. Nova, vol.30, n°. 2, 351- 355, 2007.

SOUZA, D. R.; BRUNIERA, L. B.; SANTOS, F. P.. **Estabilidade do ácido ascórbico em sucos cítricos industrializados, armazenados sob condições simuladas de consumo doméstico.** Revista Terra e Cultura n° 48 e 49, 2009.

SUGAI, A. Y.; SHIGEOKA, D. S.; BADOLATO, G. G.; TADINI, C. C.. **Análise físico-química e microbiológica do suco de laranja minimamente processado armazenado em lata de alumínio.** Ciência tecnologia alimentos, 2002.

SHIRAHIGUE, L. D. **Caracterização química de extratos de sementes e casca de uva e seus efeitos antioxidantes sobre carne de frango processada e armazenada sob refrigeração.** 95 f. Dissertação (Mestrado em ciência e tecnologia de alimentos) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology.** 4. ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc., 2006.

TEIXEIRA, M.; MONTEIRO, M. **Degradação da vitamina C em suco de fruta.** Alim. Nutr., Araraquara, v.17, n.2, p.219-227, abr./jun. 2006.

TOCCHINI, R.P. **Efeito da temperatura e do tempo de armazenamento na qualidade do suco concentrado de laranja pasteurizado embalado assepticamente em Tetra-brik®.** 1985. 51f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1985.

VIEIRA, DENISE ALVES; SANTOS, PAULINE SAMBUGARO; HAMINIUK, CHARLES W. I.; PLATA – OVIEDO, MANUEL S. V.. **Avaliação da atividade antioxidante das folhas de acerola, guabiroba e ora-pro-nobis**. Revista Brasileira de pesquisa em alimentos, Campo Mourão (PR), v.1, n.2, p.129-134, jul./dez., 2010.

VILLELA, G. G.; BACILA, M.; TASTALDI, H. **Bioquímica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1978. 780p.

VIZZOTO, MARCIA; KROLOW, A. CRISTINA; WEBER, G. E. BRUCH. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010.16 p.

WONG, D. **Química de los alimentos, mecanismos y teoría**. Zaragoza: Acribia, 1989, 476p.

ZENEBO, ODAIR; PASCUET, N. SADOCCO; TIGLEA, PAULO. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.