

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

AMANDA ROMAN GUEDES

**LEVANTAMENTO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E  
ANTIMICROBIANO DE FRUTAS NATIVAS DA MATA ATLÂNTICA NO  
ESTADO DO PARANÁ**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2013

AMANDA ROMAN GUEDES

**LEVANTAMENTO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E  
ANTIMICROBIANO DE FRUTAS NATIVAS DA MATA ATLÂNTICA NO  
ESTADO DO PARANÁ**

Trabalho de conclusão de curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos da Coordenação dos Cursos de Tecnologia e Engenharia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, *Campus* Campo Mourão, como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheira de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk

CAMPO MOURÃO

2013



Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Campus Ponta Grossa

Nome da Diretoria  
Nome da Coordenação  
Nome do Curso



## TERMO DE APROVAÇÃO

LEVANTAMENTO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANO DE  
FRUTAS NATIVAS DA MATA ATLÂNTICA NO ESTADO DO PARANÁ

por

AMANDA ROMAN GUEDES

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 26 de abril de 2013 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk

Prof.(a) Orientador(a)

Prof. Msc. Marianne Ayumi Shirai

Membro titular

Prof. Dr. Odinei Hess Gonçalves

Membro titular

- O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Curso -

Dedico este trabalho aos meus pais e irmãos que estiveram presentes em toda minha vida e deram todo o tipo de suporte para que eu completasse este trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk, que me iniciou na pesquisa com sua orientação firme, competente e generosa. Despertou-me o interesse pelo tema e esteve ao meu lado por toda minha trajetória acadêmica dando suporte e abrindo muitas portas para meu futuro.

A todos meus professores pelas valiosas contribuições que fizeram à minha vida acadêmica profissional e pessoal e que colaboraram direta e indiretamente para a conclusão deste trabalho.

À Ângela Kwiatkowski, Marcos Vieira e Luana Caroline pelo empenho em ajudar-me na realização das práticas laboratoriais.

Aos servidores da UTFPR – *Campus* Campo Mourão pela presteza no atendimento e por cuidarem da nossa vida acadêmica.

Aos meus colegas de sala com os quais compartilhei respeito, amizade, estudos, momentos bons e importantes, recebendo ajuda e contribuições importantes para minha formação e evolução como aluna e ser humano durante esses 5 anos.

Enfim, muito obrigada a todos que estiveram ao meu lado, serão sempre lembrados com carinho.

## RESUMO

GUEDES, A. R. **Levantamento do Potencial Antioxidante e Antimicrobiano de Frutas Nativas da Mata Atlântica no Estado do Paraná**. 2012. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2012.

Devido a grande importância dos antioxidantes para a saúde dos humanos esta pesquisa visa levantar dados dos potenciais antioxidantes de sete frutas nativas da Mata Atlântica no Estado do Paraná, através dos métodos DPPH e beta-caroteno/ácido linoléico, além da quantificação de fenólicos totais, flavonóides, antocianinas e avaliação da atividade antibacteriana dos extratos etanólicos das frutas. O resultado afirma que as frutas avaliadas possuem uma ampla variação no conteúdo de compostos fenólicos totais, flavonoides, antocianinas e são uma fonte natural de antioxidantes, apresentam grande potencial para o processamento agroindustrial, sendo que a Jabuticaba e Uvaia apresentaram os maiores valores. Somente o extrato etanólico da Jabuticaba apresentou um leve efeito inibitório contra *Klebsiella pneumoniae*.

**Palavras-chave:** Antioxidantes. Compostos Fenólicos. Frutas Nativas.

## ABSTRACT

GUEDES, A. R. **The Increase of the Antioxidant's and Antimicrobial's Potential of Native Fruits of the Atlantic Forest in the State of Paraná.** 2012. 38f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2012.

Due to the great importance of antioxidants for the human health, this research aims to collect data of potential antioxidants from seven native fruits from the Atlantic Forest in Paraná State, through the DPPH methods and beta-caroteno/linoleic acid, besides quantification of total phenolic, flavonoids, anthocyanins and evaluation of antibacterial activity from ethanol extracts of the fruit. The result confirms that the evaluated fruits have a wide variation in the content of total phenolics, flavonoids, anthocyanins and are a natural source of antioxidants, have great potential for agro-processing, being that Jaboticaba and Uvaia have presented the highest values. Only the ethanol extract from the Jaboticaba has showed a mild inhibitory effect against *Klebsiella pneumoniae*.

**Keywords:** Antioxidants. Phenolic Compounds. Native Fruits.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - VOLUME VERSUS TEMPO DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE JABUTICABA.....	21
FIGURA 2 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E VALORES DE EC <sub>50</sub> DAS FRUTAS BASEADO NO TESTE DO DPPH (ND – NÃO DETERMINADO).....	27
FIGURA 3 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO TESTE β-CAROTENO/ÁCIDO LINOLÉICO.....	29



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - DELINEAMENTO FATORIAL QUE FOI UTILIZADO PARA AVALIAR A INFLUÊNCIA DO TEMPO EM RELAÇÃO SOLUTO/SOLVENTE NA EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DA JABUTICABA.....	16
TABELA 2 - DELINEAMENTO FATORIAL COMPLETO DA EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DA JABUTICABA.....	21
TABELA 3 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DA JABUTICABA.....	22
TABELA 4 - COEFICIENTES DE REGRESSÃO DO MODELO POLINOMIAL DE SEGUNDA ORDEM PARA A EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DA JABUTICABA.....	23
TABELA 5 - TOTAL DE FENÓLICOS, FLAVONÓIDES E ANTOCIANINAS PRESENTES NAS FRUTAS.....	25

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>11</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	11
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>12</b>
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>15</b>
4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO .....	15
4.2 MATÉRIA-PRIMA.....	15
4.3 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS .....	15
4.4 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS .....	16
4.5 FLAVONÓIDES E ANTOCIANINAS.....	17
4.6 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE ATRAVÉS DO MÉTODO DPPH .....	17
4.7 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE ATRAVÉS DO MÉTODO $\beta$ -CAROTENO/ÁCIDO LINOLÉICO.....	18
4.8 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS EXTRATOS DAS FRUTAS.....	19
4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	19
<b>5 RESULTADO E DISCUSSÃO</b> .....	<b>20</b>
5.1 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS.....	20
5.2 CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS, FLAVONÓIDES E ANTOCIANINAS .....	23
5.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DO DPPH.....	26
5.4 TESTE DO BETA-CAROTENO/ÁCIDO LINOLÉICO.....	28
5.5 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA.....	29
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>30</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>31</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As frutas tropicais são fontes ricas de compostos relacionados com a prevenção de doenças e prolongamento da vida ativa. Os carotenóides, vitaminas e fenólicos, especialmente flavonóides, são conhecidos como antioxidantes naturais, capazes de combater radicais livres, decompor peróxidos, extinguir oxigênio singlete e triplete, inibir enzimas e por possuírem ação sinérgica. Níveis aumentados de espécies reativas de oxigênio geram estresse oxidativo, o qual está associado a doenças crônicas e degenerativas. Os antioxidantes defendem as células contra as moléculas instáveis, seja por se oxidarem preferencialmente, removerem catalisadores, ou repararem danos causados por radicais livres. É fato amplamente aceito que as frutas fornecem antioxidantes, os quais protegem proteínas e lipídios celulares contra reações oxidativas que facilitam a carcinogênese, aterogênese e outras doenças. Esses alimentos estão associados com reduzidas incidência e taxa de mortalidade de câncer e doenças cardíacas, além de outros benefícios.

O Paraná destaca-se entre os estados da federação por ser um grande produtor de frutas. No entanto, pouca atenção tem sido dada às frutas típicas da região da Mata Atlântica do Paraná. Sendo assim, esta pesquisa busca realizar um levantamento completo do potencial antioxidante das frutas típicas da região da Mata Atlântica do estado do Paraná, procurando a valorização das mesmas.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar levantamento do potencial antioxidante e da atividade antimicrobiana de frutas típicas da região da Mata Atlântica, estado do Paraná.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a extração dos compostos fenólicos das frutas: Araçá do campo (*Psidium guineense*), Cambuci (*Campomanesia phaea*), Feijoa (*Feijoa sellowiana*), Gabiroba (*Campomanesia pubescens*), Grumixama (*Eugenia brasiliensis*), Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) e Uvaia (*Eugenia uvalha*);
- Quantificar os compostos fenólicos totais, antocianinas e flavonóides presentes nas frutas;
- Determinar o potencial antioxidante através dos métodos DPPH e beta-caroteno/ácido linoléico;
- Avaliar a atividade antibacteriana dos extratos etanólicos das frutas;

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Estudos clínicos e epidemiológicos têm mostrado que padrões dietéticos estão significativamente associados com a prevenção de doenças crônicas, tais como doenças do coração, câncer, diabetes e mal de Alzheimer (TEMPLE, 2000; WILLETT, 2002). O consumo de frutas e vegetais tem sido altamente associado à redução no risco de desenvolvimento de câncer (DOLL, 1990).

A oxidação é um processo metabólico que leva à produção de energia necessária para as atividades essenciais das células. Entretanto, o metabolismo do oxigênio nas células vivas também leva à produção de radicais (MCCORD, 1994). Em um metabolismo normal, os níveis de oxidantes e antioxidantes em um humano são mantidos em equilíbrio, o que é importante para manter as condições fisiológicas ótimas. A superprodução de oxidantes em certas condições pode causar um desequilíbrio (stress), levando a um dano oxidativo de várias biomoléculas, tais como os lipídios, DNA e proteínas (LIU et al., 2002). Evidências sugerem que este dano oxidativo ou stress oxidativo, indutor potencial de câncer, pode ser prevenido ou limitado pela dieta antioxidante encontrada em frutas e vegetais. Com base nestes dados, a importância da pesquisa por antioxidantes naturais tem aumentado (JAYAPRAKASHA et al., 2000).

Fitoquímicos em frutas e vegetais podem ter um mecanismo complementar e de sobreposição nos agentes oxidativos, estimulando o sistema imune, atuando na regulação da expressão gênica, na proliferação celular e apoptose, no metabolismo hormonal e exercendo efeitos antivirais e antibacterianos (LIU et al., 2002). Estudos recentes mostram que os fitoquímicos (como os carotenóides e as antocianinas), especialmente os fenólicos, em frutas e vegetais são os principais compostos bioativos com benefício na saúde humana. Compostos típicos que possuem atividade antioxidante incluem a classe de fenóis, ácidos fenólicos e seus derivados, flavonóides, tocoferóis, fosfolipídios, aminoácidos, ácido fítico, ácido ascórbico, pigmentos e esteróis. Antioxidantes fenólicos são antioxidantes primários que agem como terminais para os radicais livres (XING; WHITE, 1996).

As propriedades antimicrobianas de substâncias de plantas e frutíferas têm sido reconhecidas empiricamente durante séculos, mas foram confirmadas

cientificamente apenas recentemente. Vários grupos de pesquisadores estudam a atividade biológica de plantas medicinais e frutíferas originárias de diversas regiões do mundo orientados pelo uso popular das espécies nativas. Por outro lado, os microrganismos que causam prejuízos à saúde humana estão se mostrando resistentes à maioria dos antimicrobianos conhecidos, o que incentiva ainda mais a procura por antibióticos de ocorrência natural.

O Brasil apresenta abundante riqueza natural de frutos nativos, com características peculiares e atraentes para a industrialização, devido à extensão territorial, à posição geográfica e às suas condições climáticas (FRANCO; SHIBAMOTO, 2000). Esses frutos são consumidos em sua maioria *in natura* pelas populações locais e constituem fonte de alimentos para animais silvestres. Embora apresentem potencial como fonte nutricional e como matéria-prima para agroindústria de alimentos, dados sobre o cultivo, produção e utilização dessas espécies frutíferas na alimentação humana são escassos.

A diversidade de árvores frutíferas nativas existentes na Região Sul e Sudoeste do Paraná está sofrendo as consequências do desmatamento, das queimadas e das monoculturas. Além disso, o desconhecimento sobre o potencial produtivo e alimentar destas espécies resulta em baixo aproveitamento e agrava a erosão genética dessas espécies (CITADIN et al., 2005).

O estudo das características funcionais, incluindo o potencial antioxidante de frutas nativas da Mata Atlântica e da atividade biológica (potencial antimicrobiano), podem servir de incentivo à conservação, cultivo e manutenção destas espécies endêmicas. A valorização de frutas nativas da região pode gerar renda para as populações locais e proteção ambiental por meio da redução de áreas destinadas à pastagens e plantio de oleaginosas. As espécies frutíferas nativas representam um grande potencial econômico, especialmente para o agricultor familiar, pela possibilidade de produção de frutos diferenciados, uma vez que o mercado consumidor está sempre à procura de novos produtos. Todos os municípios do estado do Paraná em que a fruticultura se destaca entre as cinco maiores atividades da agropecuária apresentam a maior renda bruta gerada no campo e se tornaram prósperos nos últimos 10 anos. O faturamento bruto das frutas é maior na comparação com outras culturas, segundo a Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná. Além disso, o potencial presente nestas frutas pode ser

aproveitado pela indústria alimentícia (produtos nutracêuticos), pela indústria farmacêutica e cosmética.

Desta forma, o objetivo deste projeto de pesquisa é realizar um levantamento do potencial antioxidante das frutas típicas da região da Mata Atlântica do estado do Paraná. Espera-se que os resultados do trabalho em questão proporcionem o desenvolvimento social, econômico e ambiental da região, por meio da valorização de frutas nativas da Mata Atlântica, gerando renda para as populações locais e a proteção ambiental por meio da redução de áreas destinadas à pastagens e plantio de oleaginosas.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO

A pesquisa foi desenvolvida no laboratório da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *Campus* Campo Mourão.

### 4.2 MATÉRIA-PRIMA

Foram avaliadas as seguintes frutas da Mata Atlântica Brasileira: Araçá do campo (*Psidium guineense*), Cambuci (*Campomanesia phaea*), Feijoa (*Feijoa sellowiana*), Gabiroba (*Campomanesia pubescens*), Grumixama (*Eugenia brasiliensis*), Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) e Uvaia (*Eugenia uvalha*). As frutas (Araçá do campo, Cambuci e Gabiroba) e polpas (Feijoa, Grumixama, Jabuticaba e Uvaia) foram fornecidas pelo Sítio do Belo, localizado na cidade de Paraibuna, estado de São Paulo.

### 4.3 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

Para que a pesquisa atingisse o objetivo primeiramente foram realizados pré-testes para otimizar a extração dos compostos bioativos das frutas. Um delineamento fatorial completo 3<sup>2</sup> foi utilizado para avaliar a influência do tempo e da relação soluto/solvente na extração dos compostos fenólicos da jabuticaba, seguindo o mesmo parâmetro para as demais frutas. De acordo com Haminiuk et al. (2011) o melhor solvente para esse tipo de extração é etanol 40%, em todos experimentos foram colocados 5 g da polpa completando com o volume proposto do solvente. Após completar o tempo de agitação das amostras, estas foram centrifugadas a 6000 rpm por 10 minutos e, logo medidas espectrofotometricamente



no comprimento de onda de 765 nm para quantificação dos compostos fenólicos totais. Toda a análise foi realizada em temperatura ambiente. O sobrenadante que apresentou melhores condições de extração foi utilizado para quantificar os compostos fenólicos totais, flavonóides, antocianinas e para avaliar o potencial antibacteriano. Podemos conferir na Tabela 1 como foi feito o delineamento proposto.

**Tabela 1. Delineamento fatorial que foi utilizado para avaliar a influência do tempo e da relação soluto/solvente na extração dos compostos fenólicos da jabuticaba.**

<b>Experimentos</b>	<b>Tempo (min)</b>	<b>Volume (mL)</b>
1	60	20
2	60	30
3	60	40
4	120	20
5	120	30
6	120	40
7	180	20
8	180	30
9	180	40

#### 4.4 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos dos extratos de frutas foram estimados pelo método de análise colorimétrica, através da metodologia de Singleton & Rossi (1965) pelo método do Folin-Ciocalteu, que se baseia na redução dos ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico em solução alcalina e medida espectrofotométrica no comprimento de onda de 765 nm. O ácido gálico foi utilizado como padrão, sendo assim a curva de calibração foi elaborada com concentrações de 0 a 500 mg/L. Os valores obtidos de fenólicos totais foram expressos como equivalentes de ácido gálico (mg de ácido gálico/g de amostra).

#### 4.5 FLAVONÓIDES E ANTOCIANINAS

O conteúdo total de antocianinas dos extratos das frutas foi determinado utilizando o método de pH diferencial (GIUSTI; WROLSTED, 2001). A absorvância foi medida a 520 nm e 700 nm utilizando tampão KCL (0,025 mol/L, pH 1,0) e tampão CH<sub>3</sub>COONa (0,4 mol/L, pH 4,5). O coeficiente de extinção molar de 26.900 cm<sup>-1</sup>mol<sup>-1</sup> e peso molecular de 449,2 g mol<sup>-1</sup> foram utilizados para o cálculo de antocianinas. Os resultados foram expressos em equivalente de cianidina-3-glucosídeo (CGE) por 100 g de peso fresco. A quantificação do conteúdo total de flavonóides (compostos contendo flavonóis, flavonas e isoflavonas) nos extratos das frutas foi conduzida através do método colorimétrico com cloreto de alumínio (AlCl<sub>3</sub>), (CHANG et al., 2002). Os resultados foram expressos em equivalentes de quercetina (QE) por 100 g de peso fresco.

#### 4.6 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE ATRAVÉS DO MÉTODO DPPH

Este teste avalia a habilidade que uma substância tem de sequestrar o radical livre estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e está baseado na descoloração de uma solução composta pelo radical estável, de cor violeta, quando da adição de substâncias que podem ceder um átomo de hidrogênio. A atividade antioxidante pelo método DPPH foi realizada em triplicata de acordo com a metodologia de Mensor et al. (2001). De acordo com os valores de compostos fenólicos totais obtidos, seis diferentes concentrações dos extratos foram utilizadas. Um mL de uma solução de DPPH em etanol na concentração 0,3 mmol/L foi adicionado em 2,5 mL dos extratos nas diferentes concentrações e reagiu à temperatura ambiente. Após 30 minutos os valores de absorvância foram lidos a 518 nm e convertidos em porcentagem de atividade antioxidante. Etanol (1,0 mL) mais 2,5 mL do extrato foi utilizado como branco e 1,0 mL da solução de DPPH mais 2,5 mL de etanol foi utilizado como controle negativo. Os valores do EC<sub>50</sub> (referente à concentração da amostra necessária para inibir 50% do radical) foram calculados pela regressão linear dos

dados de porcentagem média da atividade antioxidante (ordenada) e concentração dos extratos (abscissa) em seis diferentes concentrações dos extratos das frutas escolhidos.

#### 4.7 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE ATRAVÉS DO MÉTODO $\beta$ -CAROTENO/ÁCIDO LINOLÉICO

O método do beta-caroteno é amplamente utilizado em laboratório ao redor do mundo. Uma vez que altas temperaturas não são requeridas, a capacidade antioxidante de extratos de vegetais termo-sensíveis pode ser determinada e qualitativamente avaliada (HASSIMOTTO; GENOVESE; LAJOLO, 2005).

A atividade antioxidante dos extratos das frutas foi avaliada pelo sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico de acordo com a metodologia de Emmons, Peterson & Paul (1999) com modificações proposta por Prado (2009). Uma alíquota de 3 mL da emulsão  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico foi misturada com 50  $\mu$ L dos extratos das frutas na concentração de 100 ppm e incubada em banho-maria à 50 °C. A oxidação da emulsão foi monitorada por espectrofotometria através da medida da absorbância durante 120 minutos. As amostras controle tiveram 50  $\mu$ L de etanol no lugar dos extratos das frutas. Os testes foram conduzidos em triplicata.

Nesta reação, a oxidação do ácido linoléico gera radicais peróxidos livres devido a abstração do átomo de hidrogênio de grupos metilenos dialílicos do ácido linoléico. O radical livre então é oxidado para beta-caroteno altamente insaturado. A presença de antioxidantes nos extratos irá minimizar a oxidação do beta-caroteno para hidroperóxidos. Hidroperóxidos formados no sistema irão ser neutralizados pelos antioxidantes dos extratos (KUMARAN; KARUNAKARAN, 2006). Neste estudo, a capacidade antioxidante foi determinada através da habilidade dos extratos das amostras inibir o branqueamento do beta-caroteno causado pelos radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoléico.

#### 4.8 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS EXTRATOS DAS FRUTAS

O método de difusão em disco (OSTROSKY et al, 2008) foi aplicado para determinar a atividade antimicrobiana dos extratos. As seguintes linhagens foram utilizadas: *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 e *K. pneumoniae* ATCC 13883. Discos de papel com 6 mm de diâmetros foram impregnados com 20 µL dos extratos das frutas dissolvidos em etanol 40% para a obtenção da concentração de 300 ppm e transferidos para um placa de Petri com ágar Mueller-Hinton. O pré-tratamento consiste no espalhamento de 0,1 mL da bactéria na fase logarítmica a uma densidade que foi ajustada para um padrão de turbidez de 0,5 McFarland ( $10^8$  UFC/mL). Cloranfenicol (1000 mg/L) foi utilizado como controle positivo e etanol como controle negativo. Após, os discos foram incubados a 37 °C por 24 h, os diâmetros das zonas de inibição foram medidos em milímetros. Os testes foram conduzidos em duplicata.

#### 4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os testes foram realizados em triplicata com exceção dos testes antimicrobianos que foram feitos em duplicata. Os resultados foram expressos com os valores das médias mais o desvio padrão. Foi utilizado o teste de Tukey para a comparação entre as médias obtidas e avaliar possíveis diferenças significativas entre as amostras. As análises estatísticas foram realizadas com o software Statistica 7.1 (StatSoft, Tulsa, OK, USA).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

Em geral, a eficiência de extração de um composto é influenciada por múltiplos parâmetros tais como temperatura, tempo e polaridade do solvente, entre outros, e seus efeitos podem ser ou independente ou interativo (MONTGOMERY, 2001). A Tabela 2 apresenta os resultados da extração dos compostos fenólicos obtidos pelo delineamento experimental para a fruta jabuticaba e, de acordo com a Figura 1, somente a variável volume desempenhou um importante papel na extração dos compostos fenólicos de Jabuticaba ( $p \leq 0,05$ ) sendo o mesmo comportamento observado para as outras frutas avaliadas. Este resultado indica que a extração dos compostos fenólicos não foi dependente do tempo na faixa estudada. Desta forma, como o tempo não teve influência, o menor tempo de extração (60 min) foi escolhido para extrair os compostos fenólicos. Resultado similar foi obtido por Luthria (2008) estudando a influência de condições experimentais na extração de compostos fenólicos de salsa. O autor não encontrou mudanças significativas no rendimento da extração, as quais foram avaliadas em três diferentes tempos.

Tabela 2. Delineamento fatorial completo da extração dos compostos fenólicos da jabuticaba.

Experimentos	Tempo (min)	Volume (mL)	mg/L*	mg/g (base seca)
1	60	20	472,90	6,86±0,01
2	60	30	368,40	8,02±0,02
3	60	40	307,90	8,94±0,01
4	120	20	465,40	6,76±0,05
5	120	30	363,40	7,91±0,02
6	120	40	305,40	8,87±0,02
7	180	20	466,40	6,77±0,05
8	180	30	361,90	7,88±0,03
9	180	40	314,90	9,14±0,03

\*Quantidade de compostos fenólicos. Conteúdo de umidade da jabuticaba (86,23%).

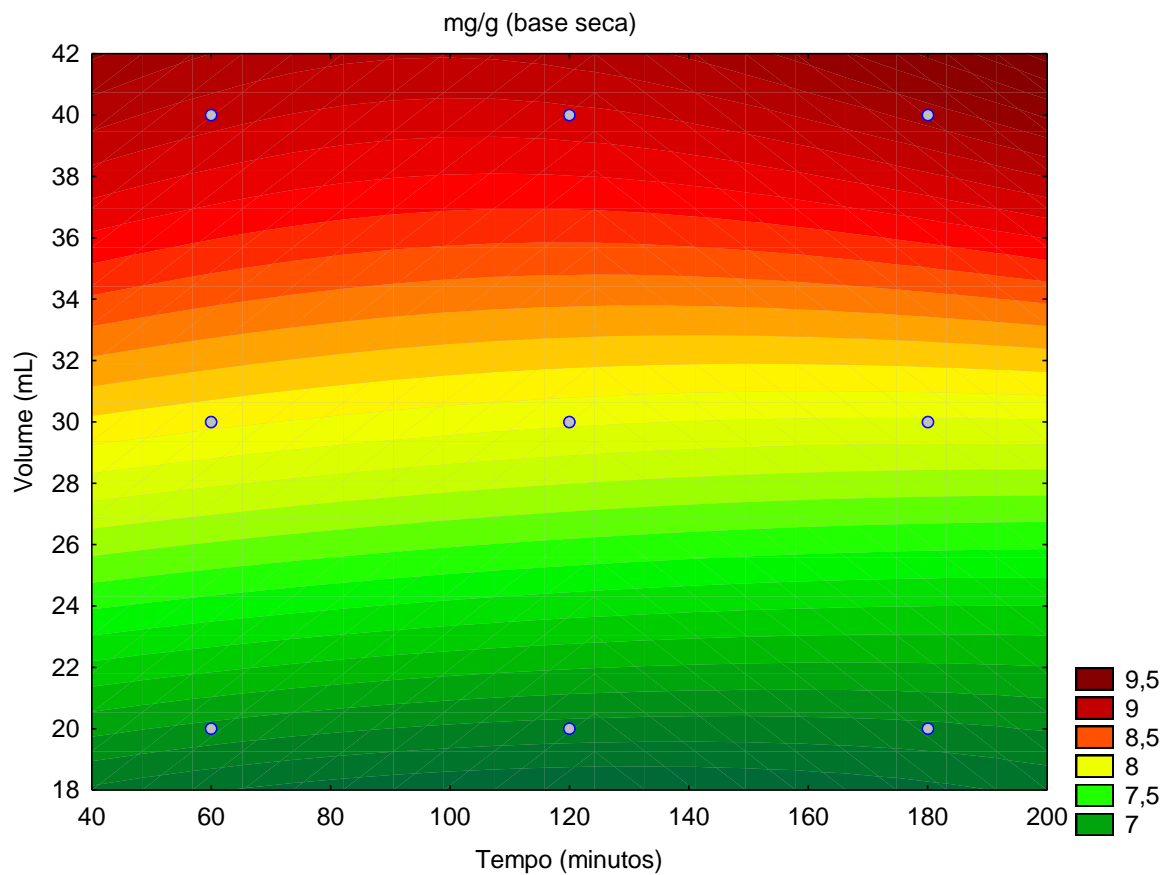


Figura 1 - Volume versus tempo da extração de compostos fenólicos de jabuticaba

Desta forma, a extração com um longo tempo provavelmente causa a degradação dos compostos fenólicos. Luz e o oxigênio são os dois fatores mais importantes que facilitam as reações de degradação. Enzimas (principalmente enzimas oxidativas) presentes em frutas são liberadas durante a extração e podem promover tal degradação (PALMA; PIÑEIRO; BARROSO, 2001). A análise de variância e os coeficientes de regressão dos parâmetros tempo de volume estão apresentados nas Tabelas 3 e 4.

**Tabela 3. Análise de variância da extração dos compostos fenólicos totais da jabuticaba.**

<b>Variáveis</b>	<b>Soma dos Quadrados</b>	<b>Graus de Liberdade</b>	<b>Quadrado Médio</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Tempo L+Q	0,0168	2	0,008	1,273	0,397
Volume L+Q	7,178	2	3,589	541,754	0,0001*
Tempo x Volume	0,022	1	0,022	3,345	0,164
Erro	0,019	3	0,007		
Total	7,237	8			

\* $p \leq 0,05$ , L – Linear, Q – Quadrático. Coeficiente de determinação ( $R^2$ ) = 0,9972.

A qualidade do ajuste da equação pelo modelo polinomial foi expressa pelo coeficiente de determinação  $R^2$  e sua significância estatística foi verificada pelo teste F. A análise de variância demonstrou que o modelo de segunda ordem ajustou-se bem aos dados experimentais. O valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) do modelo foi 0,9972 e o  $R^2$  ajustado de 0,9926, os quais indicam que o modelo adequadamente representou a relação entre os parâmetros escolhidos.

**Tabela 4. Coeficientes de regressão do modelo polinomial de segunda ordem para a extração dos compostos fenólicos da jabuticaba.**

<b>Termo</b>	<b>Coeficientes</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>P</b>
$\beta_0$	7,910	0,027	0,000*
<b>Linear</b>			
$\beta_1$ - Tempo	-0,005	0,033	0,880
$\beta_2$ - Volume	1,093	0,033	0,000*
<b>Quadrático</b>			
$\beta_{11}$ - Tempo	-0,045	0,028	0,210
$\beta_{22}$ - Volume	0,024	0,028	0,462
<b>Interação</b>			
$\beta_{12}$	0,074	0,041	0,164

\* $p \leq 0,05$

## 5.2 CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS, FLAVONÓIDES E ANTOCIANINAS

Existem muitas substâncias fenólicas em plantas e, portanto em alimentos. Uma dieta rica de fontes fenólicas incluem frutas, chá, café, cacau e alimentos processados derivados destes produtos, tais como vinho. Em altos níveis, e em particular quando os níveis de açúcares são baixos, os fenólicos fornecem adstringência, amargor e cor aos alimentos. Em vinho tinto, chá sem açúcar e produtos de chocolate, o sabor é altamente influenciado pela presença de fenólicos. Além disso, frutas e vegetais representam uma excelente fonte de compostos bioativos e seu consumo tem sido associado com o risco reduzido de várias doenças crônicas incluindo o câncer, cardiovasculares e doenças inflamatórias crônicas (GENOVESE et al., 2008). Desta forma, a avaliação dos compostos fenólicos em alimentos é de grande importância (WATERHOUSE, 2002).

Neste estudo sete diferentes frutas da Mata Atlântica brasileira foram estudadas em relação ao seu potencial antioxidante. Algumas das frutas selecionadas para o presente estudo são desconhecidas fora do seu ambiente natural e outras são mal conhecidas (VASCO; RUALES; KAMAL-ELDIN, 2008). A



Tabela 5 resume os valores dos compostos fenólicos, flavonóides e antocianinas das frutas Uvaia, Araçá, Jabuticaba, Gabiroba, Feijoa, Grumixama e Cambuci. Uma ampla variação foi observada na quantidade de compostos fenólicos das frutas, com os valores mais altos e baixos encontrados para o Cambuci ( $107,69 \pm 6,19$  mg GAE/g peso seco) e Jabuticaba ( $9,55 \pm 0,17$  mg GAE/g peso), respectivamente. Diferenças estatísticas ( $p \leq 0,05$ ) foram encontradas nos compostos fenólicos das amostras. Gonçalves, Lajolo & Genovese (2010) avaliaram o potencial antioxidante de frutas nativas brasileiras e observaram uma alta quantidade de compostos fenólicos em frutas frescas e na polpa de fruta de Cambuci. Reynertson et al. (2008) encontrou  $31,6 \pm 0,39$  mg GAE/g em peso seco em jabuticaba liofilizada.

Vários compostos redutores podem interferir na quantificação dos polifenóis pelo método de Folin-Cicauteau. Entre eles, a vitamina C supõe-se que tem a maior contribuição. De acordo com Georgé et al. (2005), a contribuição da vitamina C foi de 32% da interferência total na quantificação de compostos fenólicos de suco de laranja e 46% em suco de maçã. A contribuição da vitamina C foi notavelmente baixa em suco de tomate, com 9% da interferência total expressa em GAE.

Atualmente, não há muitos dados sobre os compostos fenólicos da maioria das frutas estudadas neste trabalho, o que torna difícil obter dados para a comparação dos resultados.

O conteúdo de flavonóides totais variou de  $14,87 \pm 1,53$  a  $77,97 \pm 6,25$  miligramas de quercetina por 100 g de peso de fruta fresca. Essas quantidades são comparáveis com os resultados descritos na literatura para extratos de outras plantas (RUFINO et al., 2010a). A composição de flavonóides de algumas frutas tem sido relatada, mas mais dados são necessários. Plantas ricas em flavonóides podem ser uma boa fonte de antioxidantes que podem auxiliar no aumento da capacidade antioxidante de um organismo e proteger contra a peroxidação lipídica (SAHREEN; KHAN; KHAN, 2010). A Feijoa apresentou o maior valor de flavonóide entre as frutas avaliadas e a Grumixama apresentou o menor valor de flavonóide.

O teste da ANOVA mostrou diferenças entre as quantidades de flavonóides entre as frutas avaliadas ( $p \leq 0,05$ ) de acordo com dados da Tabela 5. De acordo com Hoffmann-Ribani, Huber & Rodriguez-Amaya (2009) os principais flavonóides encontrados em frutas brasileiras frescas e processadas são a miricetina, quercetina e caempferol. Quercetina é o flavonóide mais comum encontrado no estudo deles.

Tabela 5. Total de fenólicos, flavonóides e antocianinas presentes nas frutas<sup>ω</sup>.

Frutas	Conteúdo de Compostos Fenólicos <sup>#</sup>	Conteúdo de Compostos Fenólicos <sup>*</sup>	Flavonóides (mg/100g <sup>ψ</sup> )	Antocianinas (mg/100g <sup>β</sup> )
Uvaia	373,40±14,10 <sup>e</sup>	24,09±0,91 <sup>c</sup>	58,72±2,67 <sup>b</sup>	4,77±0,41 <sup>e</sup>
Araçá	684,73±5,03 <sup>d</sup>	12,82±0,09 <sup>d</sup>	49,46±2,84 <sup>b</sup>	5,37±0,24 <sup>e</sup>
Jaboticaba	312,73±5,77 <sup>e</sup>	9,55±0,17 <sup>d</sup>	31,60±4,00 <sup>c</sup>	342,23±2,31 <sup>a</sup>
Gabiroba	2714,00±216,56 <sup>b</sup>	48,42±3,86 <sup>b</sup>	56,21±3,29 <sup>b</sup>	15,21±0,63 <sup>d</sup>
Feijoa	1834,00±103,92 <sup>c</sup>	54,42±3,08 <sup>b</sup>	77,97±6,25 <sup>a</sup>	70,24±1,20 <sup>c</sup>
Grumixama	568,73±31,50 <sup>d</sup>	25,98±1,43 <sup>c</sup>	14,87±1,53 <sup>d</sup>	266,34±2,92 <sup>b</sup>
Cambuci	3414,00±190,78 <sup>a</sup>	107,69±6,19 <sup>a</sup>	30,16±2,08 <sup>c</sup>	19,44±0,23 <sup>d</sup>

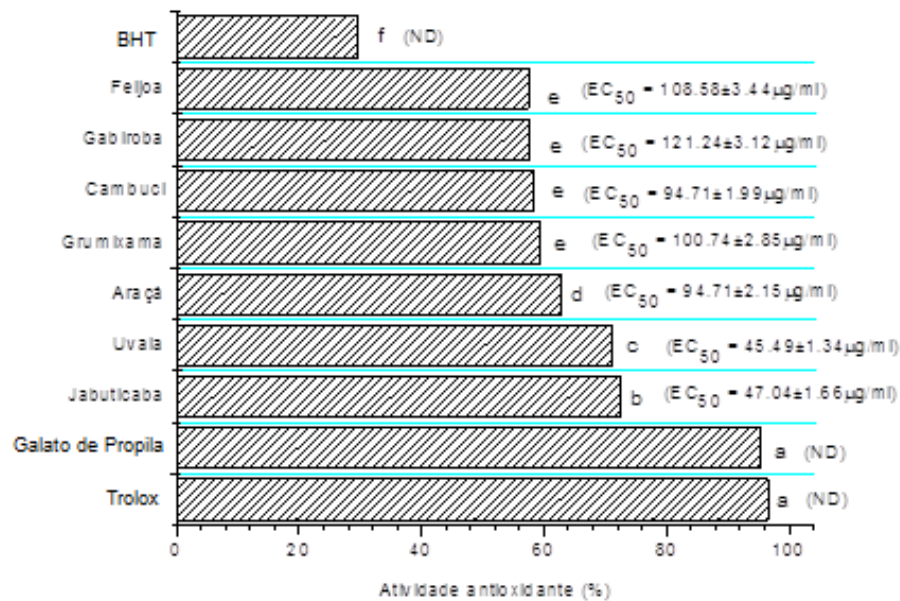
<sup>ω</sup> Valor médio ± desvio padrão; n = 3; <sup>#</sup> mg GAE/L (miligrama de ácido gálico equivalente por litro); <sup>\*</sup> mg GAE/g (miligrama de ácido gálico equivalente em peso seco); <sup>ψ</sup> (miligramas de quercetina por 100g peso fresco); <sup>β</sup> (miligramas por 100g de fruta fresca). Valores nas colunas seguidas pela mesma letra não são estatisticamente significativas (p>0,05).

Diferenças quantitativas na concentração de antocianinas foram observadas entre as frutas (p≤0,05). A Uvaia apresentou o menor quantidade de antocianina (4,77±0,41 mg/100g de peso fresco) e o maior valor foi encontrado para a jaboticaba (342,23±2,31 mg/100g de peso fresco). Na literatura há pouca informação sobre antocianinas de frutas brasileiras. O potencial antioxidante de frutas brasileiras foi investigado por Rufino et al. (2010b) e os autores observaram na jaboticaba uma quantidade de 58,1±0,9 mg/100g de peso fresco de antocianinas totais. No entanto, Santos, Veggi & Meireles (2010) apresentaram valores de antocianinas na jaboticaba variando de 3,67 a 6,16 mg/g de peso fresco. Esta variação pode ser explicada devido a diferenças nas variedades, clima, grau de maturação e método de extração. Antocianinas ocorrem em quase todas as famílias das plantas e, portanto em muitas frutas comestíveis. Em alimentos, a principal fonte de antocianinas são as frutas de bagas, como amoras, uvas e mirtilos, etc, e alguns vegetais, tais como berinjela e abacate. Outras fontes incluem laranjas, olivas, cebolas roxas, figo, batata doce, manga e milho roxo (LAURO; FRANCIS, 2000; HENDRY; HOUGHTON, 1996). O conteúdo de antocianinas em frutas apresenta uma ampla variação: framboesa: 10-60 mg/100g de peso fresco, morango: 15-35 mg/100g de peso fresco, uva vermelha: 30-375 mg/100g de peso fresco, mirtilo: 25-

497 mg/100g de peso fresco, abacate: 750 mg/100g de peso fresco (DELGADO VARGAS; PAREDES-LÓPEZ, 2003).

### 5.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DO DPPH

DPPH é um radical livre, estável a temperatura ambiente, o qual produz uma solução violeta em etanol. Ele é reduzido a uma molécula antioxidante, resultado em uma solução descolorida em etanol. O uso do DPPH fornece uma maneira fácil e rápida de avaliar a capacidade antioxidante (SILVA et al., 2005). O potencial antioxidante dos extratos etanólicos das frutas através do teste DPPH pode ser visualizado na Figura 2. Todas as frutas apresentam potencial antioxidante e um bom ajuste linear dos dados foi observado ( $R^2$  variou de 0,966 a 0,998). A atividade antioxidante variou de 30,17% (BHT) a 96,68% (Trolox). Os melhores valores foram encontrados nos extratos de Jabuticaba e Uvaia com uma atividade antioxidante de 72,41% e 71,08%, respectivamente. Não foram encontradas diferenças estatísticas entre a atividade antioxidante dos extratos de Uvaia e Jabuticaba ( $p>0,05$ ). Os controles Trolox e Galato de Propila apresentaram alta atividade antioxidante com exceção do BHT. É digno de nota que no estudo não foi encontrado uma correlação entre os conteúdos de compostos fenólicos e o sequestro do radical livre ( $r=0,36$ ).



**Figura 2 - Atividade antioxidante e valores de EC<sub>50</sub> das frutas baseado no teste do DPPH.**

Barras com letras diferentes são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

ND – Valor de EC<sub>50</sub> não determinado.

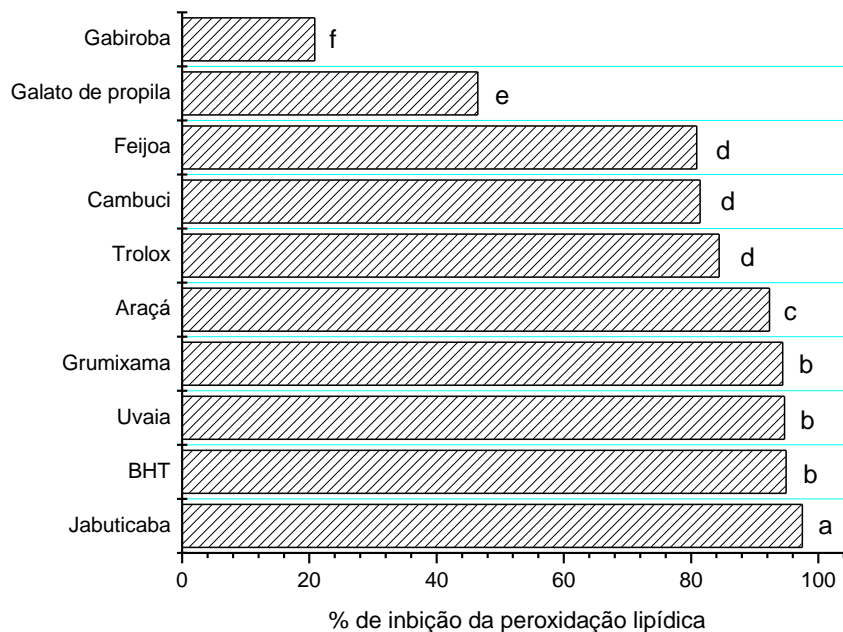
Diferentes correlações entre compostos fenólicos e atividade antioxidante do DPPH foram encontradas por Ranilla et al. (2010) quando estudaram plantas medicinais, ervas e temperos. Os autores obtiveram correlação em plantas medicinais e temperos ( $r = 0,81$  e  $0,86$ , respectivamente), no entanto o mesmo comportamento não foi encontrado para chá de ervas ( $p > 0,05$ ). Liu et al. (2007) estudaram o conteúdo de compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante pelo método DPPH de alface. Quando compararam seus dados com um modelo de correlação linear, os compostos fenólicos não foram correlacionados com o teste do DPPH ( $R^2 = 0,27$ ). Uma correlação negativa e significativa entre polifenóis e o DPPH foi observado por Rufino et al. (2010a) na investigação de 18 frutas tropicais não-tradicionais do Brasil. Devido todos os métodos para a avaliação dos compostos fenólicos e atividade antioxidante serem baseados nas propriedades redox, deveria existir alguma correlação entre os teste (STRATIL; KLEJDUS; KUBÁN, 2007). No entanto, dados na literatura sobre a relação entre a concentração de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante são contraditórios. Enquanto alguns autores tem observado altas correlações, outros não encontram direta correlação ou somente fraca correlação (STRATIL; KLEJDUS; KUBÁN, 2007). Baseado na

concentração na qual 50% do sequestro do radical ocorre, é clara a relação entre a atividade antioxidante e os valores de  $EC_{50}$  das frutas avaliadas. Os valores da % da atividade antioxidante foram inversamente proporcionais. Os valores de  $EC_{50}$  variaram de  $45,49 \pm 1,34$   $\mu\text{g/mL}$  (extrato Uvaia) para  $121,24 \pm 3,12$   $\mu\text{g/mL}$  (extrato de Gabiroba).

Os extratos das frutas revelaram-se muito similares em relação as suas propriedades antioxidantes, exceto para a Uvaia e Jabuticaba. Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os valores de  $EC_{50}$  dessas duas frutas ( $p > 0,05$ ). Ambas os extratos das frutas apresentaram bons valores da % antioxidante no sistema DPPH e baixos valores de  $EC_{50}$ . Esses valores são menores que os obtidos por Prado (2009) estudando os compostos fenólicos e a atividade antioxidante de extratos de abacaxi, acerola, manga, maracujá, melão, goiaba e pitanga.

#### 5.4 TESTE DO BETA-CAROTENO/ÁCIDO LINOLÉICO

A Figura 3 apresenta a atividade antioxidante dos extratos das frutas. A absorbância diminuiu rapidamente nas amostras sem antioxidante, sendo que na presença do antioxidante a cor foi retida para um tempo maior. Entre os controle positivos utilizados neste teste, o BHT obteve os mais altos valores de atividade antioxidante de  $94,94 \pm 0,91\%$  a 100 ppm. Seis extratos das frutas apresentaram alta atividade antioxidante ( $>$  que 80 %). Jabuticaba e Uvaia apresentaram  $97,51 \pm 0,61$  e  $94,71 \pm 2,15\%$  da inibição da peroxidação lipídica, respectivamente. O mesmo comportamento foi observado em ambas às frutas no teste do DPPH. A atividade antioxidante apresentada pelos extratos de frutas e outros antioxidantes dependem de vários fatores, tais como a concentração, temperatura, caráter hidrofóbico e hidrofílico, caráter anfipático, a presença de sinergismo e a natureza química ou do meio aos quais são adicionados (LAGOURI; BOSKOU, 1995).



**Figura 3. Atividade antioxidante do teste beta-caroteno/ácido linoléico.**

Barras com letras diferentes são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

## 5.5 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Os métodos de difusão são extensivamente usados para investigar a atividade antibacteriana de substâncias naturais e extratos de plantas. Estes testes são baseados no uso de discos e buracos com reservatórios contendo soluções das substâncias a serem examinadas. De acordo com os testes antibacterianos a *Klebsiella pneumoniae* foi a bactéria mais sensível aos extratos das frutas. Entre as sete frutas estudadas, somente o extrato da jabuticaba mostrou um halo de inibição de 0,3 cm quando comparado com os controles positivos e negativos. No entanto, nenhuma atividade antibacteriana foi observada nos testes contra a *Escherichia coli* e o *Staphylococcus aureus*. É interessante observar que a concentração utilizada no nosso estudo não foi tão alta quanto aquelas utilizadas em outras pesquisas. Esses resultados estão em linha com Rauha et al. (2000), onde uma varredura do efeito antimicrobiano de extratos de plantas Finlandesas foi conduzido. Foi reportado que a maioria dos extratos das plantas não apresentou nenhuma ou somente demonstrou uma leve atividade antibacteriana contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados mostraram uma ampla variação com respeito ao conteúdo de compostos fenólicos totais, flavonóides, antocianinas e capacidade antioxidante em diferentes testes. Não foi encontrada correlação entre o conteúdo dos compostos fenólicos e o sequestro do radical livre através do método DPPH neste estudo. Jabuticaba e Uvaia apresentaram alto potencial antioxidante no teste DPPH e beta-caroteno. Um efeito inibitório leve do extrato da Jabuticaba foi observado contra *Klebsiella pneumoniae*. As frutas avaliadas neste trabalho provaram ser uma fonte natural de antioxidantes e apresentaram grande potencial antioxidante para o processamento agroindustrial. Elas podem ter uma aplicação em sucos e outras bebidas para enriquecer os produtos com antioxidantes, resultando em benefícios para saúde. Os extratos de jabuticaba e Uvaia mostraram serem alternativas promissoras de antioxidantes sintéticas tais como o BHT e BHA e prevenir a oxidação de gorduras em uma variedade de produtos alimentícios.

## REFERÊNCIAS

CHANG, C. C.; YANG, M. H.; WEN, H. M.; CHERN, J. C. Estimation of total flavonoid content in própolis by two complementary colorimetric methods. **Journal of Food and Drug Analysis**, 10, 178–182, 2002.

CITADIN, I.; VICARI, I. J.; SILVA, T. T.; DANNER, M. A. Qualidade de frutos de jabuticabeira (*myrciaria cauliflora*) sob influência de duas condições de cultivo: sombreamento natural e pleno sol. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, 11, 373-375, 2005.

DELGADO-VARGAS, F.; PAREDES-LÓPEZ, O. **Natural colorants for food and nutraceutical uses**. CRC Press, 2003.

DOLL, R. An overview of the epidemiological evidence linking diet and cancer. **Proceedings of the Nutrition Society**. 49, 119-131, 1990.

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

FRANCO, M. R. B.; SHIBAMOTO, T. Volatile composition of some Brazilian fruits: umbu-cajá (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitata*), and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 48, 1263-1265, 2000.

GENOVESE, M. I., PINTO, S. M., GONÇALVES, A. E. S. S., LAJOLO, F. M. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil. **Food Science and Technology International**, 14, 207-214, 2008.

GEORGÉ, S.; BRAT, P.; ALTER, P.; AMIOT, M. J. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53, 1370–1373, 2005.

GIUSTI, M. M.; WROLSTED, R. E. Anthocyanins: characterization and measurement with UV – visible spectroscopy. **Current protocols in food analytical chemistry**. N.Y.: Wiley. p 1–13, 2001.



GONÇALVES, A. E. S. S., LAJOLO, F. M., GENOVESE, M. I. Chemical composition and antioxidant/antidiabetic potential of brazilian native fruits and commercial frozen pulps. **Journal of Food Agricultural and Food Chemistry**, 58, 4666-4674, 2010.

HAMINIUK, C. W. I. Comportamento reológico e fracionamento péctico das polpas integrais de araçá (*Psidium cattleianum sabine*) e amora-preta (*Rubus spp*). 2005. 85 f. **Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)** – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

HAMINIUK, C. W. I.; PLATA-OVIEDO, M. S. V.; GUEDES, A. R.; STAFUSSA, A. P.; BONA, E.; CARPES, S. T. Chemical antioxidante and antibacterial study of Brazilian fruits. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, p. 1529-1537, 2011.

HASSIMOTTO, N. M. A.; GENOVESE, I. S.; LAJOLO, F. M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and comercial frozen fruit pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53, 2928–2935, 2005.

HENDRY, G. A. F.; HOUGHTON, J. D. **Natural food colorants**, 2 ed, Blackie Academic Press., 1996.

HOFFMAN-RIBANI, R.; HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonols in fresh and processed Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**. 22, 263-268, 2009.

JAYAPRAKASHA, F. K.; JAGANMOHAN RAO, L. Phenolic constituents from lichen *Parmotrema stuppeum* (Nyl.). Hale and their antioxidant activity. **Z. Naturforsch**, 55, 1018-1022, 2000.

KUMARAN, A.; KARUNAKARAN, R. J. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. **Food Chemistry**, 97, 109–114, 2006.

LAGOURI, V.; BOSKOU, D. Screening for antioxidant activity of essential oils obtained from spices. **Generation, Analysis and Process Influence (ed.Charalambous, G.)**, 869-879, Elsevier Science B.V., London, 1995.

LAURO, G. J., FRANCIS, F.J. Natural Food Colours. **Science and technology**, 2000.

LIU, X.; ARDO, S.; BUNNING, M.; PARRY, J.; ZHOU, K.; STUSHNOFF, C.; STONIKER, F.; YU, L.; KENDALL, P. Total phenolic content and DPPH radical scavenging activity of lettuce (*Lactuca sativa L*) grown in Colorado. **LWT - Food Science and Technology**, 40, 552–557, 2007.

LIU, M.; LIU, X. Q.; WEBER, C.; LIU, R. H. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Raspberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 50 (10), 2926-2930, 2002.

LUTHRIA, D. L. Influence of experimental conditions on the extraction of phenolic compounds from parsley (*Petroselinum crispum*) flakes using a pressurized liquid extractor. **Food Chemistry**, 107, 745-752, 2008.

MCCORD, J. M. Free radicals and pro-oxidants in health and nutrition. **Food Technology**. 48, 3, 106-110, 1994.

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

MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments**. 5 ed. New York: Wiley, 2001.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 18(2): 301-307, 2008.

PALMA, M., PIÑEIRO, Z., BARROSO, C.G. Stability of phenolic compounds during extraction with superheated solvents. **Journal of Chromatography**. 921, 169-174, 2001.

PRADO, A. Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais. **Master Science Dissertation**. Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), 2009.

RANILLA, L. G.; KWON, Y.; APOSTOLIDIS, E.; SHETTY, K. Phenolic compounds, antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. **Bioresource Technology**, 101, 4676-4689, 2010.

RAUHA, J.-P.; REMES, S.; HEINONEN, M.; HOPIA, A.; KÄHKÖNEN, M.; KUJALA, T.; PIHLAJA, K.; VUORELA, H.; VUORELA, P. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **International Journal of Food Microbiology**, 56, 3–12, 2000.

REYNERTSON, K. A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible *Myrtaceae* fruits. **Food Chemistry**, 109, 883–890, 2008.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURACALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, 121, 996-1002, 2010a.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; FERNANDES, F. A. N.; BRITO, E. S. Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruits extracts. **Food Research International**. DOI: 10.1016/j.foodres.2010.07.002., 2010b.

SANTOS, D. T.; VEGGI, P. C.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of antioxidant compounds from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: Yield, composition and economical evaluation. **Journal of Food Engineering**, 101, 23-31, 2010.

SAHREEN, S.; KHAN, M. R.; KHAN, R. A. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* Fruits. **Food Chemistry**, 122, 1205-1211, 2010.

SILVA, C. G.; HERDEIRO, R. S.; MATHIAS, C. J.; PANEK, A. D.; SILVEIRA, C. S.; RODRIGUES, V. P.; RENNO, M. N.; FALCAO, D. Q.; CERQUEIRA, D. M.; MINTO, A. B.; NOGUEIRA, F. L.; QUARESMA, C. H.; SILVA, J. F.; MENEZES, F. S.;

ELEUTHERIO, E. C. Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants. **Pharmacological Research**, 52, 229–33, 2005.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic - phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**. 16, 144-158, 1965.

STRATIL, P.; KLEJDUS, B.; KUBÁN, V. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. **Talanta**. 71, 1741–1751, 2007.

TEMPLE, N. J. Antioxidants and disease: More questions than answers. **Nutrition Research**. 20, 449-459, 2000.

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

WATERHOUSE, A. L. Determination of total phenolics. **Current protocols in Food Analytical Chemistry**: California, USA, 2002.

WILLETT, W. C. Balancing life-style and genomics research for disease prevention. **Science**, 296, 695-8, 2002.

XING, Y.; WHITE, P. J. Antioxidants from Cereals and Legumes in Natural Antioxidants Chemistry, Health Effects, and Applications. **AOCS Press**: Champaign, Illinois, p. 25 55, 1996.