



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS



**COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES EM PRODUTOS INFANTIS E SUA  
AÇÃO ANTI RADICAL LIVRE**

Renata Del Bel Cury

Profa. Dra. Adriana Zerlotti Mercadante  
orientadora

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da  
Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do Título de Mestre em  
Ciência dos Alimentos.

2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

C949c Cury, Renata Del Bel  
Compostos bioativos presentes em produtos infantís e  
sua ação anti radical livre / Renata Del Bel Cury. --  
Campinas, SP: [s.n.], 2008.

Orientador: Adriana Zerlotti Mercadante  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de  
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Alimentos para bebês. 2. Carotenóides. 3.  
Compostos bioativos. 4. Aquecimento por microondas.  
5. Atividade antioxidante. I. Mercadante, Adriana  
Zerlotti. II. Universidade Estadual de  
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.  
Título.

Titulo em inglês: Bioactive compounds in baby foods products and its  
antioxidant activity

Palavras-chave em inglês (Keywords): Baby foods, Carotenoids, Bioactive  
compounds, Microwave heating, Antioxidant activity

Titulação: Mestre em Ciência de Alimentos

Banca examinadora: Adriana Zerlotti Mercadante

Veridiana Vera de Rosso

Marcelo Alexandre Prado

Célia Maria Sylos

Programa de Pós Graduação: Programa em Ciência de Alimentos

Banca examinadora:

---

Profa. Dra. Adriana Zerlotti Mercadante  
(orientadora)

---

Profa. Dra. Célia Maria de Sylos

---

Prof. Dr. Marcelo Alexandre Prado

---

Profa. Dra. Veridiana Vera de Rosso

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Aos meus pais, **Jaime e Altair**, exemplos de profissionais, pelo apoio, constante incentivo, confiança e amor. Tenho a certeza que nada teria sido possível sem vocês.

Ao meu irmão, **André**, pelo amor e incentivo.

Ao **Vinícius**, pelo amor e companherismo ilimitados.

Aos meus amigos, **Maricy, Jéssica, Manuela, Érica, Camila, Rafael e Fernanda**, pelos tão importantes momentos de lazer, descontração, amizade e apoio.

À minha orientadora, **Profa. Dra. Adriana Zerlotti Mercadante**, por ter confiado em mim; por ser responsável pela minha formação científica, pela clareza de idéias e pelas exigências na busca do conhecimento.

## AGRADECIMENTOS

Ao Magnífico Reitor da Unicamp, **Prof. Dr. José Tadeu Jorge**.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos, na pessoa da Diretora **Profa. Dra. Gláucia Maria Pastore**.

À **Profa. Dra. Florinda O. Bobbio**, exemplo de vida.

À **Profa. Dra. Neura Bragagnolo** pela atenção, ajuda e amizade durante esses anos.

Às técnicas dos laboratórios de Química e Geral, **Rosemar Santanna** e **Karla Nery** pela agradável convivência e pela ajuda sempre disponível.

Aos funcionários da secretaria de pós graduação do Departamento, **Jardete** e **Marcão**, pela assistência e gentileza.

Aos colegas de laboratório, **Adélia, Leila, Gislaine, Lilian, Gisela, Daniela, Wellington, Cinthia, Itaciara, Cláudia**, pelo prazeroso convívio, ajuda e apoio sem os quais tudo teria sido mais difícil.

Ao **Wander José da Silva** auxílio na realização das análises estatísticas.

Ao **CNPq** pela concessão da bolsa de fomento.

À banca examinadora pelas correções e sugestões.

ÍNDICE DE TABELAS.....	IV
ÍNDICE DE FIGURAS.....	V
ÍNDICE DE ANEXOS.....	VI
RESUMO.....	VII
SUMMARY.....	IX
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVOS.....	05
3. SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA.....	07
3.1 Definição e classificação de produtos infantis.....	07
3.1.1. Oferta e demanda.....	09
3.2. Principais Compostos bioativos em frutas e vegetais.....	10
3.2.1. Carotenóides.....	10
3.2.2. Polifenóis.....	16
3.2.3. Ácido ascórbico.....	24
4. ANTIOXIDANTES.....	28
4.1. Métodos para a determinação da atividade anti radical livre.....	29
4.1.1. Teste ABTS.....	30
4.1.2. Teste DPPH.....	33
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
5.1. Material.....	36
5.2. Métodos.....	37
5.2.1. Determinação de carotenóides.....	37
5.2.2. Determinação de antocianinas totais.....	37
5.2.3. Determinação de ácido ascórbico.....	38
5.2.4. Análise de compostos fenólicos.....	38
5.2.4.1. Extração.....	38
5.2.4.2. Determinação de fenóis totais.....	39
5.2.4.3. Determinação de flavonóides totais.....	39
5.2.5. Determinação da atividade anti radical livre.....	39
5.2.5.1. Análise com DPPH.....	40
5.2.5.2. Análise com ABTS.....	40
5.3. Sistema com aquecimento.....	41
6. Análise Estatística.....	41
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43

7.1. Teores de compostos bioativos.....	43
7.1.1. Papinhas de frutas.....	43
7.1.2. Sopinhas de legumes.....	47
7.1.3. Efeito do aquecimento.....	49
7.2. Atividade anti radical livre dos produtos infantis.....	54
7.3. Correlação entre os métodos de atividade anti-radical livre.....	57
7.3.1. Correlação entre atividade anti-radical livre (ABTS) e compostos bioativos.....	59
8. CONCLUSÕES.....	63
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
10 ANEXOS.....	77

## ÍNDICE DE TABELAS

**Tabela 1.** Exportações brasileiras de frutas *in natura* e processadas (em mil toneladas).

**Tabela 2.** compostos fenólicos encontrados em maçã

**Tabela 3.** compostos fenólicos encontrados em banana

**Tabela 4.** compostos fenólicos encontrados em goiaba

**Tabela 5.** compostos fenólicos encontrados em pêra

**Tabela 6.** teores de fenóis e flavonóides encontrados em cenouras

**Tabela 7.** Ácido ascórbico (mg/100g) em casca e polpa de cultivares de pêra

**Tabela 8.** compostos bioativos presentes nos alimentos infantis a base de frutas

**Tabela 9.** Teores dos compostos bioativos presentes na sopinha de cenoura

**Tabela 10.** Teores dos compostos bioativos presentes na sopinha de mandioquinha

**Tabela 11.** Média e desvio padrão para as concentrações de carotenóides em sopinha de cenoura antes e após aquecimento.

**Tabela 12.** Análise de Variância dos valores médios do teor de fenóis com e sem aquecimento.

**Tabela 13.** Média e desvio padrão para teor de fenóis em sopinha de cenoura antes após aquecimento.

**Tabela 14.** Análise de Variância dos valores médios de concentração de Ácido Ascórbico após extração fenólica com e sem aquecimento para sopinha de cenoura.

**Tabela 15.** Média e desvio padrão para as concentrações de Ácido Ascórbico em sopinha de cenoura antes após aquecimento.

**Tabela 16.** Média e desvio padrão para as concentrações de Carotenóides em sopinha de mandioquinha antes e após aquecimento.

**Tabela 17.** Análise de Variância dos valores médios de concentração de Fenóis após extração fenólica com e sem aquecimento em sopinha de mandioquinha.

**Tabela 18.** Média e desvio padrão para os teores de Fenóis em sopinha de mandioquinha antes e após aquecimento.

**Tabela 19.** Teste de Wilcoxon para concentração de ácido ascórbico para sopinha de mandioquinha.

**Tabela 20.** Média e desvio padrão para as concentrações de Ácido Ascórbico em sopinha de mandioquinha antes após aquecimento.

**Tabela 21.** Valores de TEAC dos produtos infantis.

**Tabela 22.** Respostas de desativação das papinhas de frutas frente ao radical DPPH<sup>•</sup>, medida após 6 minutos.

**Tabela 23.** valores de velocidade de reação ( $k_{obs}$ ) das amostras frente ao radical ABTS.

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1:** Estruturas dos principais carotenóides encontrados em frutas e vegetais

**Figura 2:** Clivagem simétrica e assimétrica do  $\beta$  caroteno.

**Figura 3:** Estrutura química dos principais representantes dos polifenóis

**Figura 4:** Mecanismo de conversão do ácido ascórbico em ácido desidroascórbico

**Figura 5:** Correlação entre os métodos anti radical livre

**Figura 6:** Correlação entre os teores de fenóis totais e flavonóides totais com a atividade anti-radical frente ao  $ABTS^{\bullet+}$  (TEAC) dos alimentos infantis

**Figura 7:** Correlação entre o teor de ácido ascórbico (a) e carotenóides totais (b) e atividade anti radical livre (ABTS) dos produtos infantis

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

Anexo 1: Lista de Sais Minerais e Compostos Vitamínicos

## RESUMO

Cada vez mais se associa o consumo de frutas e vegetais à prevenção do câncer, doenças cardiovasculares, osteoporose e diabetes por serem excelentes fontes de compostos fitoquímicos com ação antioxidante que evitam o estresse oxidativo e seus efeitos. Os carotenóides, compostos fenólicos (inclui flavonóides e antocianinas) e ácido ascórbico são os compostos antioxidantes mais abundantes em frutas e vegetais. Entretanto, na primeira infância o consumo de frutas e vegetais *in natura* tem sido substituído por alimentos industrializados na forma de alimentos infantis (“baby-food”). Como o teor destes compostos antioxidantes presentes em produtos infantis a base de frutas e vegetais comercializados no Brasil ainda não foram determinados, o escopo deste trabalho foi analisar os teores de carotenóides, fenóis, flavonóides e ácido ascórbico e com o uso dos métodos ABTS e DPPH foi medido a atividade anti radical livre destes produtos. Além disso, foi avaliado o efeito do aquecimento em microondas sobre os teores dos compostos antioxidantes. Foram analisadas papinhas de ameixa, goiaba, maçã, pêra, banana e sopinhas de cenoura e mandioquinha adquiridas no comércio da cidade de Campinas, estado de São Paulo. A maior concentração de carotenóides totais foi observada na papinha de cenoura (6,4 mg/100g). A papinha de ameixa foi a que mostrou o maior teor de fenóis totais (49,3 mg/100g) e de flavonóides totais (38,5 mg/100g) sendo que também apresentou a melhor desativação do radical ABTS. Devido à sua adição nos produtos de frutas, foram encontrados altos valores de ácido ascórbico de 262 mg/100g para goiaba, 350 mg/100g para pêra, 475 mg/100g para banana, 150 mg/100 para ameixa e 122 mg/100g para maçã. Não foi detectado flavonóides totais nas sopinhas de legumes e nem antocianinas totais nas papinhas de goiaba e ameixa. Não houve perda significativa de carotenóides totais, fenóis totais e ácido ascórbico após aquecimento em microndas das sopinhas de legumes. Houve melhor correlação entre o teor de fenóis totais ( $r=0,93$ ) e a atividade anti radical livre ABTS<sup>•+</sup> do que com o teor de flavonóides totais ( $r=0,86$ ). Houve ainda correlação negativa em relação aos teores de carotenóides totais ( $r= -0,0854$ ) e ácido ascórbico ( $r= -0,7049$ ) e a atividade anti

radical livre (ABTS<sup>•+</sup>). Foi observada baixa correlação ( $r=0,78$ ) entre os métodos anti radical livre ABTS<sup>•+</sup> e DPPH<sup>•</sup>.

## SUMMARY

The association between a diet rich in fruits and vegetables and decreased risk of cancer, cardiovascular disease, osteoporosis and diabetes is supported because these foods are excellent sources of bioactive compounds with antioxidant activity that can act or prevent the effects of oxidative stress. Carotenoids, phenolic compounds (including flavonoids and anthocyanins) and ascorbic acid, are the most abundant antioxidant compounds in fruits and vegetables. However, the consumption of fruits and vegetables in the first childhood has been substituted by commercial baby foods. Since the levels of these antioxidant compounds found in baby foods commercialized in Brazil were not previously determined, the aim of this study was to quantify the contents of carotenoids, phenolic compounds, flavonoids and ascorbic acid, as well as to evaluate the antioxidant activity by two methods (ABTS<sup>•+</sup> and DPPH<sup>•</sup>) on some Brazilian baby foods. In addition, the effect of microwave heating on these antioxidant compounds was determined. The following baby products were analyzed: guava, dried plum, apple, pear and banana, ) and the vegetables ones (carrot and “mandioquinha”). The highest concentration of total carotenoid was found in carrot baby food (6.4 mg/100g). Dried plum product had the highest contents of total phenols (49.3 mg GAE/100g) and total flavonoids (38,5 mg CE/100g) and also was the best free radical scavenger product assessed by the ABTS<sup>•+</sup> method. Since ascorbic acid is added to the based fruits baby foods, its contents were higher in all of them, such as 262 mg/100g in guava, 350 mg/100g in pear, 475 mg/100g in banana, 150 mg/100 in plum and 122 mg/100g in apple. .The vegetable baby s foods did not present flavonoids and anthocyanins were not detected in guava and dried plum baby foods. The losses of total carotenoids, total phenols and ascorbic acid were not statistically significant after microwave heating of vegetable baby foods. The highest correlation was observed between the total phenolic contents (r=0.93) ABTS<sup>•+</sup> scavenger, followed by total flavonoids (r=0,86). However, negative correlations between the ABTS method and total carotenoids (r= -0,0854) and total phenols (r= -0,7049) were obtained. There was weak correlation (r=0.73) between the two free radical scavenger methods DPPH<sup>•</sup> and ABTS<sup>•+</sup>.

# *INTRODUÇÃO GERAL*

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Dietas ricas em alimentos contendo compostos antioxidantes estão correlacionadas com a redução no risco de certas doenças como câncer e doenças coronárias. Dentre os compostos implicados com a redução do risco de doenças crônico-degenerativas estão carotenóides, fenóis, flavonóides, ácido ascórbico e antocianinas (SCHIEBER *et al.* 2001). As frutas e vegetais são reconhecidamente fontes destes compostos; entretanto na primeira infância o consumo de alimentos *in natura* ou preparados em casa tem sido substituído por alimentos industrializados na forma de alimentos infantis (“baby-food”).

Entre 4 a 6 meses as necessidades nutricionais de bebês aumentam consideravelmente e conseqüentemente, o leite por si só não mais é suficiente. Por esta razão deve haver a ingestão de produtos infantis a base de frutas e vegetais, os quais provêm macro e micronutrientes, tais como provitaminas A (carotenóides), ácido ascórbico e outros compostos bioativos.

Os carotenóides são um grupo de pigmentos naturais encontrados em frutas, vegetais, flores, peixes, invertebrados, pássaros e microrganismos. Alguns carotenóides apresentam comprovada função na dieta de humanos como precursores da vitamina A, a qual é essencial para a visão, diferenciação das células, desenvolvimento embriológico e outros processos fisiológicos (SEDDON *et al.* 1994). As pró-vitaminas A constituem a maior fonte de vitamina A da dieta, contribuindo com uma média de 68% mundialmente e 82% nos países em desenvolvimento (SIMPSON, 1983). Tanto os carotenóides precursores de vitamina A como os não precursores parecem apresentar ação protetora contra o câncer (KIM *et al.* 2003; ZIEGLER, 1991), e os possíveis mecanismos de proteção são por intermédio do seqüestro de espécies reativas de oxigênio, modulação do metabolismo do carcinoma, inibição da proliferação celular, aumento da diferenciação entre as células e aumento da resposta imunológico (OLSON, 1999). Podemos citar ainda outras ações biológicas destes pigmentos, tais como redução do risco de desenvolvimento de doenças degenerativas, de doenças cardiovasculares, de deficiências imunológicas, de degeneração macular e de formação de cataratas (KRINSKY, 1994; VAN DEN BERG *et al.* 2000).

As frutas e vegetais contêm, além dos nutrientes essenciais e de micronutrientes como minerais, fibras e vitaminas, diversos compostos secundários de natureza fenólica, denominados polifenóis (HARBONE & WILLIAMS, 2000) que exercem atividade antioxidante agindo como potentes doadores de átomo de hidrogênio, inibindo a propagação em cadeia de reações de radicais livres, e, além disso, alguns fenóis agem como quelantes de íons metálicos (BRATT *et al.* 2003). Inúmeros estudos realizados com compostos fenólicos, especialmente os flavonóides (antoxantinas e antocianinas) demonstraram tal capacidade de captar radicais livres (atividade antioxidante) e seus efeitos na prevenção de enfermidades cardiovasculares e circulatórias (NESS & POWLES, 1997), cancerígenas (WANG & MAZZA, 2002; KATSUBE *et al.* 2003), no diabetes e no mal de Alzheimer (HERTOG *et al.* 1997; ISHIGE *et al.* 2001).

O ácido ascórbico é um potente antioxidante que tem a capacidade de eliminar diferentes espécies reativas de oxigênio, mantém a atividade de inúmeras enzimas atuando como cofator, é precursor na síntese de oxalato e tartarato (DAVEY *et al.* 2000) e age na manutenção do colágeno em tecidos como a pele e cartilagem (FURUSAWA, 2001). É uma vitamina hidrossolúvel encontrada principalmente em frutas cítricas como laranja, limão e ainda em acerola, goiaba e caju e vegetais como brócolis e couve flor.

Existem diversos estudos sobre os principais compostos bioativos como os carotenóides, polifenóis e ácido ascórbico presentes em frutas e vegetais (ARABBI *et al.* 2004; WILBERG *et al.* 1995; MERCADANTE *et al.* 1999; SENTANIN & RODRIGUEZ-AMAYA, 2007; PORCU & RODRIGUEZ-AMAYA, 2006; NIZU & RODRIGUEZ-AMAYA, 2005; NIZU & RODRIGUEZ-AMAYA, 2003; GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA, 1995; MERCADANTE-RODRIGUEZ-AMAYA, 1990; ZANATTA & MERCADANTE, 2007; DE ROSSO & MERCADANTE, 2007; DE ROSSO & MERCADANTE, 2005; ABE *et al.* 2007; ARABBI *et al.* 2004), e seus produtos processados em geral, principalmente sucos e polpas (IHA *et al.* 2006; HAMANO & MERCADANTE, 2001; PINTO *et al.* 2007; DUARTE-ALMEIDA *et al.* 2006; HASSIMOTTO *et al.* 2005; KUSKOSKI *et al.* 2006). E ainda existem outros trabalhos que relatam a atividade antioxidante de vegetais (GAZZANI *et al.* 1998; VELIOGLU *et al.* 1998), frutas e sucos (DONOVAN *et al.* 1998; FRANKEL *et al.* 1998; GARCIA-

ALONSO *et al.* 2003; HEINONEN *et al.*1998; SUN *et al.* 2002). Entretanto, existem poucos dados a respeito destes compostos em produtos processados infantis a base de frutas e vegetais e sua ação anti radical livre. Além disso, o setor de comidas para bebês é atualmente um dos mais cresce entre os bens de consumos, apresentando em 2006 taxa de crescimento de 8%, contra um aumento médio de 2% no setor de alimentos em geral (VILELA *et al.* 2006).

## *OBJETIVOS*

## **2. OBJETIVOS**

Como o conhecimento sobre compostos bioativos em alimentos infantis a base de frutas e vegetais é escasso, este estudo teve como escopo:

- quantificar alguns compostos fitoquímicos (carotenóides, fenóis, flavonóides e ácido ascórbico) presentes nestes produtos,
- avaliar a atividade anti-radical livre destes produtos e
- verificar o efeito do aquecimento nos compostos bioativos presentes em alimentos infantis a base de vegetais.

## *SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA*

### 3. SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DE PRODUTOS INFANTIS

Segundo a Portaria n.º 34, de 13 de janeiro de 1998 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), entende-se por Alimentos de Transição aqueles “alimentos industrializados para uso direto ou empregado em preparado caseiro, utilizados como complemento do leite materno ou de leites modificados introduzidos na alimentação de lactentes e crianças de primeira infância com o objetivo de promover uma adaptação progressiva aos alimentos comuns, e de tornar essa alimentação balanceada e adequada às suas necessidades, respeitando-se sua maturidade fisiológica e seu desenvolvimento neuropsicomotor.” Os Alimentos de Transição para Lactentes e ou Crianças de Primeira Infância são aqueles processados e conservados por meios físicos, podendo ser classificados quanto à forma de apresentação e quanto ao aspecto e tamanho das partículas:

- Sopinhas: quando se tratar de refeição salgada,
- Papinhas: quando se tratar de sobremesa
- Purês: quando se tratar de complemento para refeição salgada
- Suquinho: alimento líquido à base de suco de frutas e ou hortaliças e ou cereais

Nestes alimentos são permitidos a adição dos seguintes ingredientes:

- concentrados protéicos e outros ingredientes de alto teor protéico apropriados para o consumo por lactentes e crianças de primeira infância,
- aminoácidos essenciais para melhorar a qualidade das proteínas, porém, somente em quantidades necessárias para este fim e na de forma natural L dos aminoácidos,
- sal iodado,

- leite e derivados lácteos,
- cereais,
- ovos (quando usada a clara de ovo, somente em produtos consumidos após 10 meses de idade),
- carnes e peixes,
- óleos e gorduras vegetais,
- frutas, hortaliças, leguminosas, tubérculos,
- açúcares,
- malte,
- mel,
- cacau (somente em produtos consumidos após os 9 meses de idade e na quantidade máxima de 5% p/p em base seca),
- amido, inclusive amidos modificados quimicamente e ou os amidos tratados por via física ou enzimática, e
- macarrão.

Os ingredientes usados na preparação desses alimentos devem ser sãos, limpos, de boa qualidade, seguros e o excesso de fibras deve ser removido. As carnes e os peixes usados devem estar isentos de pedaços de ossos e ou espinhas. Além desses ingredientes, podem ser adicionados vitaminas e minerais, de acordo com as listas de referência de compostos vitamínicos e sais minerais (Anexo 1).

### 3.1.1. OFERTA E DEMANDA

Os esforços que têm sido realizados nos últimos anos para transformar o Brasil em um importante ator no mercado internacional de frutas já demonstram bons resultados, com o crescimento constante do volume exportado e da receita gerada com as exportações de frutas *in natura* e processadas (Tabela 1).

**Tabela 1.** Exportações brasileiras de frutas *in natura* e processadas (em mil toneladas)

<b>ANO</b>	<b>Frutas <i>natura</i></b>	<b><i>in</i> Variação (%)</b>	<b>Frutas processadas</b>	<b>Variação (%)</b>
1998	349,1	-----	1.284,7	-----
1999	466,1	+ 33,5	1.245,1	-3,1
2000	486,4	+4,4	1.355,6	+8,9
2001	630,8	+29,7	1.406,7	+3,8
2002	720,0	+14,1	1.407,2	+0,0
2003	874,4	+21,4	1.679,5	+19,3
2004	919,7	+5,2	1.709,3	+1,8
<b>Média anual</b>		<b>18,1</b>	<b>Média anual</b>	<b>5,1</b>

Fonte: Secex-MDIC (2004)

O crescimento nas exportações de frutas processadas, tem sido de 5,1% ao ano nos últimos sete anos, e irregular, devido à grande dependência da commodity suco de laranja concentrado e congelado, que representou 60% da pauta de exportação de frutas processadas em 2004 (VILELA *et al.* 2006). . As importações de frutas pelo Brasil limitam-se praticamente ao grupo das

frutas de clima temperado, pois a produção própria é insuficiente para atender ao mercado interno. Em 2004, a pauta de importações concentrou-se em pêra (74,9 mil toneladas) e maçã (42,5 mil toneladas), seguidas de uva (22 mil toneladas) e ameixa (13 mil toneladas) (VILELA *et al.* 2006)..

O consumo de alimentos infantis, especificamente papinhas, no Brasil foi de 4 mil toneladas/ano em 2005 com um único fabricante que gerou receita de R\$ 55 milhões/ano, com esta categoria crescendo 12% ao ano (<http://www.new-ventures.org.br/>).

## **3.2. PRINCIPAIS COMPOSTOS BIOATIVOS**

### **3.2.1. CAROTENÓIDES**

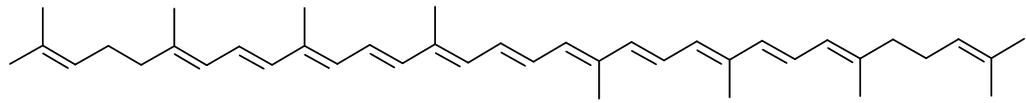
Os carotenóides são os mais difundidos e importantes pigmentos naturais que juntamente com a clorofila são encontrados em todos os organismos capazes de realizar fotossíntese. Sua denominação é derivada do seu principal representante, o  $\beta$ -caroteno, o qual foi isolado a partir de cenouras por Wackenroder em 1831 (GROSS, 1987).

A estrutura básica dos carotenóides é um tetraterpeno com 40 átomos de carbono, formado por oito unidades isoprenóides de cinco carbonos, ligados de tal forma que a molécula é linear com simetria invertida no centro. A principal característica dos carotenóides é um sistema de ligações duplas conjugadas, que corresponde ao cromóforo, e que permite a estes compostos absorver luz na região do visível

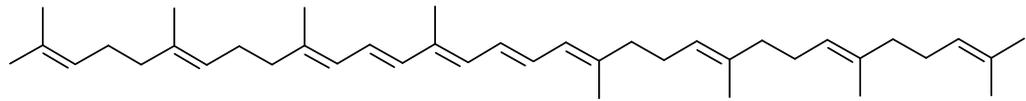
Os carotenóides são divididos em dois grandes grupos (figura 1), os carotenos que quimicamente são hidrocarbonetos e as xantofilas que são derivados oxigenados. Neste último grupo estão incluídos pigmentos que possuem em sua estrutura grupos hidroxílicos, carbonílicos, carboxílicos e/ou epóxidos. Dependendo dos grupos terminais, os carotenóides podem ser também classificados como acíclicos, monocíclicos ou bicíclicos (GROSS, 1987). Muitas outras modificações estruturais ainda são possíveis permitindo a biossíntese de mais de 600 carotenóides na natureza (BRITTON, 1995). O

numero de carotenóides encontrados naturalmente continua aumentando e atualmente alcançou aproximadamente 750 (BRITTON *et al.* 2004)

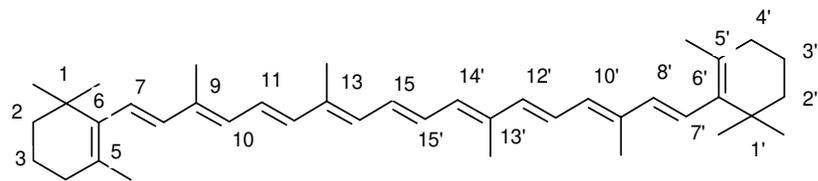
## CAROTENOS



licopeno

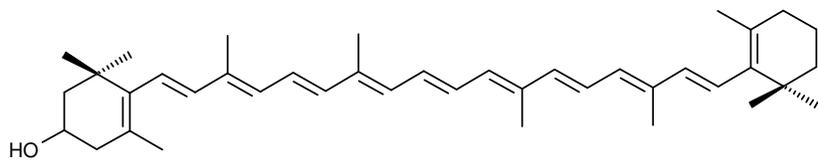


fitoflueno

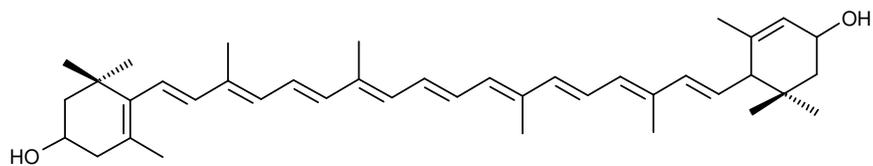


$\beta$ -caroteno

## XANTOFILAS



$\beta$ -criptoxantina

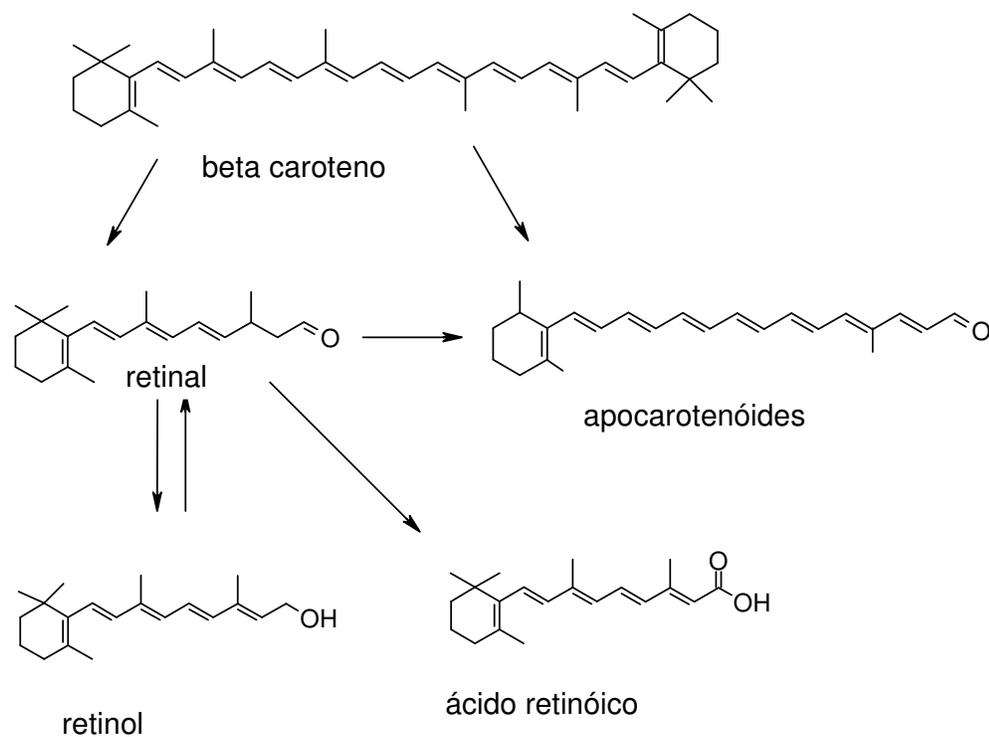


Luteína

**Figura 1:** Estruturas dos principais carotenóides encontrados em frutas e vegetais.

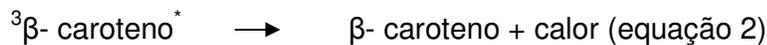
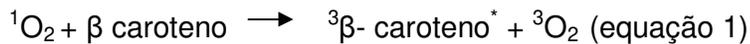
Uma função já conhecida e comprovada dos carotenóides é a atividade pró-vitáminica A. Em países em desenvolvimento, onde os produtos de origem animal (fontes de vitamina A pré-formada) não são economicamente acessíveis para toda a população, a vitamina A da dieta é proveniente principalmente das pró-vitaminas A (SIMPSON, 1983). A ingestão de pró-vitamina A tem a vantagem de esta só ser bioconvertida pelo organismo quando há carência, evitando-se assim a hipervitaminose A. Os carotenóides que podem ser convertidos em vitamina A são aqueles que possuem pelo menos um anel  $\beta$ -ionona não substituído, ligado a uma cadeia poliênica conjugada de no mínimo 11 carbonos. Sendo o  $\beta$ -caroteno o carotenóide que possui maior atividade vitamínica A (100%), seguido de  $\beta$ -criptoxantina (50%),  $\alpha$ -caroteno (50-54%) e  $\gamma$ -caroteno (42-50%) (BAUERFEIND, 1972).

A transformação dos carotenóides pró-vitamínicos em vitamina A ocorre por clivagem central (mecanismo principal), onde o carotenóide é dividido ao meio, formando duas moléculas de retinal no caso do  $\beta$ -caroteno ou uma molécula no caso dos demais carotenóides próvitamínicos A, que são posteriormente transformadas em retinol. Outro mecanismo ocorre através da clivagem excêntrica em que segmentos são retirados de uma das extremidades da molécula do carotenóide, formando apocarotenóides e eventualmente retinal (OLSON, 1999), Figura 2.



**Figura 2.** Clivagem simétrica e assimétrica do  $\beta$ -caroteno.

Os carotenóides são ainda desativadores físicos de oxigênio singlete aonde este transfere energia para o carotenóide, deixando-o no estado triplete excitado (equação 1), o qual por sua vez volta ao seu estado fundamental dissipando calor (equação 2). Tal habilidade é diretamente proporcional ao número de ligações duplas conjugadas e, portanto os compostos com nove ou mais ligações deste tipo são os mais efetivos (CONN *et al.* 1991).



O sistema de ligações duplas conjugadas dos carotenóides, tão importante para suas funções ou ações, é ao mesmo tempo, o responsável pela sua suscetibilidade à isomerização e oxidação levando à perda e/ou diminuição de sua cor e demais funções biológicas (BÖHM *et al.* 2002). Por

esta razão, a retenção dos carotenóides é uma preocupação durante o processamento e estocagem dos alimentos.

O efeito da temperatura nos teores de carotenóides utilizando como fonte de calor o microondas foi determinado por MAYEAUX *et al.* (2006) e ZHANG & HAMAUZU (2004) durante cozimento de vegetais em água. Em tomate aquecido por 60 segundos, observou-se perda de 35% do licopeno presente (MAYEAUX *et al.* 2006). Já em flores de brócolis cozidas por 120 e 300 segundos, ocorreu perda de 17% e 23% do total de carotenóides, respectivamente, enquanto que no caule cozido a perda foi de 20%. O teor de  $\beta$ -caroteno nas flores de brócolis declinou tanto no cozimento convencional como em microondas sendo que 76% de  $\beta$ -caroteno foi perdido nos primeiros 60 segundos. Surpreendentemente, o teor de luteína aumentou gradativamente durante o cozimento convencional e em microondas; sendo tal aumento de 27% durante o cozimento por 300 segundos (ZHANG & HAMAUZU, 2004).

MAJCHRZAK *et al.* (2000) determinaram, por cromatografia líquida de alta eficiência, o perfil de carotenóides em “baby food” de frutas e vegetais. Os teores de carotenóides com atividade de pró-vitamina A no produto infantil a base de cenoura foram de 126,2  $\mu\text{g/g}$ , sendo 92  $\mu\text{g/g}$  de  $\beta$ -caroteno, 34  $\mu\text{g/g}$  de  $\alpha$ -caroteno e 0,2  $\mu\text{g/g}$  de criptoxantina. Os teores de carotenóides não pró-vitamínicos A foram 2,6  $\mu\text{g/g}$  de luteína e 0,22  $\mu\text{g/g}$  de zeaxantina. Dentre os produtos a base de frutas analisados, pêssago + maçã, mirtilo + maçã, tangerina + banana + maçã e tangerina + banana + pêra, a concentração de carotenóides pró-vitamínicos A variou entre 0,6 a 5,3  $\mu\text{g/g}$  e dos não pró-vitamínicos A entre 0,33 e 0,41  $\mu\text{g/g}$ .

KHACHIK & BEECHER observaram que os carotenóides majoritários presentes em papinha de abóboras cultivadas em duas diferentes regiões dos Estados Unidos (Nova Jersey e Michigan-Carolina do Norte) foram luteína livre, luteína mono- e di-esterificada e  $\beta$ -caroteno, enquanto que o  $\alpha$ -caroteno foi detectado apenas nas amostras procedentes de Nova Jersey. A presença de  $\alpha$ -caroteno nas amostras procedentes de Nova Jersey sugere menor eficiência na conversão deste composto em luteína e a ausência de luteína nestas amostras, pode ser devido a uma maior eficiência na conversão da luteína mono- em di-esterificada. As diferenças encontradas entre as amostras podem

ser ainda devido ao diferente estágio de maturação das abóboras utilizadas na produção das papinhas.

Além destes dois trabalhos citados acima e realizados no exterior, nenhum outro trabalho sobre produtos infantis foi encontrado na literatura.

A concentração de carotenóides totais encontrada em banana pode variar, mesmo utilizando o mesmo cultivar como pode ser observado em estudos feitos por ENGLBERGER *et al.* (2006) com *Musa sp* aonde este teor variou de 4,8 a 9 µg/g e por SETIAWAN *et al.* (2001) que encontraram 2,14 µg/g.

No caso de goiaba vermelha, fruta típica de países tropicais, foram encontrados teores de 57 µg/g (WILBERG & RODRIGUEZ-AMAYA 1995) e 22 µg/g (SETIAWAN *et al.* 2001) de carotenóides totais. Tal diferença pode ser devido a procedência de cada fruta sendo no primeiro trabalho do Rio de Janeiro e o segundo da Indonésia.

Em maçãs da variedade *Malus domestica* foi encontrado 3,87 µg/g (SETIAWAN *et al.* 2001) de carotenóides totais. O perfil de carotenóides em pêra foi descrito por HEINONEN *et al.* (1989) que encontrou 0,17 µg/g de β caroteno e 1,1 µg/g de luteína, porém não foi descrito a variedade e/ou cultivar da fruta utilizada.

OLSSON *et al.* (2004) quantificaram alguns compostos bioativos presentes em ameixas (*Plum domestica*) *in natura* e encontraram 4,7 µg/g de luteína e 9,6 µg/g de β-caroteno; 18 mg/g de fenóis totais e 25,5 mg/g de antocianinas.

### 3.2.2. POLIFENÓIS

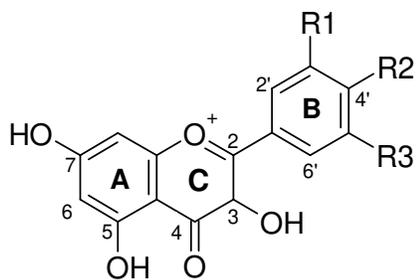
Os compostos fenólicos constituem uma das maiores classes de compostos presentes na natureza, cerca de 8000 compostos, e encontram-se amplamente distribuídas no reino vegetal, como em frutos, vegetais, grãos, sementes e flores. Nos últimos anos, este grupo tem sido motivo de muitos estudos, pois foram identificados como compostos que trazem diversos benefícios à saúde, variando da prevenção da cárie até ao câncer. Muito se tem dito a respeito da funcionalidade dos polifenóis que apresentam características anti-carcinogênicas, anti-aterogênicas, antitrombóticas, antimicrobianas, vasodilatadora e analgésica. Os polifenóis exercem estes benefícios muito provavelmente pelo seu poder antioxidante (WOLLGAST & ANKLAN, 2000).

O nome polifenóis vem da nomenclatura *poli* que quer dizer muitos e de *fenol* que é um composto químico constituído de um anel aromático ligado a um grupo hidroxila. Já polifenol é uma estrutura que apresenta mais de um anel aromático contendo pelo menos um grupo hidroxila ligado em cada anel (figura 3). Dentre os compostos fenólicos destacam-se os ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido cafeico, ácido elágico), estilbenos (resveratrol), cumarinas (sabandinol, sabandinona, escopoletina), taninos (galotaninos, elagitaninos) e flavonóides.. Estes compostos se dividem em dois grandes grupos: antocianinas e flavonóides não antociânicos (conhecidos também como antoxantinas), que por sua vez estão sub-divididas em cinco grandes sub-classes: flavanas (catequinas, epicatequinas e teaflavinas), flavonas (apigenina, luteolina), flavonóis (quercetina, rutina, miricetina e kaempferol), flavanonas (hesperidina, narirutina, naringina e nepohesperidina) e isoflavonas (daidzeína, daidzina, genisteína, genistina, gliciteína, glicitina) (figura 3). A grande variedade estrutural se deve ao fato deles estarem ligados com grupos hidroxilas, metoxilas e estarem ou não conjugados com diferentes açúcares, os quais podem ainda estar ou não acilados com diferentes ácidos (HEIM *et al.* 2002).

Os compostos fenólicos são efetivos doadores de hidrogênio e seu potencial antioxidante está correlacionado com o número e a posição dos grupos hidroxílicos e conjugações assim como com a presença de elétrons

doadores no anel B devido à capacidade que esse anel aromático possui de suportar o despareamento de elétrons deslocalizados do sistema de elétrons  $\pi$  (RAMIREZ-TORTOZA *et al.* 2001). Os grupos hidroxílicos livres na posição 3 do anel C e na posição 5 do anel A, juntamente com o grupo carbonílico na posição 4 são doadores de elétrons (RICE-EVANS *et al.* 1996).

### FLAVONÓIS

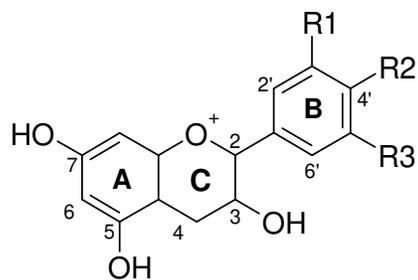


R1=R2=R3=OH: Miricetina

R2=OH, R1, R3=H: Kaempferol

R1=R2=OH, R3=H: Quercetina

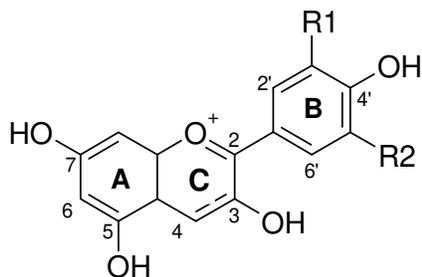
### FLAVANÓIS



R1=R2=OH, R3=H: Catequina

R1=R2=R3=OH: galocatequina

### ANTOCIANINAS



R1=R2=H: Pelargonidina

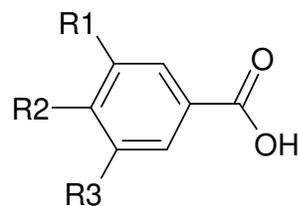
R1=OH, R2=H: Cianidina

R1=R2=OH: Delfinidina

R1=OCH<sub>3</sub>, R2=OH: Petunidina

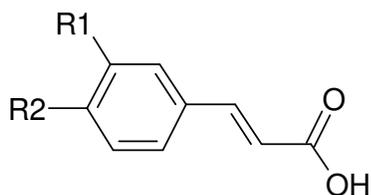
R1=R2=OCH<sub>3</sub>: Malvidina

### ÁCIDO HIDROXIBENZÓICO



R1=R2=R3=OH: Ácido gálico

### ÁCIDOS HIDROXICINÂMICO

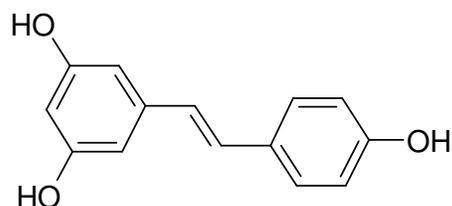


R1=OH: Ácido cumárico

R1=R2=OH: Ácido cafeico

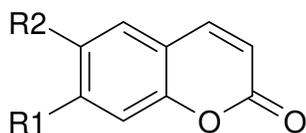
R1=OCH<sub>3</sub>, R2=OH: Ácido ferrúlico

### ESTILBENOS



Resveratrol

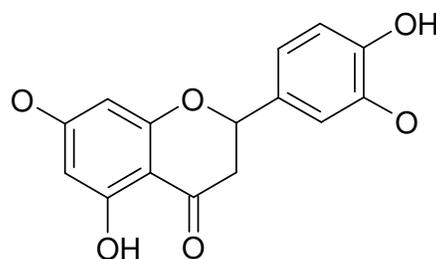
### CUMARINAS



R1=OH, R2=MeO: Escopoletina

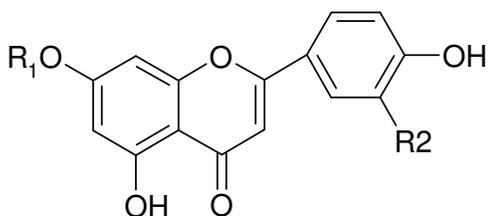
R1=R2=OH: umbeliferona

### FLAVANONA



naringina

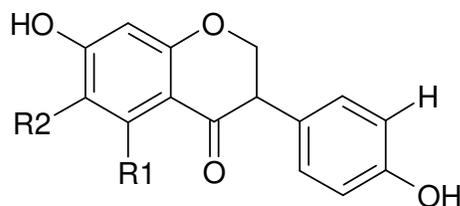
### FLAVONA



R1=R2=H: apigenina

R1=H, R2=OH: luteolina

### ISOFLAVONA



R1=OH: genisteína

R2=H<sub>3</sub>CO: gliciteína

**Figura 3.** Estruturas química dos principais representantes dos polifenóis –

Existe grande variação no teor de compostos fenólicos de diferentes frutas e vegetais, ou até mesmo para as mesmas frutas e vegetais reportados por diferentes autores (BALASUNDRAM *et al.* 2006). Tais diferenças podem estar relacionadas com a complexidade e diversidade de estruturas deste

grupo de compostos, e os métodos de extração e análise utilizados (BRAVO, 1998; KALT *et al.* 2001). Existem ainda os fatores intrínsecos (gênero, espécie, cultivar) e extrínsecos como o meio ambiente, estocagem e processamento (TOMÁS-BARBERÁN *et al.* 2001; GAZANNI *et al.* 1998).

Existem diversos estudos sobre o teor de compostos fenólicos encontrados em maçãs (Tabela 2). Os principais cultivares brasileiros de maçã em termos de área plantada e produção são Gala (46%), Fuji (45%) e Golden Delicious (4%), que juntos correspondem a 95% da produção total (NOGUEIRA *et al.* 2006).

O perfil de flavonóides em maçãs comercializadas no estado de São Paulo foi determinado por ARABBI *et al.* (2004) sendo que na maçã Gala foi encontrado 10,1 mg/100g de quercetina, 10,4 mg/100g de epicatequina, 5,1 mg/100g de catequina e 2,1 mg/100g de phloridizina. Já na maçã Fuji encontrou-se 0,4 mg/100g de quercetina, 5,4 mg/100g de epicatequina, 1,3 mg/100g de catequina e 2,0 mg/100g de phloridizina.

**Tabela 2.** Compostos fenólicos encontrados em maçãs.

<b>Variedade</b>	<b>Origem</b>	<b>Parte utilizada</b>	<b>Fenóis totais (mg/100g)</b>	<b>Flavonóides totais (mg/100g)</b>	<b>Referências</b>
Fuji	Japão	Fruta inteira	61	nd	Haumazu <i>et al.</i> (2005)
Gala	Brasil	polpa	82	nd	Hassimoto <i>et al.</i> (2005)
Não relatada	Nova lorque	Fruta inteira	118	62	Chun <i>et al.</i> (2005)
Fuji	Brasil	Fruta inteira	nd	9	Arabbi <i>et al.</i> (2004)
Gala		Fruta inteira		27	
Não relatada	Nova lorque	Fruta inteira	296	nd	Sun <i>et al.</i> (2002)

nd – não determinado

Apesar de existir um grande número de variedades de banana no Brasil, considerando a preferência dos consumidores, produtividade, tolerância às doenças, altura de planta e resistência à seca e ao frio, poucas apresentam potencial agrônômico que podem ser indicadas para fins comerciais. As mais difundidas são cultivares do subgrupo Cavendish, como Nanica, Nanicão e Grande Naine, e cultivares do grupo AAB, como Prata, Prata-Anã e Pacovan, do subgrupo Prata; Terra e D'Angola, do subgrupo Terra; e Maçã e Mysore. Entretanto, todas apresentam pelo menos uma característica indesejável, como altura de planta inadequada ou suscetibilidade a alguma doença (SILVA *et al.* 1999).

Não existem relatos sobre o teor de compostos fenólicos em bananas comercializadas no Brasil, e portanto a tabela 3 apresenta teores encontrados em bananas de outros países.

**Tabela 3.** Compostos fenólicos encontrados em banana.

<b>Variedade</b>	<b>Origem</b>	<b>Parte utilizada</b>	<b>Fenóis totais (mg/100g)</b>	<b>Flavonóides Totais (mg/100g)</b>	<b>Referências</b>
Não relatado	Nova lorque	Polpa	112	34	Chun <i>et al.</i> (2005)
Musa acuminata	Mauritian	Polpa	11,8	5,6	Luximon-Ramma <i>et al.</i> (2003)
Musa cavendeshi	Filipinas	polpa	232	nd	Someya <i>et al.</i> (2002)
Não relatado	Nova lorque	polpa	90	nd	Sun <i>et al.</i> (2002)

nd – não determinado

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de goiaba, juntamente com a Índia, Paquistão, México, Egito e Venezuela. Na região sudeste, destaca-se os estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro como os

maiores produtores; Bahia, Pernambuco e Paraíba, na região nordeste; Goiás, no centro-oeste e Rio Grande do Sul e Paraná na região sul ([www.iea.sp.gov.br](http://www.iea.sp.gov.br)). Quanto à exportação brasileira, a goiaba ocupou, em 2004, o 26º lugar no *ranking* em volume comercializado, atingindo o patamar de US\$ 117 mil. A goiaba pode ser consumida *in natura* e, principalmente, industrializada na forma de goiabada, geléias, pastas, fruta em calda, purê, alimentos para criança, base para bebidas, refrescos, sucos e xaropes. Dentre as variedades de goiaba cultivadas no Brasil destacam-se: Kumagai, Ogawa, Paluma, Rica, Pedro Sato e Sassaoca (FRANCISCO *et al.* 2005).

Alguns estudos já foram feitos sobre o teor de compostos fenólicos em goiabas como pode ser observado na tabela 4 porém os dados sobre o cultivar destas frutas não foram citados

**Tabela 4.** Compostos fenólicos encontrados em goiaba.

<b>Origem</b>	<b>Parte utilizada</b>	<b>Fenóis totais (mg/100g)</b>	<b>Flavonóides (mg/100g)</b>	<b>Referências</b>
Brasil	Polpa	124	nd	Hassimotto <i>et al.</i> (2005)
Ilha Maurício	Polpa	126.4	11	Luximon-Ramma <i>et al.</i> (2003)
Malásia	nd	nd	112	Miean & Mohamed (2001)
Tailândia	Polpa	4.95	nd	Gorenstein <i>et al.</i> (1999)

nd – não determinado

Os principais cultivares de pêra comercializados no Brasil são de origem rústica (D'água, Madame Sieboldt, Grazzine, Schimidt, Parda, Kieffer), orientais (Atago, Yari, Okussankichi, Hossui, Kossui), européias (Packhams e Triumph) e alguns híbridos desenvolvidos no país como Primorosa, Triunfo,

Terra, Centenária e Pêra Seleta. (SATO & ASSUMPÇÃO, 2003). Os compostos fenólicos presentes em pêras de diferentes variedades pode ser observado na tabela 5.

**Tabela 5.** Compostos fenólicos encontrados em pêra.

<b>Variedade</b>	<b>Origem</b>	<b>Parte utilizada</b>	<b>Fenóis totais (mg/100g)</b>	<b>Flavonóides (mg/100g)</b>	<b>Referências</b>
Não relatado	NY	Polpa	70	41	Chun <i>et al.</i> (2005)
D'Anjou	Espanha		28		Sánchez <i>et al.</i> (2003)
Red D'Anjou			40		
Bosc			32		
Forelle			32		
Coscia			30		
Packamsn			27		
Não relatado	NY	polpa	73	nd	Sun <i>et al.</i> (2002)

nd – não determinado.

No caso de vegetais, como a cenoura, foram encontrados diversos valores de fenóis e flavonóides totais (tabela 6).

**Tabela 6.** Teores de fenóis e flavonóides encontrados em cenouras.

<b>Fenóis totais (mg/100g)</b>	<b>Flavonóides totais (mg/100g)</b>	<b>Referências</b>
35,19	nd	Chu <i>et al.</i> , (2002)
20	nd	Ninfalli & Bacchiocca ( 2003)
13,2	4,5	Bahorun <i>et al.</i> (2004)

Produtos a base de frutas e legumes, como sucos (concentrados ou prontos para beber), polpas e alimentos infantis (papinha, sopinha), são

também importantes fontes na dieta humana. A perda de compostos fenólicos vem sendo relatada em produtos comerciais, e normalmente estão relacionados com variedade, técnicas de processamento e condições de estocagem (LEA AND TIMBERLAKE, 1978; BAKKER *et al.* 1986; FERREIRA *et al.* 2004; HATZIDIMITRIOU *et al.* 2007).

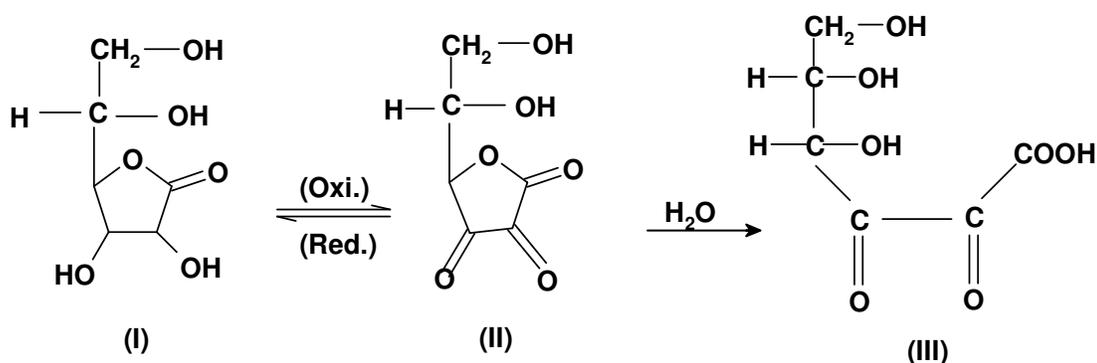
A estabilidade dos compostos fenólicos durante aquecimento em microondas por 20 minutos foi avaliada por LIAZID *et al.* (2007). Foi demonstrado que todos os compostos estudados (ácidos benzóicos, aldeídos benzóicos, ácidos cinâmicos, catequinas, cumarinas e flavonóis) se mostraram estáveis quando aquecidos até 100°C, enquanto que a 125°C houve significativa degradação de epicatequina, resveratrol e miricetina. Considerando a relação entre estrutura química e susceptibilidade à degradação, foi descrito que quanto menos substituintes presentes no anel aromático, maior a estabilidade dos compostos fenólicos. E quando dois compostos possuem o mesmo número de substituintes no anel, os hidroxilados são mais facilmente degradados que os metoxilados (LIAZID *et al.* 2007).

ZHANG & HAMAUZU (2004) avaliaram o efeito do cozimento em microondas sob os fenóis presentes em brócolis. Após 30, 60, 90, 120 e 300 segundos de cozimento houve perda de 32%, 48%, 56%, 62%, e 72%, respectivamente, do total de fenóis presentes nas flores do brócolis. Já em tomates cozidos, em panela de pressão, a 88°C por 2, 15 e até 30 minutos não houve perda significativa no teor de fenóis e flavonóides totais (DEWANTO *et al.*, 2003).

### 3.2.3. ÁCIDO ASCÓRBICO

O ácido ascórbico (I) é uma cetolactona de seis carbonos, sendo um potente agente redutor que se oxida facilmente e de modo reversível a ácido desidroascórbico (II) que ainda possui propriedades de vitamina C. A atividade biológica da vitamina C se perde quando o ácido desidroascórbico se transforma pela compressão e abertura irreversível do anel lactônico em ácido 2,3-dicetogulônico (III) (Figura 4). Em solução aquosa o ácido ascórbico está em equilíbrio com o ácido desidroascórbico. A oxidação ocorre por um

mecanismo via radical livre; o ácido desidroascórbico é mais instável que o ácido ascórbico e torna-se irreversivelmente destruído. Com isto, o equilíbrio se desloca para a direita, favorecendo a decomposição do ácido ascórbico. Devido ao  $pK_1$  do ácido ascórbico ser de 4,04, a oxidação procede com a eliminação de dois prótons em faixa de pH 1-4, e um próton em pH >5. Nos dois casos, um aumento no pH pode deslocar o equilíbrio para a direita, porém em pH > 5, este efeito será fraco (GOLUBITSKII et al. 2007). Segundo DEUTSCH (2000), a oxidação do ácido ascórbico em ácido desidroascórbico fornece dois átomos de hidrogênio que podem ser usados na redução de outros compostos biológicos significantes.



**Figura 4.** Mecanismo de conversão do ácido ascórbico em ácido desidroascórbico.

A transformação de ácido ascórbico (I) em desidroascórbico (II) e em produtos subseqüentes varia com as condições existentes, sendo o fator de maior influência a pressão parcial do oxigênio, o pH, presença de íons metálicos, enzimas e aminoácidos e a temperatura.

SERPEN & GÖKMEN (2007) avaliaram a cinética de degradação reversível do ácido ascórbico sobre condições de redução e oxidação e observaram que houve uma perda de 72,5% quando a solução aquosa controle de 200mg/L de ácido ascórbico foi aquecida em banho maria a 90°C durante 6

horas. Ao adicionar na solução controle, sob as mesmas condições de aquecimento, duas diferentes concentrações (2 mg/L e 20 mg/L) de cisteína, aminoácido que age como agente redutor foi relatado perda de 33,5% e 22,5%. A maior perda (93,2%) do ácido ascórbico foi descrita quando adicionou se 20mg/L de Fe<sup>3+</sup>, agente oxidante, na solução controle e aquecida conforme já descrita.

As fontes de ácido ascórbico são classificadas em diferentes níveis: fontes elevadas contêm de 100 a 300 mg / 100 g, como, por exemplo, acerola, camu-camu, morango, goiaba e abacaxi; fonte média contêm de 50 a 100 mg / 100 g, e.g. laranja, limão e papaia, e fontes baixas contêm de 25 a 50 mg / 100 g, e.g. lima, pêra e manga (ANDRADE *et al.* 2002).

A quantidade de ácido ascórbico varia conforme as diversas espécies e variedades de vegetais e frutas e, pode ser afetado pelo estágio de maturação, práticas de cultivo, condições de estocagem e técnicas de embalagem (GALGANO *et al.* 2002), exemplificado na tabela 7, referente a diferentes cultivares de pêra:

**Tabela 7.** Ácido ascórbico (mg/100g) em casca e polpa de cultivares de pêra.

<b>Cultivar</b>	<b>Casca<sup>a</sup></b>	<b>Polpa<sup>a</sup></b>
D´Anjou	3,9	3,0
Red D´Anjou	5,3	4,4
Bosc	2,6	2,8
Forelle	4,4	3,0
Coscia	3,6	4,4
Packams	4,1	3,8

Fonte: Sánchez *et al.* (2003)

O teor de ácido ascórbico em banana (*Musa sp.*) foi determinado por WALL *et al.* (2006) como sendo 12,7 mg/100g. Já na espécie *M. acuminata*, o teor de ácido ascórbico encontrado foi relativamente menor, sendo de 7,15 mg/100g (HERNANDEZ *et al.* 2006)

Em goiaba (*Psidium guajava*), a concentração de ácido ascórbico relatada na literatura variou de 72,2 a 88 mg/100g (LUXIMON-RAMMA, 2003; SANJINEZ-ARGANDOÑA, 2005). No caso de sucos concentrados de maçã, valores de 1,09 mg/100 mL e 3,1 mg/100 mL foram encontrados por YUAN & CHEN (1999) e JAIN *et al.* (1994), respectivamente. Em sucos de maçã prontos para consumo comercializados no Estado de São Paulo, IHA *et al.* (2006) encontraram 49,9 mg/100g de ácido ascórbico.

BAHORUN *et al.* (2004) encontraram 29,8 mg/100g de ácido ascórbico em cenoura.

A retenção do ácido ascórbico em espinafre e feijão cozidos em água em microondas por até 5 minutos foi estudada por MASRIZAL *et al.* (1997). Os autores reportaram que a retenção do ácido ascórbico foi maior no feijão (79,4%) em relação ao espinafre (34,1%), concluindo que a retenção varia conforme o tipo de vegetal e forma de cozimento.

HOWARD *et al.* (1999) observaram que o teor de ácido ascórbico em cenoura crua praticamente não variou (de 4,2 para 5,5 mg/100g) quando este legumes foi cozido por nove minutos em microondas.

Em flores e caule de brócolis cozidos em microondas a 80°C por 5 minutos houve perda de 66% (de 103 para 35,5 mg/100g) e 71% (de 124 para 36,5 mg/100g) no teor de ácido ascórbico (ZHANG & HAMAUZU, 2004). Estes resultados não foram observados no trabalho de HOWARD *et al.* (1999) aonde o cozimento de brócolis em microondas por 8 minutos não alterou significativamente o teor de ácido ascórbico que variou de 114,5 a 116,5 mg/100g.

#### 4. ANTIOXIDANTES

O termo antioxidante pode ser definido como uma substância sintética ou natural adicionada a produtos para prevenir ou retardar a deterioração produzida pela ação do oxigênio do ar (HALLIWELL, 1995).

Os antioxidantes têm uma grande importância para a indústria de alimentos devido à prevenção da oxidação em cadeia de lipídeos. Também são de grande interesse dos biólogos e médicos porque ajudam a proteger o corpo humano contra danos provocados por espécies reativas de oxigênio (ROS) (HALLIWELL, 1995). Numa situação de stress oxidativo, ROS como superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ , OOH), e radicais hidroxílicos ( $OH^{\bullet}$ ) e peroxílicos ( $ROO^{\bullet}$ ) são produzidos. O ROS tem um importante papel nas diversas patogenicidades de doenças sérias como as neurodegenerativas, câncer, cardiovasculares, aterosclerose, cataratas e inflamação (ARUOMA, 1998).

Segundo RICE-EVANS *et al.* (1997) e SHAHIDI *et al.* (1992), a atividade de um antioxidante é determinada pelas suas características estruturais, tais como reatividade como agente doador de hidrogênio ou de elétron (correlacionado com seu potencial de redução), reatividade com outros antioxidantes, potencial de quelar metais e estabilidade do radical de antioxidante formado.

O conceito sobre a capacidade antioxidante e reatividade deve ser diferenciado, pois enquanto a primeira nos dá a informação sobre a duração da ação antioxidante, a reatividade caracteriza a dinâmica de reação antioxidante de um antioxidante numa certa concentração ou mistura destes (ROGINSKY & LISSI 2005).

Além do mais, os compostos antioxidantes podem responder de diversas maneiras a diferentes radicais ou fontes oxidantes. Por exemplo, os carotenóides não são particularmente tão bons aprisionadores de radicais peróxidos quanto os fenóis, mas são excelentes em seqüestrar oxigênio singlete. De qualquer forma, o oxigênio singlete não é um radical e não reage via mecanismo de radical e sim reage por adição nas ligações duplas, formando endo peróxidos que pode se reduzir a radicais alcóxílicos que iniciam a cadeia de reação de radicais (PRIOR *et al.* 2005).

Diversos estudos (SUN *et al.* 2002; HAMAUZU *et al.* 2006; SHI *et al.* 2006; REDDIVARI *et al.* 2007; KADAM *et al.* 2008) referenciam a atividade antioxidante de extratos de frutas, hortaliças, ervas e vegetais analisados por diversos métodos, a fim de correlacionar o consumo dos alimentos e os efeitos benéficos a saúde.

Os tipos de antioxidantes mais abundantes presentes em frutas e vegetais incluem ácido ascórbico, carotenóides e compostos fenólicos. Os tocoferóis e tocotrienóis também são importantes antioxidantes fitoquímicos, porém estão presentes em quantidades relativamente baixas em frutas e vegetais quando comparado com castanhas e grãos (KALT, 2005).

#### **4.1. MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-RADICAL LIVRE**

Os testes para medir a atividade anti-radical livre em alimentos e sistemas biológicos podem ser divididos em dois grupos: métodos diretos, que avaliam a peroxidação lipídica no qual sob condições padronizadas usa-se um substrato (lipídio, lipoproteína) e mede-se o grau de inibição da oxidação, e aqueles indiretos que medem a habilidade de aprisionar (scavenger) radicais livres.

Os métodos diretos são geralmente baseados na cinética da reação em cadeia de peroxidação lipídica como: oxidação do substrato, iniciação, monitoramento da própria peroxidação e determinação da constante de iniciação. E ainda métodos baseados no estudo da cinética de processos oxidativos não em cadeia, aonde os antioxidantes competem pelo radical peroxílico utilizando um radical livre de referência. Estes modelos cinéticos podem ser divididos em diretos e indiretos. Os diretos incluem: decaimento do radical livre induzido por fluorescência de R-ficoeritrina, descoloramento da crocina ou do  $\beta$ -caroteno, e medida da competição entre o antioxidante e KI pelo radical peroxílico.

Os procedimentos indiretos empregados na avaliação da capacidade anti-radical livre de compostos puros e de extratos complexos estão baseados na medida do consumo de radicais livres estáveis quando é adicionado um agente

antioxidante à solução. O decréscimo na concentração do radical livre está relacionado com a habilidade do composto adicionado de capturar radicais livres (PRIOR *et al.* 2005; ROGINSKY & LISSI 2005), tais como teste ABTS<sup>•+</sup>, teste DPPH<sup>•</sup>, redução do radical estável Fremy (nitrosidulfonato de potássio) por doadores de hidrogênio, métodos baseados na redução do Fe<sup>3+</sup>, como o método FRAP (Ferricreducing Antioxidant Power), e métodos baseados na quimiluminescência do luminol.

Os radicais livres estáveis pré-formados que estão sendo amplamente utilizados são derivados do 1,1'-difênil-2-picrilidrazilo (DPPH) e do ácido 2,2'-azino-*bis*-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfônico (ABTS) e foram os métodos escolhidos para serem utilizados neste trabalho, pois apresentam as seguintes vantagens: rapidez, estabilidade e facilidade de manuseio (PRIOR *et al.* 2005; ROGINSKY & LISSI, 2005).

#### **4.1.1. TESTE ABTS**

Miller *et al.* (1993) foram os primeiros a aplicar este método para amostras biológicas e desde então tem sido amplamente usado para testar extratos naturais. Atualmente, o teste com ABTS é o mais utilizado dentre os métodos indiretos (ROGINSKY & LISSI, 2005).

O método se baseia no monitoramento da descoloração do radical-cátion ABTS<sup>•+</sup>, com forte absorção na região de 600 a 750 nm, devido à oxidação com substâncias doadoras de H com conseqüente conversão para a forma ABTS não radical que é incolor. A referência mais utilizada é o Trolox, sendo o resultado expresso em equivalentes de Trolox, que é conhecido como capacidade antioxidante equivalente de Trolox ou simplesmente TEAC (SANCHEZ-MORENO, 2002). Na versão original do teste, o radical ABTS<sup>•+</sup> é gerado a partir do ABTS por reação com radical de mioglobina férrica que por sua vez é gerado com metmioglobina e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na presença de peroxidase (MILLER *et al.* 1993). Já em 1996, MILLER *et al.* (1996), prepararam o radical fazendo com que uma solução estoque de ABTS passasse por papel de filtro impregnado com dióxido de manganês.

Com o intuito de melhorar a técnica de geração do ABTS<sup>•+</sup>, RE *et al.* (1999), desenvolveram uma produção direta do azul/verde ABTS<sup>•+</sup> através da reação entre ABTS e persulfato de potássio, o qual tem absorção máxima a 645nm, 734 e 815nm.

A vantagem do teste ABTS é a relativa simplicidade que permite sua aplicação na determinação rotineira em qualquer laboratório. E como limitação, que é geral para todos os métodos indiretos, é que o valor de TEAC caracteriza a capacidade da amostra testada em reagir com o ABTS<sup>•+</sup> ao invés de inibir o processo oxidativo. Além disso, outra limitação deste método é devido à baixa seletividade do ABTS<sup>•+</sup> na reação com doadores de átomos de H (ROGINSKY *et al.* 2005).

Alguns estudos têm mostrado que os carotenóides aprisionam radicais livres e tal habilidade é influenciada pela presença de grupos funcionais com alta polaridade, como os grupos carboxílicos e hidroxílicos, nos anéis terminais bem como pelo número de ligações duplas conjugadas (MILLER *et al.* 1996).

Apesar do licopeno e do  $\beta$ -caroteno (figura 1) possuírem onze duplas ligações conjugadas, o licopeno (TEAC 2.9 mM) mostrou ser mais efetivo que  $\beta$ -caroteno (1.9 mM), devido às duas duplas ligações do  $\beta$ -caroteno estarem nos anéis ciclohexano os quais não estão no mesmo plano do restante da molécula fazendo com que sua contribuição no cromóforo seja menor (MILLER *et al.* 1996; JIMÉNEZ-ESCRIG, 2000).

BÖHM *et al.* (2002) avaliaram a atividade antioxidante dos isômeros de  $\alpha$ -caroteno, licopeno e zeaxantina e observaram que os isômeros de conformação *cis* do  $\alpha$ -caroteno e do licopeno mostraram aumento significativo (0,4 mmol/L) nos valores de TEAC quando comparados aos isômeros *all-trans*.

A ocorrência de isômeros em cenoura crua e enlatada foi determinada por LESSIN *et al.* (1997) aonde observaram que todos os isômeros presentes (9-*cis* de  $\beta$  e  $\alpha$ -caroteno, 13-*cis* de  $\beta$  e  $\alpha$ -caroteno e 15-*cis* de  $\beta$  e  $\alpha$ -caroteno) após o enlatamento das cenouras eram ausentes quando as mesmas ainda estavam cruas. O mesmo foi relatado por GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA (1998) que avaliaram a ocorrência, tanto natural como após cozimento em água durante 8 minutos, de isômeros *cis* em cenouras Nantes. Enquanto foi determinado apenas traços dos isômeros 13-*cis*- $\alpha$ -caroteno e 13-*cis*- $\beta$ -caroteno

na cenoura crua, 0,2 µg/g de ambos isômeros foi quantificado após a fervura do vegetal. Houve ainda o aparecimento de 0,1µg/g do isômero 9-*cis*-β-caroteno na cenoura cozida. Ao avaliar a ocorrência de isômeros de luteína e zeaxantina em algumas frutas *in natura*, HUMPHRIES & KHACHIK (2003) encontraram 0,045 µg/g de 9-*cis*-luteína, 0,03 µg/g de 9'-*cis*-luteína e 1,08 µg/g de 9-*cis*-zeaxantina em nectarina.

Baseado nos valores de TEAC dos flavonóides quercetina (4,7), mircetina (3,1), apigenina (1,45) e kaempferol (1,34), RICE-EVANS *et al.* (1996) relataram que o critério para a máxima captura de radical livre desta classe de compostos seria a combinação do grupo 5-OH no anel A com o grupo 3-OH e função 4-oxo no anel C com a 2,3 ligação dupla (Figura 3). A capacidade antioxidante total de banana (*M. acuminata*) encontrada por LUXIMON-RAMMA *et al.* (2003) foi de 1 µmol/g de amostra (método ABTS/MnO<sub>2</sub>) e de goiaba foi de 7 µmol/g. O valor de TEAC (método ABTS/ferrilmioglobina-metmioglobina) obtido por GARCIA-ALONSO *et al.* (2004) para pêra (cv blanquilla) foi de 3 µmol/g.

ZHOU & YU (2006) avaliaram a capacidade antioxidante e determinaram o teor de fenóis totais de diversos legumes (batata, tomate, brócolis, couve, rubarbio, espinafre, feijão verde e cenoura). A maior capacidade antioxidante de 58,7 mMol/g foi encontrada em kale, enquanto a amostra de batata obteve a menor atividade frente ao radical ABTS sendo de 2,3 mMol/g. Baseados nos valores médios de cada vegetal, a ordem crescente de atividade anti radical livre foi kale > espinafre > brócolis > rubarbio > feijão verde > batata, cenoura. Assim como o maior teor de fenóis (18,8 mg GAE/g) foi encontrado em kale, seguido de rubarbio (13.2 mg GAE/g), espinafre (13.0 mg GAE/g) e brócolis (10.4 mg GAE/g). As amostras de cenoura e batata apresentaram os menores valores de fenóis totais em relação aos outros vegetais, porém tais dados estão expressos na forma de gráficos o que torna impossível a transcrição para dados numéricos.

#### 4.1.2. TESTE DPPH

O teste utilizando o radical estável que contém nitrogênio DPPH é o mais antigo dos métodos indiretos para medir atividade antioxidante, sendo originalmente proposto nos anos 50 para investigar compostos naturais doadores de hidrogênio (ROGINSKY & LISSI, 2005).

A grande maioria dos estudos afirma que este teste se baseia na capacidade do radical livre DPPH $\cdot$  em reagir com doadores de hidrogênio, incluindo os compostos fenólicos, e que é mais seletivo que o ABTS $^{•+}$  (ROGINSKY & LISSI, 2005). Entretanto, recentemente, FOTI *et al.* (2004) propuseram que esta reação se procede através de um mecanismo de transferência de energia, comprovado através de estudos cinéticos entre fenóis e DPPH. Além disso, estes autores reportaram que a presença de ácidos e bases no solvente influencia drasticamente os resultados.

O princípio do teste é a medida a 515-528 nm da perda de cor do radical na presença de antioxidante. Os resultados são expressos como a quantidade de antioxidante necessária para diminuir em 50% a concentração inicial de DPPH $\cdot$  (EC<sub>50</sub> ou IC<sub>50</sub>) em um tempo de reação fixo (CHOI *et al.*, 2002) ou até formação de um patamar (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995).

Este método foi aplicado para flavonóides e plantas medicinais (CHOI *et al.* 2002), polifenóis e ácido ascórbico (BRAND-WILLIAMS *et al.* 1995), extratos de plantas aromáticas e medicinais (MILIAUSKAS *et al.* 2004), de vinhos (DE BEER *et al.* 2003) e de uvas (PINELO *et al.*, 2005). Para amostras contendo carotenóides, a medida de absorbância pode ser realizada a 580 nm com o intuito de evitar a interferência destes pigmentos na leitura a 516 nm (JIMÉNEZ-ESCRIG *et al.* 2000).

VILLAÑO *et al.* (2007) e BRAND-WILLIAMS *et al.* (1995) determinaram a atividade antioxidante de ácidos fenólicos frente ao radical DPPH que seguiram a seguinte ordem de reatividade: ácido gálico ( $5.05 \times 10^{-6}M$ ) > ácido cafeico ( $12.12 \times 10^{-6}M$ ) > ácido ferúlico ( $24.69 \times 10^{-6}M$ ) sendo que tais valores estão expressos em EC<sub>50</sub> que é inversamente relacionado com a capacidade antioxidante de um composto, ou seja, a quantidade necessária de tal composto para decrescer a concentração do radical em 50%.

A estequiometria para reação de diversos flavonóides frente ao radical DPPH foi determinada por BUTKOVIC *et al.* (2004) aonde os resultados obtidos foram 1:1 para os flavonóides com um grupo hidroxílico no anel B e 1:2 para aqueles flavonóides com dois grupos hidroxílicos no anel B (incluindo o kaempferol). Observou se a seguinte ordem de reatividade: kaempferol > luteolina > catequina > epicatequina > quercetina > miricetina.

## *MATERIAL E MÉTODOS*

## **5. MATERIAL E MÉTODOS**

### **5.1. MATERIAL**

#### **5.1.1. Amostras**

Produtos infantis a base de frutas (goiaba, ameixa, pêra, maçã e banana) e vegetais (cenoura e mandioquinha) foram adquiridos no comércio da cidade de Campinas, São Paulo. No caso dos produtos a base de frutas, cada amostra foi composta por três embalagens do mesmo lote, de três lotes diferentes, as quais foram homogeneizadas em béquer e separadas quantidades suficientes para cada análise.

Para os produtos infantis a base de vegetais foram utilizadas duas embalagens de três diferentes lotes, totalizando seis embalagens de cada alimento infantil. O mesmo procedimento de homogeneização utilizado para as amostras a base de frutas foi também adotado para estes produtos.

#### **5.1.2. Reagentes**

Os reagentes utilizados nas análises: metanol, etanol, acetona, éter de petróleo, éter etílico, carbamato de sódio, cloreto de alumínio, hidróxido de potássio e hidróxido de sódio são de grau p.a. e pertencentes a marca Synth. Os padrões: 6-hidroxi-2, 5, 7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico (TROLOX), 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e catequina foram adquiridos da SIGMA assim como o ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfônico (ABTS).

Ácido oxálico, 2,6-diclorofenolindofenol e ácido ascórbico foram obtidos da Merck. O reagente de Folin-Ciocalteu foi comprado da Dinâmica. O padrão ácido gálico foi adquirido da Extrasínthése.

## 5.2. MÉTODOS

### 5.2.1. DETERMINAÇÃO DE CAROTENÓIDES

A extração foi executada de acordo com MERCADANTE *et al.* (1997) onde os carotenóides foram extraídos com acetona e transferidos para éter etílico/éter de petróleo (1:1). O teor total de carotenóides foi determinado através da absorbância medida no  $\lambda_{\max}$  em espectrofotômetro de arranjo de diodos (AGILENT, modelo 8453) na faixa de 220 a 750 nm. A concentração de carotenóides foi calculada utilizando o valor de absortividade de 3450 (licopeno em éter de petróleo) para cálculo da papinha de goiaba e 2592 ( $\beta$ -caroteno) para as demais amostras, reportado por BRITTON (1995).

A extração foi realizada em triplicata para cada amostra.

### 5.2.2. DETERMINAÇÃO DE ANTOCIANINAS TOTAIS

A quantificação de antocianinas totais foi realizada segundo o método descrito por FRANCIS (1989). Os produtos infantis a base de goiaba e ameixa foram homogeneizadas em Turrax com etanol 95% acidificado com HCl 1,5N, na proporção 85:15. A mistura foi armazenada sob ausência de luz a 4°C por 16 horas, para depois ser filtrada à vácuo e lavada com etanol acidificado. Após avolumar o filtrado com o mesmo solvente, foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 535 nm.

O cálculo do teor de antocianinas totais contidas nas amostras foi realizado de acordo com a equação 1, onde A é absorbância, FD fator diluição e  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  absortividade de 98,2 L x g<sup>-1</sup> x cm<sup>-1</sup> expresso como cianidina-3-glucosídeo.

$$\text{Antocianinas totais} = \frac{A \times \text{FD}}{E_{1\text{cm}}^{1\%}} \quad (\text{equação 1})$$

A extração foi realizada em triplicata para cada amostra.

### **5.2.3. DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO**

O teor de ácido ascórbico foi determinado segundo BENASSI & ANTUNES (1988). Foi pesado 10 g da amostra, adicionado 50 mL de ácido oxálico 1% e mantido no escuro, sob refrigeração, por 15 minutos. Em seguida foi retirada uma alíquota de 10 mL e titulada com diclorofenolindofenol 0,2% em duplicata. A concentração de ácido ascórbico foi calculada, por comparação com padrão AA, titulado no dia da análise.

A extração foi realizada em triplicata para cada amostra.

### **5.2.4. ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS**

#### **5.2.4.1. EXTRAÇÃO**

A extração dos compostos fenólicos foi realizada de acordo com SINGLETON *et al.* (1999), em triplicata, a partir de 5 a 20 g dos produtos infantis, utilizando como solvente o etanol, em um total de 3 extrações em ultrassom. Os filtrados foram combinados e o solvente evaporado em evaporador rotatório ( $T < 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) até volume final de 100 mL. O extrato foi centrifugado a 2000 rpm por 20 minutos e mantido em freezer até a análise.

#### **5.2.4.2. DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS**

A determinação de fenóis totais foi realizada, em duplicata, através do método de Folin-Ciocalteu, segundo procedimento de SINGLETON *et al.* (1999), e os resultados expressos em equivalente de ácido gálico (GAE)/100g. Uma alíquota de 1 mL foi retirada do extrato ou das soluções padrões de ácido gálico e transferida para um balão volumétrico de 25 mL, contendo 9 mL de água. O reagente de Folin-Ciocalteu (1 mL) foi adicionado e a mistura agitada. Após 5 minutos foram adicionados 10 mL de uma solução Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7 % e o volume completado com água. Após 90 minutos de incubação a 23 °C, a absorvância foi determinada a 750 nm. A solução utilizada como branco foi obtida da mesma forma, com 1 mL de água destilada ou relação idêntica de metanol/água à utilizada na amostra.

#### **5.2.4.3. DETERMINAÇÃO DE FLAVONÓIDES TOTAIS**

Para a quantificação dos flavonóides totais (em duplicata) empregou-se o método desenvolvido por ZHISHEN *et al.* (1999) e os resultados foram expressos em equivalente de catequina (CE)/100g. Uma alíquota do extrato obtido no item 5.2.3.1 ou das soluções padrões de catequina foi adicionada a um balão volumétrico de 10 mL contendo 4 mL de água e em seguida foi adicionado 0,3 mL de uma solução de NaNO<sub>2</sub> 5%. Após 5 minutos, foi adicionado 0,3 mL de uma solução de AlCl<sub>3</sub> 10% e após 6 minutos 2 mL de NaOH 1 M, completando-se o volume com água destilada. A absorvância da solução foi determinada a 510 nm.

#### **5.2.5. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-RADICAL LIVRE**

A determinação da atividade anti-radical livre (em duplicata) foi realizada a partir dos extratos obtidos descritos no item 5.2.3.1. A leitura da absorvância foi realizada em espectrofotômetro de arranjo de diodos (AGILENT, modelo 8453).

### 5.2.5.1. ANÁLISE COM DPPH<sup>•</sup>

A análise com DPPH<sup>•</sup> foi realizada segundo o método de BRAND-WILLIAMS *et al.* (1995). Alíquotas de 60, 80, 100 e 120 µl dos extratos obtidos no item 5.2.4.1 foram adicionadas a 3,9 mL de solução de DPPH<sup>•</sup> ( $6 \times 10^{-5}$  M) em metanol. A diminuição na absorvância foi determinada a 515 nm até o momento em que a reação atingiu um patamar.

A solução utilizada como branco foi obtida com 0,1 mL de água destilada. A atividade anti-radical foi reportada como 1/EC<sub>50</sub>.

A partir de curva padrão de DPPH<sup>•</sup> calculou-se a concentração deste radical na reação. Assim foi possível obter a porcentagem remanescente de DPPH<sup>•</sup> que foi plotada em gráfico versus a concentração do antioxidante na cubeta. O valor de EC<sub>50</sub> foi calculado pela equação da reta do gráfico sendo expresso como 1/EC<sub>50</sub> para facilitar a interpretação dos dados.

### 5.2.5. 2. ANÁLISE COM ABTS<sup>•+</sup>

A análise com ABTS<sup>•+</sup> foi realizada de acordo com o método descrito por RE *et al.* (1999). O reagente ABTS foi dissolvido em água até uma concentração de 7 mM. O radical-cátion ABTS<sup>•+</sup> foi produzido pela reação da solução estoque de ABTS com persulfato de potássio 2,45 mM (concentração final). A mistura foi incubada no escuro à temperatura ambiente por 12 a 16 h. Em 2 mL da solução de ABTS<sup>•+</sup> (absorbância ~ 0.7 a 734 nm) foi adicionado uma alíquota de 20 µL dos extratos obtidos conforme descrito no item 5.2.4.1 provenientes dos produtos infantis ou das soluções padrão de Trolox em etanol. Esta reação foi colocada em ultrassom (sonicador) por 30 segundos. A absorvância foi determinada a 734 nm após 1 min do início da mistura até decorridos 6 min para a solução padrão de Trolox e até atingir um patamar para as amostras. A solução utilizada como branco foi obtida da mesma forma, com 10 µL de água destilada. A atividade antioxidante foi reportada como Trolox Equivalent Antioxidant Capacity - TEAC (mM/g)

O cálculo de TEAC foi:

$$\% \text{ inibição} = \frac{(At_0 - At_6)}{At_0} \times 100$$

$$[\text{Trolox}] \text{ final} = \frac{[\text{Trolox}] \times V \text{ adicionado}}{V \text{ final}}$$

$$\text{TEAC} = \frac{\text{concentração equivalente de Trolox} \times 0,1 \text{ (mM/100g)}}{\text{Massa amostra em } 20\mu\text{l}}$$

Sendo,

At0 – Absorbancia tempo zero

At6 – absorbancia tempo 6 minutos

V adicionado - volume 3 mL de ABTS

V final – volume final

[Trolox] – concentração de Trolox

### 5.3. SISTEMAS COM AQUECIMENTO

Foram utilizadas 2 embalagens de 3 diferentes lotes, totalizando 6 potes das sopinhas de vegetais para a análise do efeito do aquecimento em microondas sobre os compostos bioativos presentes nestes produtos e atividade anti-radical livre (ABTS). Os 6 potes foram abertos e o conteúdo de todos despejado em béquer de vidro para ser homogeneizado e assim obter uma amostragem composta. Logo após, o conteúdo inicial de cada embalagem foi devolvido a cada pote e estes foram colocados (um a um) sem tampa e com papel de filtro, em microondas comercial, potência média, por 60 segundos. A temperatura foi medida no centro e nas laterais (3) das embalagens. Após resfriamento, foram verificados os teores dos compostos bioativos (carotenóides, fenóis totais, ácido ascórbico).

A condição de aquecimento foi escolhida baseada nas instruções de preparo fornecidas pelo fabricante que recomenda:

- “banho-maria: retire a tampa. Aqueça mexendo de vez em quando”.

- “microondas: retire a tampa. Aqueça em potência média, por cerca de 30 a 40 segundos, mexendo na metade do tempo.”

## **6. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados obtidos foram analisados com o SAS software (SAS Institute Inc., version 9.0 Cary, NC, USA) com nível de significância de 5% ( $\alpha=0,05$ ).

A análise univariada (Teste de Normalidade de Kolmogorov-Smirnov e de Homogeneidade de Variância de Levene), foi empregada para se avaliar a forma de distribuição e consistência da base de dados, assim como para a adequação para a análise multivariada.

Todos os dados, com exceção dos teores de ácido ascórbico, cumpriram os pré-requisitos de normalidade e homogeneidade de variância. Desta maneira foi utilizado o teste t de Student para a verificar a interferência do aquecimento na concentração de carotenóides em sopinha de cenoura e mandioquinha. Os teores de ácido ascórbico para a sopinha de mandioquinha foram avaliados por teste não-paramétrico de Wilcoxon.

Para os teores de fenóis de ambas as sopinhas, foi verificada a análise de variância (ANOVA TWO-WAY) seguido de teste de Tukey para detectar as possíveis diferenças entre as várias fontes de variação (aquecimento e número de extração).

## *RESULTADOS E DISCUSSÃO*

## 7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 7.1 TEORES DE COMPOSTOS BIOATIVOS

#### 7.1.1. PAPHAS DE FRUTAS

A papinha de goiaba foi a que apresentou (tabela 8) a maior concentração de carotenóides totais (3,7 mg/100g) e de ácido ascórbico (262 mg/100g).

Em relação ao teor de flavonóides e fenóis totais, a papinha de ameixa foi o produto que apresentou os maiores valores (Tabela 8), sendo 35 mg CE /100g de flavonóides totais e 49 mg GAE / 100g de fenóis totais.

**Tabela 8:** compostos bioativos presentes nos alimentos infantis a base de frutas

<b>alimentos infantís</b>	<b>Carotenóides totais<sup>a</sup></b>	<b>Fenóis totais<sup>b</sup> (mgGAE/100g)</b>	<b>Flavonóides totais<sup>c</sup> (mgCE/100g)</b>	<b>Ácido ascórbico<sup>d</sup></b>	<b>Antocianinas totais</b>
Ameixa	0,28±0	49,3±1,4	36,2±1,3	150±0,1	0
Goiaba	3,7±0	38,5±0,6	9,8±0,5	262±7	0
Maçã	0,02±0	22,7±0,7	19,9±0,4	234±2	nd
Pêra	0,004±0,4	19,0±0,2	14,0±0,2	350±0,6	nd
Banana	0,03±0,6	14,2±0,6	3,3±0,4	308±1,5	nd

nd – não determinado

a,d,e. média (triplicata) ± desvio padrão

b,c. média (duplicata) ± desvio padrão

valores expressos como mg/100g

GAE. Ácido gálico equivalente

CE. Catequina equivalente

É difícil comparar os valores de compostos bioativos encontrados nos alimentos infantis com as frutas *in natura* visto que estes produtos são produzidos com matéria prima de diversos produtores de todo o país e a parte da fruta (casca, polpa ou fruta toda) utilizada é desconhecida.

O teor de fenóis totais encontrados na papinha de maçã (22,7 mg GAE/100g) foi similar aos reportados por SPANOS *et al.* (1990) aonde foram encontrados valores de fenóis totais, relativos a 4 marcas comerciais de sucos de maçãs concentrados, variando de 4,9 mg GAE/100mL a 22,4 mg GAE/100L e ao trabalho de GARDNER *et al.* (2000) que encontraram 33,9 mg GAE/100mL de fenóis totais em suco de maçã pronto para beber. Em relação ao teor de carotenóides totais (0,02 mg/100g), este valor foi extremamente inferior ao reportado por SETIAWAN *et al.* (2000) em maçã *Malus domestica in natura* (0,106 mg/100g de criptoxantina, 0,209 mg/100g de licopeno e 0,072 de  $\beta$ -caroteno totalizando 0,387 mg/100g). Porém neste trabalho foi utilizada a fruta toda como objeto de estudo e a papinha de maçã parece ser produzida apenas com a polpa da fruta.

A concentração de flavonóides totais (19,9 mg CE /100g) na papinha de maçã foi semelhante a encontrada em polpa de maçã “Limonella” (16,0 mg quercetina equivalente/100g) por D’ABROSCA *et al.* (2004). Estes autores citam ainda que esta concentração foi praticamente 3 vezes menor do que a encontrada na casca da fruta, fato confirmado também por WOLFE *et al.* (2003) em maçã “Golden Delicious” (casca 202,2 mg CE/100g e polpa 42,5 mg CE/100g)

No caso da papinha de goiaba o teor de fenóis totais (Tabela 8) encontrado foi um pouco menos que a metade do valor reportado por KUSKOSKI *et al.* (2006) que encontraram 83 mg GAE/100g em polpa congelada de goiaba e praticamente 1/3 do valor de 119 mg GAE/100g relatado por HASSIMOTTO *et al.* (2005) também para polpa congelada.

O valor de carotenóides totais encontrado na papinha de goiaba (3,7mg/100g) foi similar aos reportados por WILBERG & RODRIGUEZ-AMAYA de 5,7 mg/100g) e por MELO *et al.* (2006) de 4,29 mg/100g, sendo que ambos os estudos foram conduzidos no Brasil sendo o primeiro no Estado de São Paulo e o segundo no estado de Pernambuco e com frutas *in natura*. Já o teor de flavonóides totais foi de (9,8 mg CE/100g) superior ao ao valor de 5,45 mg quercetina equivalente/100g encontrado por MELO *et al.* (2006) porém os autores quantificaram este teor como flavonóis totais

A papinha de ameixa é feita a partir da ameixa seca que normalmente é desidratada em ar quente a 85°C a 90º por até 18 horas (STACEWICZ-

SAPUNTZAKIS *et al.*, 2001). GORSEL *et al.* (1992) detectaram apenas traços ou níveis não detectáveis de antocianinas em sucos de ameixas secas e relacionaram tal fato a estes compostos serem muito instáveis a altas temperaturas e concentrações de oxigênio e, portanto podem ter sido perdidos com o processamento da ameixa. Tal fato também foi constatado no presente trabalho, aonde não foi possível detectar níveis de antocianinas totais nas amostras de papinha de ameixa e de goiaba. Em relação ao perfil de fenóis presentes em ameixas desidratadas, PIGA *et al.* (2003) relataram que a degradação de fenóis varia dependendo do tipo de tratamento térmico empregado na desidratação e também da variedade e/ou cultivar desta fruta,. Sendo que a 60°C houve significativa diminuição no teor dos ácidos neoclorogênico e clorogênico em comparação ao tratamento a 85°C, o que pode ser explicado pela não inativação da enzima polifenolxidase que mantém sua alta atividade em temperatura de secagem em torno de 55°C enquanto que possui apenas atividade moderada quando em temperaturas superiores a 75°C. Estes autores ainda relataram que em relação às antocianinas houve total destruição da cianidina 3-glucosídeo e cianidina 3-rutinosídeo.

O valor de fenóis totais (49,3 GAE/100g) encontrado na papinha de ameixa foi semelhante ao citado por DONOVAN *et al.* (1998), 44 mg GAE/100g, em suco de ameixa desidratada que é feito a partir de ameixas desidratadas por extração com água quente. O teor de carotenóides totais da na papinha de ameixa (0,28 mg/100g) foi maior do que o relatado por REEMANGELS *et al.* (1993) em suco de ameixa seca de 0,09 mg/100g (0,037 mg/100g de luteína, 0,01 mg/100g de  $\alpha$ -caroteno e 0,043 mg/100g de  $\beta$ -caroteno).

O teor de fenóis totais encontrado na papinha de pêra (19 mg GAE/100g) foi similar ao quantificado (25 mg GAE/100ml) por VASANTHAN *et al.* (2007) em vinhos elaborados com este tipo de fruta e ainda por OH *et al.* (2006) que encontraram 18,7 mg GAE/100ml em suco natural de pêra. Em relação ao teor de flavonóides totais observa-se que o valor encontrado no presente trabalho (19,0 mg/100g) foi praticamente 3 vezes menor do que o relatado no estudo de ESCARPA & GONZÁLEZ (2000) aonde foram quantificados os principais flavonóides presentes em Pêra D'água (casca e polpa), cujo cultivar é comercializado no Brasil. Estes autores encontraram na casca as maiores

concentrações (de 54,3 a 79,8 mg/100g) dos flavonóides com valores variando de 4,4 a 5,5 mg/100g para catequina, 8,1 a 11,6 mg/100g de epicatequina e 41,8 a 62,7 mg/100g de rutina . Já na polpa foi encontrado apenas 0,8 mg/100g de catequina e 0,8 mg/100g epicatequina, totalizando 1,6mg/100g.

A concentração total de carotenóides determinada na papinha de pêra foi de 0,004 mg/100g, valor mais de 25 vezes inferior ao reportado por HEINONEN et al. (1989) na fruta *in natura* sendo de 0,127 mg/100g (0,017 de  $\beta$ -caroteno e 0,110 de luteína).

Ao correlacionar o teor de carotenóides totais (0,03 mg/100g) encontrado na papinha de banana com o reportado por MELO *et al.* (2006) em banana cv. “Pacovan” (1,062 mg/100g) comercializada na cidade de Recife-PE, verifica se que o valor deste teor no presente estudo é bem inferior ao da fruta *in natura* Este fato também pode ser observado para os valores de fenóis totais aonde os autores encontraram 52,02 mg CE/100g enquanto que o teor destes compostos na papinha, foi de apenas 14,2 mg GAE/100g. As possíveis explicações para este fato seriam uso de diferente cultivar da banana como matéria-prima no produto analisado, região de origem da fruta ou ainda devido ao processamento da fruta na fabricação da papinha. O teor de flavonóides totais encontrado neste produto (3,3 mg CE/100g) foi superior ao de 1,02 mg quercetina equivalente/100g encontrado por MELO et al. (2006) porém tais autores utilizaram flavonóis totais para a quantificação.

Apesar de somente a goiaba ser uma conhecida fonte de ácido ascórbico, verifica se uma alta concentração deste composto em todas as papinhas de frutas analisadas no presente estudo. Este fato está relacionado com a adição intencional de vitamina C pelo fabricante como estabilizante do produto, fato constatado no rótulo das papinhas embora não fosse mencionada a quantidade adicionada.

### 7.1.2. SOPINHAS DE LEGUMES

O teor de carotenóides totais em sopinha de cenoura (tabelas 9 e 10) foi expressivamente maior (6,4 mg/100g) em relação ao de mandioquinha (0,59 mg/100g). Estes resultados já eram esperados uma vez que a cenoura *in natura* apresenta teores de carotenóides totais variando de 9,5 mg/100g (MELO *et al.* 2006) e de 10,1 mg/100g (3,5 mg/100g de  $\alpha$ -caroteno, 6,1 mg/100g de  $\beta$ -caroteno e 0,51 mg/100g de luteína) (NIIZU & RODRIGUEZ-AMAYA, 2005).

O teor de fenóis totais encontrado (14,55 mg GAE/100g) na sopinha de cenoura foi muito próximo aos valores encontrados na literatura em cenouras *in natura* sendo de 13,2 mg GAE/100g (BAHORUN *et al.* 2004) e 12,93 mg catequina equivalente/100g (MELO *et al.* 2006). Já os flavonóides totais, que não foram detectados no presente estudo, foram quantificados por MELO *et al.* (2006) como flavonóis totais, aonde encontrou se 3,55 mg quercetina equivalente/100g em cenoura *in natura* comercializada em Recife-PE. Em relação ao conteúdo de ácido ascórbico (tabela 9), devido à adição de vitamina C no produto, o valor encontrado foi extremamente superior aos descritos na literatura: 29,8 mg/100g (BAHORUN *et al.* 2004) e 4,63 mg/100g (MELO *et al.* 2006) em cenoura *in natura*. O valor de vitamina adicionada pelo fabricante não é relatado no rótulos dos produtos.

**Tabela 9:** Teores dos compostos bioativos presentes na sopinha de cenoura.

Compostos	Média $\pm$ DP	CV (%)
Carotenóides Totais <sup>a</sup> mg/100g	6,4 $\pm$ 1,5	2,3
Ácido ascórbico <sup>b</sup> mg/100g	281,36 $\pm$ 0	0,0%
Fenóis Totais <sup>c</sup> mg GAE/100g	14,55 $\pm$ 0,1	1,0

a,b. média (triplicata)  $\pm$  DP

c- média (duplicata)  $\pm$  DP

GAE. Ácido gálico equivalente

Originária dos Andes e introduzida no Brasil há um século na região serrana do Estado do Rio de Janeiro, a mandioquinha salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) ou batata baroa, é cultivada no Brasil na região Centro Sul, principalmente em áreas de elevada altitude e clima ameno de Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina, Espírito Santo e São Paulo, onde ocorrem condições climáticas similares às de seu local de origem (PORTZ *et al.* 2003; LEONEL & CEREDA, 2002; CÂMARA, 1993; SANTOS, 1993). Apesar desta raiz ser produzida no país há 100 anos não foram encontrados estudos na literatura sobre presença de compostos bioativos, o que tornou impossível a comparação dos dados obtidos (tabela 9) na sopinha de mandioquinha. Apenas estudos como o de PEREIRA (1997) caracterizam a mandioquinha salsa como alimento energético apresentando 25g, em média, de carboidratos totais por 100g de raiz, cálcio (62,25 mg/100g) e fósforo. Esta raiz vem sendo largamente empregada em formulações de alimentos infantis, sopas e purês devido às características desejáveis do seu amido, que contém amilose em torno de 23%, apresenta pouca retrogradação e sinerese e ainda possui alta digestibilidade (LEONEL & CEREDA, 2002; PORTZ *et al.* 2006).

**Tabela 10:** Teores dos compostos bioativos presentes na sopinha de mandioquinha

<b>Compostos</b>	<b>Média ±DP</b>	<b>CV (%)</b>
Carotenóides Totais <sup>a</sup> mg/100g	0,59±0,3	5,4
Ácido ascórbico <sup>b</sup> mg/100g	257,2 ±0	0,0
Fenóis Totais <sup>c</sup> mg GAE/100g	10,2±1,8	17,0

a,b. média (triplicata) ± DP

c. média (duplicata) ± DP

GAE. Ácido gálico equivalente

### 7.1.3. EFEITO DO AQUECIMENTO

Após 60 segundos de aquecimento no microondas em potência média, a temperatura medida no centro das embalagens das sopinhas de legumes (cenoura e mandioquinha) variou de 81°C a 83°C enquanto que nas laterais foram de 62°C a 65°C

As tabelas abaixo mostram os valores encontrados dos compostos bioativos (carotenóides totais, fenóis totais e ácido ascórbico) antes e após o aquecimento das sopinhas de cenoura e mandioquinha.

A maior porcentagem de perda dos compostos bioativos presentes na sopinha de cenoura foi observada no teor de carotenóides totais (2,02%), seguido de fenóis totais (1,99%) e ácido ascórbico (0,14%). Porém tais perdas não foram estatisticamente significativas como pode ser observado nas Tabelas 11, 12,13, 14 e 15.

**Tabela 11.** Média e desvio padrão para as concentrações de carotenóides em sopinha de cenoura antes e após aquecimento.

<b>Tratamento</b>	<b>Concentração (µg/100g)</b>
Com Aquecimento	60.89 ± 5.6 (a)
Sem Aquecimento	62.75 ± 3.1 (a)

Letras distintas ilustram diferenças estatísticas significantes entre as médias (teste t de Student; p= 0.3250)

**Tabela 12.** Análise de Variância dos valores médios do teor de fenóis com e sem aquecimento.

<b>Análises</b>	<b>DF</b>	<b>Tipo II SS</b>	<b>Mean Square</b>	<b>F Valor</b>	<b>P</b>
FENOL	2	4.81	2.41	16.10	0.0039
AQUEC	1	0.029	0.03	0.20	0.6734
FENOL*AQUEC	2	0.231	0.11	0.77	0.5025

**Tabela 13.** Média e desvio padrão para teor de fenóis em sopinha de cenoura antes após aquecimento.

<b>Extrações</b>	<b>Concentração</b>	<b>Concentração</b>
	<b>(µg/100g)</b>	<b>(µg/100g)</b>
	<b>Sem Aquecimento</b>	<b>Com Aquecimento</b>
1	13.07 ± 0.47 (a, A)	12.84 ± 0.47 (a, A)
2	13.40 ± 0.14 (a, A)	13.05 ± 0.59 (a, A)
3	14.27 ± 0.27 (b, A)	14.55 ± 0.14 (b, A)

Letras distintas ilustram diferenças estatísticas significantes entre as médias (teste de Tukey). Letras distintas minúsculas ilustram diferença entre as extrações; letras maiúsculas entre o fator aquecimento ( $p > 0.05$ ).

**Tabela 14.** Análise de Variância dos valores médios de concentração de Ácido Ascórbico após extração fenólica com e sem aquecimento para sopinha de cenoura.

<b>Análises</b>	<b>DF</b>	<b>Tipo II SS</b>	<b>Mean Square</b>	<b>F Valor</b>	<b>P</b>
FENOL	2	4.81	2.41	16.10	0.0039
AQUEC	1	0.029	0.03	0.20	0.6734
FENOL*AQUEC	2	0.231	0.11	0.77	0.5025

**Tabela 15.** Média e desvio padrão para as concentrações de Ácido Ascórbico em sopinha de cenoura antes após aquecimento.

Extrações	Concentração	Concentração
	( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )
	Sem Aquecimento	Com Aquecimento
1	257.20 $\pm$ 0.01 (a, B)	256.80 $\pm$ 0.01 (a, B)
2	257.18 $\pm$ 0.01 (a, B)	256.86 $\pm$ 0.06 (a, B)

Letras distintas ilustram diferenças estatísticas significantes entre as médias (teste de Tukey). Letras distintas minúsculas ilustram diferença entre as extrações; letras maiúsculas entre o fator aquecimento ( $p > 0.05$ ).

Na sopinha de mandioquinha observa-se também uma maior perda no teor de carotenóides totais (4,36%), seguido de 2,25% para fenóis totais e 0,16% para ácido ascórbico, porém não foram significativas (Tabelas 16,17,18,19 e 20)

**Tabela 16.** Média e desvio padrão para as concentrações de Carotenóides em sopinha de mandioquinha antes e após aquecimento.

Tratamento	Concentração
	( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )
Com Aquecimento	5.43 $\pm$ 0.9 (a)
Sem Aquecimento	5.43 $\pm$ 0.01 (a)

Letras distintas ilustram diferenças estatísticas significantes entre as médias (teste t de Student;  $p = 0.6793$ )

**Tabela 17.** Análise de Variância dos valores médios de concentração de Fenóis após extração fenólica com e sem aquecimento em sopinha de mandioca.

<b>Análises</b>	<b>DF</b>	<b>Tipo II SS</b>	<b>Mean Square</b>	<b>F Valor</b>	<b>P</b>
AQUEC	1	0.008	0.008	0.15	0.7161
EXTRA	2	26.04	13.02	227.42	<0.0001
AQUEC*EXTRA	2	0.001	0.001	0.00	0.9997

**Tabela 18.** Média e desvio padrão para os teores de Fenóis em sopinha de mandioca antes e após aquecimento.

<b>Extrações</b>	<b>Concentração</b>	<b>Concentração</b>
	<b>(µg/100g)</b>	<b>(µg/100g)</b>
	<b>Sem Aquecimento</b>	<b>Com Aquecimento</b>
1	8.56 ± 0.01 (a, A)	8.56 ± 0.05 (a, A)
2	9.95 ± 0.03 (b, A)	9.90 ± 0.03 (b, A)
3	12.15 ± 0.40 (c, A)	12.09 ± 0.42 (c, A)

Letras distintas ilustram diferenças estatísticas significantes entre as médias (teste de Tukey). Letras distintas minúsculas ilustram diferença entre as extrações; letras maiúsculas entre o fator aquecimento ( $p > 0.05$ ).

**Tabela 19.** Teste de Wilcoxon para concentração de ácido ascórbico para sopinha de mandioquinha.

Wilcoxon Two-Sample Test	
Statistic	3.0000
Normal Approximation	
Z	-1.5492
One-Sided Pr < Z	0.0607
Two-Sided Pr >  Z	0.1213
t Approximation	
One-Sided Pr < Z	0.1096
Two-Sided Pr >  Z	0.2191
Kruskal-Wallis Test	
Chi-Square	2.4000
DF	1
Pr > Chi-Square	0.1213

**Tabela 20.** Média e desvio padrão para as concentrações de Ácido Ascórbico em sopinha de mandioquinha antes após aquecimento.

Extrações	Concentração	Concentração
	( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )
	Sem Aquecimento	Com Aquecimento
1	269.20 $\pm$ 16.97 (a, A)	280,85 $\pm$ 0.64 (a, A)
2	282.25 $\pm$ 0.35 (a, A)	281.60 $\pm$ 0.42 (a, A)

Não houve perda significativa no teor de carotenóides totais quando as sopinhas de legumes foram aquecidas em microondas assim como foi observado por NUNN *et al.* (2006) para os teores de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno presentes em cenouras descascadas, cortadas em cubos e aquecidas em água em microondas por 7 minutos em potência alta. O mesmo foi observado ainda por KHACHIK *et al.* (1992), pois com exceção da violaxantina e epóxido de luteína,

os níveis de xantofilas (neoxantina e luteína) e carotenos ( $\beta$ - e  $\alpha$ -caroteno) em brócolis, espinafre e feijões verdes cozidos sob condições brandas (fervura por até 9 minutos, cozimento em vapor de 3 a 5 minutos e aquecimento em microondas por até 3 minutos em potência alta) permaneceram praticamente inalterados. Além disso, quando os feijões verdes foram fervidos durante 1 hora, não houve diferença significativa entre os teores de luteína,  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno (KHACHIK *et al.* 1992). A comparação feita entre os níveis totais dos isômeros *cis* da luteína nos vegetais cozidos e aqueles presentes nos alimentos *in natura* indicaram que a isomerização *cis-trans* não foi influenciada pelas condições de cozimento empregadas (KHACHIK *et al.* 1992).

No presente trabalho, não foram observadas alterações nos teores de ácido ascórbico das sopinhas aquecidas em microondas, resultado este de acordo com o estudo realizado por HOWARD *et al.* (1999), que observaram que o teor de ácido ascórbico de cenouras refrigeradas e acondicionadas em recipientes com água quando cozidas em microondas por 9 minutos, não se alterou. Já em espinafre *in natura* cozido em água, aproximadamente 60% da vitamina C foi encontrada na água de cozimento e 40% no tecido do vegetal (GIL *et al.* 1999). Isto pode ser explicado devido à alta polaridade do ácido ascórbico que se solubiliza quando o processamento de alimentos envolve água (KALT, 2005).

Os teores de fenóis totais também não se alteraram quando as sopinhas, tanto de cenoura quanto a de mandioquinha, foram aquecidas por microondas, assim como em cebola cozida em microondas por 30, 60 e 180 segundos (IOKU *et al.* 2001).

## **7.2. ATIVIDADE ANTI RADICAL LIVRE DOS PRODUTOS INFANTIS**

As atividades anti radical livre frente ao radical ABTS encontradas nos produtos infantis (tabela 11) foram superiores aos valores relatados na literatura para frutas *in natura* ou produtos destas frutas como pode ser observado a seguir e isto pode ter sido devido as diversas formas de se calcular o TEAC. Em relação a papinha de goiaba, apesar do valor de TEAC (411 mM/100g) ter sido calculado a 6 minutos ainda é muito diferente do reportado por KUSKOSKI *et al.* (2006) aonde observaram que o valor de

TEAC em polpa de goiaba variou conforme o tempo de análise, sendo que o TEAC foi de 0,59 mmol/100g quando medido em 30 minutos e 0,74 mmol/100g a 60 minutos. Porém os autores não relatam um possível motivo para este fato.

A atividade anti radical livre da sopinha de cenoura foi de 211,0 mM/100g enquanto que foram encontrados valores 0,043 mM/100g descrito por BAHORUN *et al.* (2004) e 0,23 mM/100g relatado por ZHOU & YU (2005) adquiridos na desativação do radical ABTS\* por cenoura *in natura*. Porém em ambos os trabalhos foi utilizado o método de ABTS/MnO<sub>2</sub> diferentemente da metodologia empregada no presente estudo aonde o radical ABTS foi gerado pela adição de persulfato de potássio. Esta diferença foi explicada pela diferença na forma de gerar o radical ABTS que pode ter grande influência nos resultados pois quando o ABTS\*<sup>+</sup> é gerado enzimaticamente, simultaneamente com o composto antioxidante, a adição de amostra contendo compostos fenólicos pode deprimir o ABTS produzindo enzima junto com o composto anti-radical livre (DE BEER *et al.* 2003).

Para as papinha de pêra e banana os valores de TEAC (tabela 11) foram maiores do que os determinados nas frutas *in natura* por LUXIMON-RAMMA *et al.* (2003) que a partir do método ABTS/MnO<sub>2</sub> encontrou 0,1 mM/100g em banana e GARCIA-ALONSO *et al.* (2004) os quais utilizaram-se do método ABTS-ferrilmioglobina-metmioglobina e encontraram 0,3 mM/100g em pêra.

**Tabela 21:** Valores de TEAC dos produtos infantis.

<b>Alimentos infantis</b>	<b>ABTS*<sup>+</sup> TEAC (mM/100g)</b>
Ameixa	560±0,31
Goiaba	411±0,07
Maçã	380±0,06
Pêra	270±0,03
Banana	150±0,04
Cenoura	210±0,04
Mandioquinha	120±0,02

valores expressos como média (duplicata) ±DP

Não foi possível comparar os valores encontrados na análise de DPPH (tabela 12) com os da literatura, pois os valores estão expressos em diferentes unidades. Como no trabalho de Sánchez *et al.* (2003) aonde o valor de DPPH foi expresso como AEAC (mM ácido ascórbico equivalente) medido em diferentes cultivares de pêra. Os autores encontraram 120,2 mg/100g para cultivar D'Anjou; 124 mg/100g Red D'Anjou; 108,2 mg/100g Bosc; 113,1 mg/100g Forelle; 75,4 mg/100g na Coscia e 98,7mg/100g em Packams. Utilizando se da mesma unidade AEAC (atividade antioxidante equivalente de ácido ascórbico), LIM *et al* (2007) encontraram 218 mg/100g em goiaba e 27,8 mg/100g em banana. E em diferentes cultivares de ameixa, GIL *et al* (2002) determinou AEAC na polpa destas frutas in natura e relataram 512 mg/kg no cultivar Black Beaut; 349 mg/kg na Red Beaut, 212 mg/kg em Santa Rosa e 518 mg/kg no cultivar Angeleno.

**Tabela 22.** Respostas de desativação das papinhas de frutas frente ao radical DPPH\*, medida após 6 minutos.

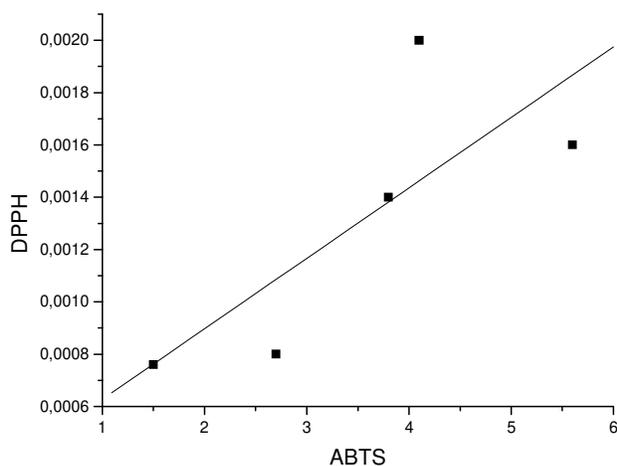
<b>Alimentos infantis</b>	<b>DPPH (1/EC<sub>50</sub>)</b>
Ameixa	1,6 x 10 <sup>-3</sup>
Goiaba	2 x 10 <sup>-3</sup>
Maçã	1,4 x 10 <sup>-3</sup>
Pêra	8 x 10 <sup>-4</sup>
Banana	7,6 x 10 <sup>-4</sup>

Valores expressos como média

### 7.3. CORRELAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS DE ATIVIDADE ANTI-RADICAL LIVRE

Para efeito de comparação entre as amostras, os cálculos foram feitos quando os extratos atingiram 6 minutos para ambas as reações, tempo este baseado na curva padrão de Trolox.

Não houve uma boa correlação ( $r=0,78$ ) entre os métodos ABTS<sup>•+</sup> e DPPH<sup>•</sup> utilizados na determinação da atividade anti radical livre nas papinhas de frutas (figura 7). Este fato também foi observado por LEONG & SHUI (2002) que reportaram uma boa correlação ( $r = 0.9045$ ) entre a atividade anti-radical livre medida pelos 2 métodos para apenas 11 das 27 frutas analisadas (morango, ameixa, goiaba, uva, mangostao, abacate, laranja, mamão: 2 variedades, manga, kiwi, pomelo, limão, abacaxi, maçã, banana, polpa de côco, tomate, melancia , água de côco e outras). Porém não foram descritas quais as frutas que não obtiveram uma boa correlação entre os métodos e nem o motivo para que isto tenha acontecido.



**Figura 5.** Correlação entre os métodos DPPH<sup>•</sup> e ABTS<sup>•+</sup> medidos nas papinhas de frutas.

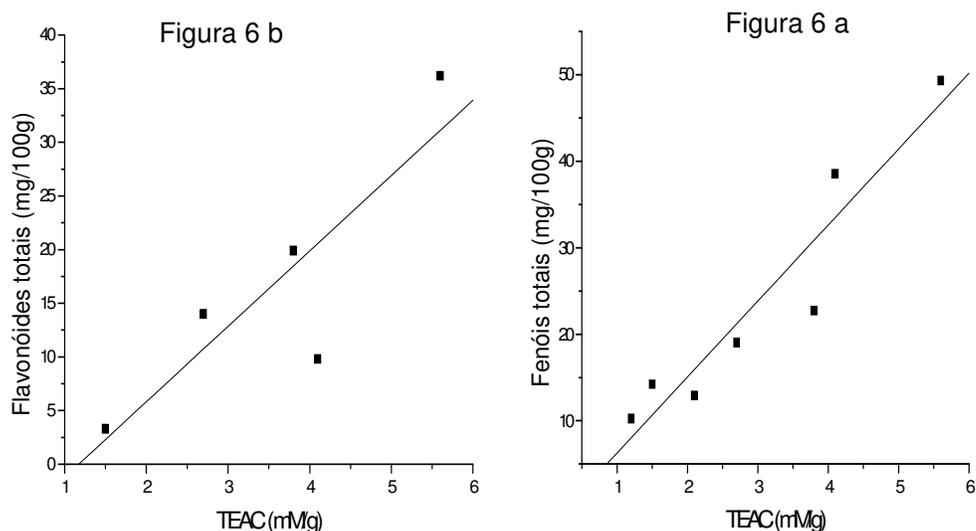
Foi calculada ainda a velocidade de reação dos extratos obtidos das papinhas de frutas na desativação do radical ABTS<sup>•+</sup>. As diferenças encontradas nos valores de  $k_{obs}$  (tabela 13) podem ser devido às variações nas concentrações finais de antioxidantes nos extratos obtidos para cada amostra visto que suas composições fitoquímicas eram diferentes e para que houvesse reação colorimétrica era necessário maior ou menor massa de amostra a ser pesada.

**Tabela 23.** valores de velocidade de reação ( $k_{obs}$ ) das amostras frente ao radical ABTS.

<b>Alimentos infantis</b>	<b>ABTS<sup>•+</sup></b>
	<b><math>k_{obs}</math> (s<sup>-1</sup>)</b>
Ameixa	$6,7 \times 10^{-2}$
Goiaba	$2,3 \times 10^{-2}$
Maçã	$9,0 \times 10^{-3}$
Pêra	$4,5 \times 10^{-3}$
Banana	$2,0 \times 10^{-3}$

### 7.3.1. CORRELAÇÃO ENTRE ATIVIDADE ANTI-RADICAL LIVRE (ABTS<sup>•+</sup>) E COMPOSTOS BIOATIVOS

No presente estudo, a Figura 8 mostra que existe uma maior correlação ( $r=0,93034$ ) entre a quantidade de fenóis totais presentes nos extratos das papinhas de frutas com a atividade anti radical livre frente ao ABTS do que em relação ao flavonóides totais ( $0,86657$ ).



**Figura 6.** Correlação entre os teores de fenóis totais (a) e flavonóides totais (b) com a atividade anti-radical frente ao ABTS<sup>•+</sup> (TEAC) dos alimentos infantis

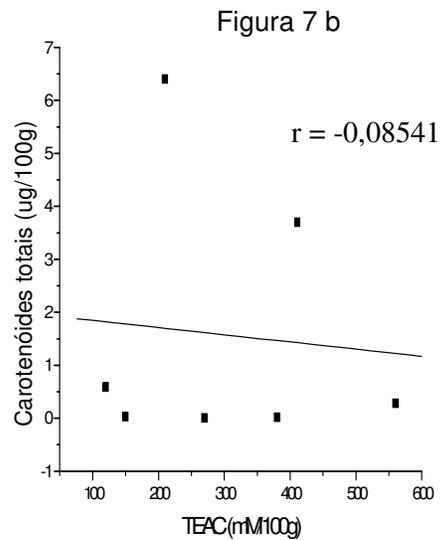
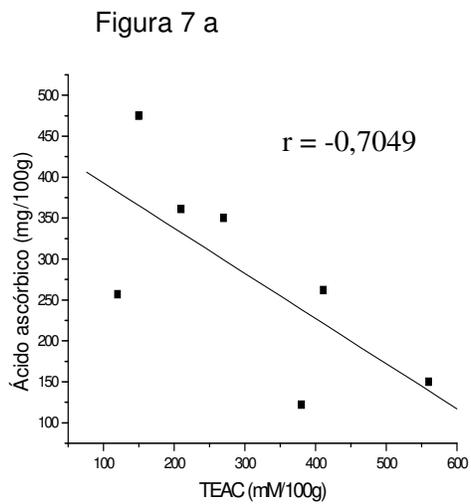
Assim como observado neste estudo aonde houve uma boa correlação entre o teor de fenóis totais para as papinhas de frutas e a atividade anti radical livre, LUXIMON-RAMMA *et al.* (2003) relataram também que houve uma estreita correlação ( $r=0,98$ ) entre o teor de fenóis totais e atividade antioxidante, frente ao radical ABTS, dos extratos de goiaba chinesa, goiaba, abacaxi, banana, abacate, maracujá, manga, mamão, e outras.

No entanto, as papinhas de frutas analisadas o teor de flavonóides totais não obteve tão boa correlação ( $r=0,87$ ) com a atividade anti radical livre frente ao radical ABTS, dados coerentes com os relatados por GARCIA-ALONSO *et al.* (2004) que mostraram baixa correlação ( $r < 0,3$ ) nas frutas analisadas (abacate, damasco, mirtilo, cereja, romã, caqui, kiwi, maçã, banana, abacaxi,

uva, pêra entre outras) e ainda por LUXIMON-RAMMA *et al.* (2003) que reportaram  $r=0,77$  para extratos das frutas citadas no parágrafo anterior.

Houve ainda correlação negativa em relação aos teores de carotenóides totais (figura 9 b) e ácido ascórbico (figura 9 a) e a atividade anti radical livre (ABTS). Muitos autores relatam que a contribuição do ácido ascórbico na atividade anti radical livre varia conforme a fruta e também presença de outros compostos antioxidantes. MILLER *et al.* (1997) reportou que enquanto o ácido ascórbico representou mínima contribuição na atividade antioxidante total de suco de maçã pronto para beber, o ácido hidroxicinâmico mostrou ser o principal antioxidante que promoveu a ação antioxidante deste produto. Já nos sucos de laranja, apesar da presença de hesperidina e narirutina, a maior contribuição na atividade antioxidante foi do ácido ascórbico (87%), sendo que os autores relacionaram tal fato a forma coloidal de dispersão que estas flavanonas se encontravam nos sucos. Já Gardner *et al.* (2000) relataram que embora os sucos de maçã, abacaxi e laranja continham compostos fenólicos, a melhor atividade antioxidante foi das amostras com alto teor de ácido ascórbico. E ainda mostraram que a porcentagem de contribuição do ácido ascórbico foi até 5% em sucos de maçã e abacaxi e de 65 a 100% em sucos cítricos; reforçando a observação feita por Miller *et al.* (1997) de que o ácido ascórbico é o principal antioxidante presente em sucos de laranja, porém não é o principal contribuinte na atividade antioxidante em suco de maçã.

Em outro trabalho, LEONG & SHUI (2002), observaram que dentre as frutas *in natura* analisadas que possuíam extrema capacidade de captar radical ABTS como ameixa, ciku e uva (sem sementes) o teor de ácido ascórbico variou apenas de 0,5 a 8,2 mg/100g. Os autores ressaltam que outros compostos antioxidantes podem ter contribuído para esta alta reatividade como os compostos fenólicos. Porém não foi determinado nem o teor de fenóis e nem o de flavonóides totais das frutas analisadas.



**Figura 7.** Correlação entre o teor de ácido ascórbico (a) e carotenóides totais (b) e atividade anti radical livre (ABTS) dos produtos infantis

## *CONCLUSÕES*

## 8. CONCLUSÕES

1. O produto infantil que apresentou a maior concentração de carotenóides totais foi a sopinha de cenoura seguida da papinha de goiaba, sopinha de mandioquinha, papinha de ameixa, papinha de banana, papinha de maçã e papinha de pêra.

2. Na papinha de ameixa foi detectada o maior teor de compostos fenólicos totais, seguida da papinha de goiaba, papinha de maçã, papinha de pêra, papinha de banana, sopinha de cenoura e sopinha de mandioquinha.

3. Em relação ao conteúdo de flavonóides totais, a papinha de ameixa apresentou o maior valor seguida da papinha de maçã, papinha de pêra, papinha de goiaba e papinha de banana. Estes compostos não foram detectados nas sopinhas de cenoura e mandioquinha.

4. O maior teor de ácido ascórbico foi quantificado na papinha de pêra, seguida da papinha de banana, sopinha de cenoura, papinha de goiaba, sopinha de mandioquinha, papinha de maçã e papinha de ameixa.

5. Não foi detectada a presença de antocianinas totais nas papinhas de ameixa e goiaba.

5. A papinha de ameixa foi a que apresentou a melhor capacidade de desativação do radical livre ABTS seguida da papinha de goiaba, papinha de maçã, papinha de pêra, sopinha de cenoura, papinha de banana e sopinha de mandioquinha

6. Não houve perda significativa dos compostos bioativos presentes, tanto na sopinha de cenoura quanto na de mandioquinha, após aquecimento em microondas por sessenta segundos.

8. Não foi observada boa correlação entre os métodos anti radical livre DPPH<sup>•</sup> e ABTS<sup>•+</sup> para os extratos obtidos a partir produtos infantis a base de frutas.

7. Foi verificada alta correlação ( $r = 0,9482$ ) entre o teor de compostos fenólicos totais e atividade anti radical livre ABTS<sup>•+</sup>, enquanto que a correlação com os teores de flavonóides totais foi mais baixa ( $r = 0,86$ ) e houve ainda correlação negativa em relação aos teores de carotenóides totais ( $r = -0,0854$ ) e ácido ascórbico ( $r = -0,7049$ ) e a atividade anti radical livre (ABTS).

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARABBI, P.R.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 1124-1131, 2004.
- BAHORUN, T.; LUXIMON-RAMMA, A.; CROZIER, A.; ARUOMA, O. Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84: 1553-156, 2004.
- BAKKER, J.; BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C.F.; ARNOLD, G.M. The colors, pigments and phenol contents of young port wines- effects of cultivar, season and site. *Vitis*, 25: 40-52, 1986.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SANMA, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99 : 191-203, 2006.
- BENASSI, M.T.; ANTUNES, A.J. A comparison of methaphosphoric and oxalic acid as extracts solutions for determination of vitamina C in vegetables. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, 31: 507-513, 1998.
- BÖHM, V.; PUSPITASARI-NIENABER, N.L.; FERRUZZI, M.G.; SCHWARTZ, S. Trolox equivalent antioxidant capacity of different geometrical isomers of  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene, lycopene and zeaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 221-226, 2002.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 28: 25-30, 1995.
- BRATT, K.; SUNNERHEIN, K.; BRYNGELSSON, S.; FAGERLUNG, A.; ENGMAN, L.; ANDERSSON, R.E.; DIMBERG, L.H. Avenanthramides in Oats (*Avena sativa* L.) and Structure-Antioxidant Activity Relationships. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 594-600, 2003.
- BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary, sources, metabolism, and nutrition significance. *Nutr. Ver.*, 56: 317-333, 1998.
- BRITTON, G. UV/Visible Spectroscopy. In: "Carotenoids", vol 1B, G. Britton, S. Liaaen-Jensen and H. Pfander (Eds.). Birkhauser, Basel. p. 13-62, 1995.

- BRITTON, G. Carotenoids. Handbook. G. Britton, S. Liaaen-Jensen and H. Pfander (Eds.). Birkhauser, Basel., 2004.
- BUTKOVIC, V.; KLASINC, L.; BORS, W. Kinetic study of flavonoid reactions with stable radicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 2816-2820, 2004.
- CÂMARA, F.L.A. Mandioquinha salsa: grande potencial com novas técnicas. *Agropecuária Catarinense*, 6:25-27, 1993.
- CHOI, C. W.; KIM, S. C.; HWANG, S. S.; CHOI, B. K.; AHN, H. J.; LEE, M. Y.; PARK, S. H.; KIM, S. K. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Science*, 163: 1161-1168, 2002.
- CHU, Y.F.; SUN, J.; WU, X.Z.; LIU, R.H. Antioxidant and anti proliferative activities of common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6910-6916, 2002.
- CHUN, O.K.; KIM, D.; NANCY, S.; SCHROEDER, D.; HAN, J. T.; LEE, C. Y. Daily consumption of phenolics and total antioxidant capacity from fruit and vegetables in the American diet. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 1715-1724, 2005.
- CONN, P.F.; SCHALCH, W.; TRUSCOU, T.G. The singlet oxygen and carotenoid interaction. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 11: 41-47, 1991.
- DÁBROSCA, B.; PACIFICO, S.; CEFARELLI, G.; MASTELLONE, C.; FIORENTINO, A. 'Limoncella' apple, an Italian apple cultivar: Phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 104 : 1333-1337, 2007.
- DE BEER, D.; JUBERT, E.; WENTZEL, C.A.; GELDERBLOM, C.A.; MANLEY, M. Antioxidant activity of South African red and white cultivar wines: free radical scavenging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 902-909, 2003.
- DEUTSCH, J. *Journal of Chromatography A*, 881: 299-307, 2000.
- DEWANTO, V.; WU, X.; ADOM, K.K.; LIU, R.H. Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3010-3014, 2002.
- DAVEY M. W.; VAN MONTAGU, M.; INZE D.; SANMARTIN, M.; KANELIS, A.; SMIRNOFF, N.; BENZIE, I. J. J.; STRAIN, J. J.; FAVELL, D.; FLETCHER, J. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and

- effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 825-860, 2000.
- DONOVAN, J.L.; MEYER, A.S.; WATERHOUSE, A.L. Phenolic composition and antioxidant activity of prunes and prune juice (*Prunus domestica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46:1247-1252, 2003.
- ENGLBERGER, L.; WILLS, R.B.H.; BLADES, B.; DUFFICY, L.; DANIELLS, J.X.; COYNE, T. Carotenoid content and flesh color of selected banana cultivars growing in Australia. *Food and Nutrition Bulletin*, 27: 281-291, 2006.
- ESCARPA, A.; GONZALEZ, M.C. Evaluation of High-Performance Liquid Chromatography for Determination of Phenolic Compounds in Pear Horticultural Cultivars. *Chromatographia*, 51: 37-46, 2000
- FERREIRA, F.C.; NOGUEIRA, A.R.A.; SOUZA, G.B.; BATISTA, L.A.P. Effect of drying method and length of storage on tannin and total phenol concentration in Pigeon peas seeds. *Food Chemistry*, 86: 17-23, 2004.
- FOTI, M. C.; DAQUINO, C.; GERACI, C. Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH radical in alcoholic solutions. *Journal Organic Chemistry*, 69: 2309-2314, 2004.
- FRANCIS, F.J. Analysis of Anthocyanins. In: *Anthocyanins as food colorants*. 1982.
- FRANCISCO, V.L.F.; BAPTISTELLA, C.S.L.; AMARO, A.A. A cultura da goiaba em Sao Paulo, publicado em 16/03/2005 em [www.iea.sp.gov.br](http://www.iea.sp.gov.br)
- FRANKEL, E.N.; BOSANEK, C.A.; MEYER, A.S.; SILLIMAN, K.; KIRK, L.L. Commercial grape juices inhibit the in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 834-838, 1998.
- FURUSAWA, N. Rapid high-performance liquid chromatographic identification/quantification of total vitamin C in fruit drinks. *Food Control*, 12: 27-29, 2001.
- GALGANO, F.; FAVATI, F.; LAPELOSA, L.; ALBANESE, D.; MONTANARI, L. Effect of chilling on the vitamin C content of fennel during storage. *Journal of Food Science*, 14: 167-173, 2002.
- GARCÍA-ALONSO, M.; DE PASCUAL-TERESA, S.; SANTO-BUELGA, C.; RIVAS-GONZALO, J.C. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry* 84: 13-8, 2004.

- GARDNER, P.T., WHITE, T.A.C., MCPHAIL, D.B., DUTHIE, G.G. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food Chemistry*, 68: 471-474, 2000.
- GAZZANI, G.; PAPETTI, G.; MASSOLINI, G.; DAGLIA, M. Anti and prooxidant activity of water soluble components of some common diet vegetables and the effect of thermal treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4118-4122, 1998.
- GIL, M.; FERRERES, F.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A. Effect of postharvest storage and processing on the antioxidant constituents (flavonoids and vitamin C) of fresh cut spinach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 2213-2217, 1999.
- GODOY, H. T. ; Rodriguez-Amaya, D.B. . Buriti (*Mauritia vinifera* Mart.), uma fonte riquíssima de pró-vitamina A.. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, 38: 109-120, 1995.
- GODOY, H.T.; RODRIGUEZ-AMAYA. Occurrence of *cis* isomers of provitamins A in Brazilian Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 3081-3086, 1998.
- GOLUBITSKII, C.B.; BUDKO, W.V.; BASOVA, E.M.; KOSTARNOI, A.V.; IVANOV, V.M. Stability of ascorbic acid in aqueous and aqueous-organic solutions for quantitative determination. *Journal of Analytical Chemistry*, 62: 742-747, 2007.
- GORESTEIN, S.; ZEMSER, M.; HARUENKIT, R.; CHUTHAKORN, R.; GRAUER, F.; MARTIN-BELLOSO, O.; TRAKHTENBERG, S. Comparative content of total polyphenols and dietary fiber in tropical fruits and persimmon. *Journal of Nutrition and Biochemistry*, 10: 367-371, 1999.
- GROSS, J. Pigments in Fruits. *Food Science and Technology, A series of Monographs*, 1987
- HALLIWELL, B. The characterization of antioxidants. *Food Chemistry Toxicological*, 33: 601-617, 1995.
- HAMANO, P. S. ; MERCADANTE, A. Z. . Composition of carotenoids from commercial products of caja. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14: 335-343, 2001.
- HAMAUZU, Y.; YASUI, H.; INNO, T.; KUME, C.; OMANYUDA, M. Phenolic profile, Antioxidant Property, and Anti-influenza Viral Activity of Chinese Quince (*Pseudocydonia sinensis* Schneid.), Quince (*Cydonia oblonga* Mill.), and Apple

- (*Malus domestica* Mill.) Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 928-934, 2005.
- HARBONE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. *Pytochemistry*, 52: 481-504, 2000.
- HASSIMOTTO, N.M.A.; GENOVESE, M.I.; LOJOLO, F.M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 2928-2935, 2005.
- HATZIDIMITRIOU, E.; NENADIS, N.; TSIMIDOU, M.Z. Changes in the catechin and epicatechin content of grape seeds on storage under different water activity. *Food Chemistry*, 105: 1504-1511, 2007.
- HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D.J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 572-584, 2002.
- HEINONEN, M.; OLLILAINEN, V.; LINKOLA, K. E.; VARO, P.T.; KOIVISTOINEN, E.P. Carotenoids in Finnish Foods: Vegetables, Fruits and Berries. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 37: 655-659, 1989.
- HEINONEN, I.M.; LEHTONEN, P.J.; HOPIA, A. Antioxidant activity of Berry and fruits wines and liquors. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46: 4107-4112, 1998.
- HERNANDEZ, Y.; LOBO, M.G.; GONZALEZ, M. Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods. *Food Chemistry*, 96: 654-664, 2006.
- HERTOG, M.G.L.; SWEETNAM, P.M.; FEHILY, A.M.; ELWOOD, P.C.; KROMHOUT, D. Antioxidant flavonols and ischaemic heart disease in a Welsh population of men: The Caerphilly study. *American Journal Clinical Nutrition*, 65: 1489-1494, 1997.
- HOWARD, L.A.; WONG, A.D.; PERRY, A.K.; KLEIN, B.P.  $\beta$ -caroteno and ascorbic acid retention in fresh and processed vegetables. *Journal of Food Science*, 64: 929-936, 1999.
- IHA, M.H.; CASTRO, S.C.; RIBEIRO, E.G.A.; ANDRADE, R.O.; SABINO, M. Avaliação físico-química e microbiológica de suco e néctares de maçã comercializados em cidades do Estado de São Paulo. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 65: 27-31, 2006.

- IOKU, K.; AOYAMA, Y.; TOKUNO, A.; TERAQ, J.; NAKATANI, N.; TAKEI, Y. Various cooking methods and the flavonoid content in onion. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 47: 78-83, 2001.
- ISHIGE, K.; SCHUBERT, D.; SAGARA, Y. Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms. *Free Radical Biology and Medicine*, 30: 433-446, 2001.
- JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; JIMÉNEZ-JIMÉNEZ, I.; SANCHEZ-MORENO, C.; SAURACALIXTO, F. Evaluation of free radical scavenging of dietary carotenoids by the stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Journal of Science and Food Agriculture* 80: 1686-1690, 2000.
- KADAM, U.S.; GHOSH, S.B.; DE, S.; SUPRASANNA, P.; DEVASAGAYAM, F.P.A.; Antioxidant activity of sugar cane juice and its protective role against induced DNA damage. *Food Chemistry*, 106: 1154-1160, 2008.
- KALT, W.; FORNEY, C.F.; MARTIN, A.; PRIOR, R.L. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4638–4644, 1999.
- KALT, W. Effects of production and processing factors on major fruit and vegetables antioxidants. *Journal of Food Science*, 70: 11-19, 2005.
- KATSUBE, N.; IWASHITA, K.; TSUSHIDA, T.; YAMAKI, K.; KOBORI, M. Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 68-75, 2003.
- KHACHIK, F.; GOLI, M.B.; REECHER, G.R.; HOLDEN, J.; LUSBY, R.W.; TENORIO, M.D.; BARRERA, M.R. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 390-398, 1992.
- KIM, D.O.; JEONG, S.W.; LEE, C.Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81: 321-326, 2003.
- KUSKOSKI, E.M.; AGUSTIN, A.A.; MORALES, M.T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. *Ciência Rural*, 36: 1283-1287, 2006.
- KRINSKY, N. I. The biological properties of carotenoids. *Pure Applied Chemistry*, 66: 1003-1010, 1994.
- LEA, A.G.H.; TIMBERLAKE, C.F. Phenolics of ciders- effect of processing conditions. *Journal of Food Science and Agriculture*, 29: 484-492, 1978.

- LEONEL, M.; CEREDA, M.P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 22: 65-69, 2002.
- LEONG, L. P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*, 76: 69-75, 2002.
- LESSIN, W.J.; CATIGANI, G.L.; SCHWARTZ, S.J. Quantification of *cis-trans* Isomers of Provitamin A Carotenoids in Fresh and Processed Fruits and Vegetables. *Journal of Food Science and Agriculture*, 45: 3728-3732, 1997.
- LIAZID, A.; PALMA, M.; BRIGUI, J.; BARROSO, C.G. Investigation on phenolic compounds stability during microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography*, 1140: 29-34, 2007.
- LUXIMON-RAMMA, A.; BAHORUN, T.; CROZIER, A. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. *Journal Science Food Agriculture*, 83: 496-502, 2003.
- MAJCHRZAK, D.; ULRIKE, F.; ELMADFA, I. Carotenoids profile and retinol content of baby food products. *European Food Research Technology*, 210: 407-413, 2000.
- MAYEAUX, M.; XU, Z.; KING, J.M.; PRINYAWIWATKUL, W. Effects of cooking conditions on the lycopene content in tomatoes. *Journal of Food Science*, 71: 461-464, 2006.
- MASRIZAL, M.A.; GIRAUD, D.W.; DRISKELL, J.A. Retention Of Vitamin C, Iron, And  $\alpha$  Carotene In Vegetables Prepared Using Different Cooking Methods. *Journal of Food Quality*, 20: 403-418, 1997.
- MELO, E.A.; LIMA, V.L.G.; MACIEL, M.I.S. Polyphenol, ascorbic acid and total carotenoid contents in common fruits and vegetables. *Brazilian Journal of Food Technology*, 9: 89-94, 2006.
- MERCADANTE, A. Z. ; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. . Carotenoid composition and vitamin A value of some native Brazilian green leafy vegetables.. *International Journal of Food Science and Technology*, London, 25: 213-219, 1990.
- MERCADANTE, A.Z.; RODRIGUEZAMAYA, D.B.; BRITTON, G. HPLC and mass spectrometric analysis of carotenoids from mango. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 120-123, 1997.
- MERCADANTE, A. Z. ; STECK, A. ; PFANDER, H. . Three minor carotenoids from annatto (*Bixa orellana*) seeds. *Phytochemistry*, 52: 135-139, 1999.

- MERCADANTE, A. Z. ; ROSSO, V. V. DE . Identification and quantification of carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 5062-5072, 2007.
- MIEAN, K.H.; MOHAMED, S. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin and apigenin) content of edible tropical plants. *Journal of Agricultural and Food*, 49: 3106-3112, 2001.
- MILLER, N. J.; SAMPSON, J.; CANDEIAS, L. P.; BRAMLEY, P. M.; RICE-EVANS, C. A. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters*, 384: 240-242, 1996.
- NESS, A.R.; POWLES, J.W. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. *International Journal of Epidemiology*, 26: 1-13, 1997.
- NOGUEIRA, A.; BISCAIA, I.; WIECHETECK, F.V.B.; DENARDI3, F.;WOSIACKI, G. Avaliação físico-química e tecnológica do suco de sete cultivares de macieira. *Ciências Agrárias*, 27: 89-98, 2006.
- NGUYEN, M. L.; SCHWARTZ, S. J. Lycopene stability during food processing. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 218: 101-105, 1998.
- NIIZU, P. ; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. . A melancia como fonte de licopeno. *Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo*, 62: 195-200, 2003.
- NIIZU, P. ; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. . New data on the carotenoid composition of raw salad vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18: 739-749, 2005.
- NINFALI, P.; BACCHIOCCA, M. Polyphenols and Antioxidant Capacity of Vegetables under Fresh and Frozen Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 2222-2226, 2003.
- NUNN, M.D.; GIRAUD, D.X.; PARKHURST, A.M.; HAMOUZ, F.L.; DRISKELL, J.A. Effects of cooking methods on sensory qualities and carotenoid retention in selected vegetables. *Journal of Food Quality*, 29: 445-457, 2006.
- OLSON, J.A. Carotenoids and human health. *Archives Latin American Nutrition*, 49: 7S-11S, 1999.
- OLSSON, M.E.; GUSTAVSSON, K-E.; ANDERSSON, S.; NILSSON, A.; DUAN, R-D. Inhibition of câncer cell proliferation in vitro by fruit and Berry extracts and correlations with antioxidant levels. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52: 7264-7272, 2004.

- PEREIRA, A.S. O valor nutritivo da mandioquinha salsa. In: Encontro Nacional de mandioquinha salsa. Informe Agropecuário, 19:11-12, 1997.
- PIGA, A.; CARO, A.D.; CORDA, G. From plums to prunes: Influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3675-3681, 2003.
- PINELO, M.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26: 1231-1237, 1999.
- PORCU, O. ; Rodriguez-Amaya, D.B. . Variation in the carotenoid composition of acerola and its processed products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 1916-1920, 2006.
- PORTZ, A.; MARTINS, C.A.C.; LIMA, E. Crescimento e produção de raízes comercializáveis de mandioquinha salsa em resposta à aplicação de nutrientes. *Horticultura Brasileira*, 21: 482-484.
- PORTZ, A.; MARTINS, C.A.C.; LIMA, E.; ZONTA, E. Teores e acúmulo de nutrientes durante o ciclo da mandioquinha salsa em função da aplicação de nitrogênio, fósforo e potássio. *Horticultura Brasileira*, 24
- PRIOR, R.L.; WU, X.; SCHAICH, K.; Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 53: 4290-4302, 2005.
- RAMIREZ-TORTOZA, C.; ANDERESSEN, O.M.; GARDNER, P.T.; MORRICE, P.C.; WOOD, S.G.; DUTHIE, S.J.; COLLINS, A.R. Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E depleted rats. *Free Radical Biology Medicine*, 46: 1033-1037, 2001.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Medicine*, 26: 1231-1237, 1999.
- REDDIVARI, L.; HALE, A.L.; MILLER, J.C. Determination of phenolic content, composition and their contribution to antioxidant activity in specialty potato selections. *American Journal of Potato Research*, 84: 275-282, 2007.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J. Structure antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology Medicine*, 20:933-956, 1996.

- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science*, 2: 152-159, 1997.
- ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92: 235–254, 2005.
- ROSSO, V. V. DE ; MERCADANTE, A. Z. . Carotenoid composition of two Brazilian genotypes of acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) from two harvests. *Food Research International*, 38: 1073-1077, 2005.
- SAHIDI, F.; WANASUNADRA, P.K.J. Phenolics antioxidants. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 32: 67-103, 1992.
- SANCHEZ-MORENO, C.; Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological system. *Food Science Technology International*, 8:121-127, 2002.
- SANJINEZ-ARGANDONA, E.J.; CUNHA, R.L.; MENEGALLI, F.C.; HUBINGER, M.D. Evaluation of total carotenoids and ascorbic acid in osmotic pretreated guavas during convective drying. *Italian Journal of Food Science*, 17 : 305-314, 2005.
- SANCHEZ, A.C.G.; GIL-IZQUIERDO, A.; GIL, M.I. Comparative study of six pear cultivars in terms of their Phenolic and vitamin C contents and antioxidant capacity. *Journal of the Science and Food Agriculture*, 83: 995-1003, 2003.
- SATO, G, S.; ASSUMPÇÃO, R. Cultivo da pêra no Brasil e no Estado de São Paulo. *Informações Econômicas*, 33: 66-69, 2003.
- SERPEN, A.; GÖKMEN, V. Reversible degradation kinetics of ascorbic acid under reducing and oxidizing conditions. *Food Chemistry*, 104: 721-725, 2007.
- SETIAWAN, B.; SULAEMAN, A.; GIRAUD, D.W.; DRISKELL, J.A. Carotenoid content of selected Indonesian fruits. *Journal of Food composition and Analysis*, 14: 169-176, 2001.
- SCHIEBER, A.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. By-products of plant food processing as a source of functional compounds-recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, 12: 401-413, 2001.
- SENTANIN, M.A.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. . Teores de carotenóides em mamão e pêsego determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27: 787-792, 2007.
- SHI, J.; KAKUDA, Y. Bioavailability and synergistic effects of tea catechins as antioxidant in human diet. *ACS Symposium Series*, 925: 254-264, 2006.

- SILVA, S. de O.; SHEPHERD, K.; ALVES, E. J.; DANTAS, J. L. L. Cultivares de banana. In: ALVES, E. J. A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1999. p.85-105.
- SIMPSON, K.L. Relative value of carotenoids as precursors of vitamin A. *Proceeding of the Nutrition Society*, 42: 7-17,1983.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M.J.R. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymology*, 830: 152-178, 1999.
- SOMEYA, S.; YOSHIKI, S.; OKUBO, K. Antioxidant compounds from bananas (*Musa Cavendish*). *Food Chemistry*, 79: 351-354, 2002.
- SPANOS, G.A.; WROLSTAD, R.E. Influence of variety, maturity, processing, and storage on the phenolic composition of pear juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38: 817–824,1990.
- STACEWICZ-SAPUNTZAKIS M.; BOWEN, PE, HUSSAIN EA, DAMAYANTI-WOOD BI, FARNSWORTH NR. Chemical composition and potential health effects of prunes: A functional food?. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 41: 251-286 2001.
- SUN, J.; CHU, Y.; WU, X.; LIU, R. H. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50: 7449-7454, 2002.
- THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; HAWKINS-BYRNE, D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 669-675,2006.
- TOMAS-BARBERAN, F.A.; GILMI, C.R.; EMIN,P.; WATERHOUSE, A.L.; HESS-PIERCE, B.; KADER, A.A.HPLC–DAD–ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49:4748-4760, 2001.
- VAN DEN BERG, H.; FAULKS, R.; GRANADO, H. F.; HIRSCHBERG, J.; OLMEDILLA, B.; SANDMANN, G.; SOUTHON, S.; STAHL, W. The potential for the improvement of carotenoid levels in foods and the likely systemic effects. *Journal of Science and Food Agriculture*, 80: 880-912, 2000.

- VILELA, P.S.; CASTRO, C.W.; AVELLAR, S.O.C. Análise da oferta e da demanda de frutas selecionadas no Brasil para o decênio 2006/2015. Acessado em [www.faemg.org.br](http://www.faemg.org.br)
- VILLANO D.; FERNANDEZ-PACHON M.S.; MOYA M.L.; TRONCOSO A.M.; GARCIA-PARRILLA M.C. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71: 230-235, 2007.
- VOLIOGLU, Y.S.; MAZZA, G.; GAO, L.; OOMAH, B.D. Antioxidant activity and total phenolics in select fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4113-4117, 1998.
- WANG, J.; MAZZA, G. Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor alpha in LPS/IFN-gamma-activated RAW 264.7 macrophages. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 50: 4183-4189, 2002.
- WILBERG V.C.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. HPLC Quantitation of Major Carotenoids of Fresh And Processed Guava, Mango And Papaya. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 28: 474-480, 1995.
- WOLFE, K.; WU, X.; LIU, R.H. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 609-612, 2003.
- WOLLGAST, J.; ANKLAN,E. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? *Food Research International*, 33: 449-459, 2000.
- YUAN, J.P.; CHEN, F. Simultaneous separation and determination of sugars, ascorbic acid and furanic compounds by HPLC—dual detection. *Food Chemistry*, 64: 423-427, 1999.
- ZANATTA, C. F. ; MERCADANTE, A. Z. . Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*). *Food Chemistry*, 101: 1543-1549, 2007.
- ZHANG, D.; HAMAUZU, Y. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry*, 88: 503-509, 2004.
- ZIEGLER, R.G. Vegetables, fruits and carotenoids and the risk of cancer. *American Journal Clinical Nutrition*, 53: 2515-2595, 1991.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64: 555-559, 1999.

## 10. ANEXOS

### Anexo 1: Lista de Sais Minerais e Compostos Vitamínicos

#### 1. Fontes de Cálcio (Ca)

1.1 Carbonato de cálcio

1.2 Cloreto de cálcio

1.3 Citrato de cálcio

1.4 Gluconato de cálcio

1.5 Glicerofosfato de cálcio

1.6 Lactato de cálcio

1.7 Fosfato de cálcio monobásico

1.8 Fosfato de cálcio dibásico

1.9 Fosfato de cálcio tribásico

1.10 Óxido de cálcio

1.11 Sulfato de cálcio

#### 2. Fontes de Fósforo (P)

2.1 Fosfato de cálcio monobásico

2.2 Fosfato de cálcio dibásico

2.3 Fosfato de cálcio tribásico

2.4 Fosfato de magnésio dibásico

2.5 Fosfato de magnésio tribásico

2.6 Fosfato de potássio monobásico

2.7 Fosfato de potássio dibásico

2.8 Fosfato de sódio dibásico

2.9 Ácido fosfórico

#### 3. Fontes de Cloreto (Cl)

- 3.1 Cloreto de cálcio
- 3.2 Cloreto de colina
- 3.3 Cloreto de magnésio
- 3.4 Cloreto de manganês
- 3.5 Cloreto de potássio
- 3.6 Cloreto de sódio
- 3.7 Cloreto de sódio, iodizado
- 3.8 Ácido hidrolórico / clorídrico
- 4. Fontes de Ferro (Fe)
  - 4.1 Carbonato ferroso, estabilizado
  - 4.2 Citrato ferroso
  - 4.3 Fumarato ferroso
  - 4.4 Gluconato ferroso
  - 4.5 Lactato ferroso
  - 4.6 Succinato ferroso
  - 4.7 Sulfato ferroso
  - 4.8 Citrato férrico amônico
  - 4.9 Citrato férrico
  - 4.10 Gluconato férrico
  - 4.11 Pirofosfato férrico sódico
  - 4.12 Ferro com hidrogênio reduzido
  - 4.13 Ferro eletrolítico
  - 4.14 Ferro carbonil
  - 4.15 Pirofosfato férrico
- 5. Fontes de Magnésio (Mg)

- 5.1 Carbonato de magnésio
- 5.2 Cloreto de magnésio
- 5.3 Óxido de magnésio
- 5.4 Fosfato de magnésio dibásico
- 5.5 Fosfato de magnésio tribásico
- 5.6 Sulfato de magnésio
- 6. Fontes de Sódio (Na)
  - 6.1 Bicarbonato de sódio
  - 6.2 Carbonato de sódio
  - 6.3 Cloreto de sódio
  - 6.4 Cloreto de sódio, iodizado
  - 6.5 Citrato de sódio
  - 6.6 Gluconato de sódio
  - 6.7 Lactato de sódio
  - 6.8 Fosfato de sódio monobásico
  - 6.9 Fosfato de sódio dibásico
  - 6.10 Fosfato de sódio tribásico
  - 6.11 Sulfato de sódio
  - 6.12 Tartarato de sódio
- 7. Fontes de Potássio (K)
  - 7.1 Bicarbonato de potássio
  - 7.2 Carbonato de potássio
  - 7.3 Cloreto de potássio
  - 7.4 Citrato de potássio
  - 7.5 Glicerofosfato de potássio

- 7.6 Gluconato de potássio
- 7.7 Fosfato de potássio monobásico
- 7.8 Fosfato de potássio dibásico

## 8. Fontes de Cobre (Cu)

- 8.1 Gluconato de cobre
- 8.2 Carbonato cúprico
- 8.3 Citrato cúprico
- 8.4 Sulfato cúprico

## 9. Fontes de Iodo (I)

- 9.1 Iodeto de potássio
- 9.2 Iodeto de sódio
- 9.3 Iodato de potássio

## 10. Fontes de Zinco (Zn)

- 10.1 Acetato de Zinco
- 10.2 Cloreto de Zinco
- 10.3 Óxido de Zinco
- 10.4 Sulfato de Zinco

## 11. Fontes de Manganês (Mn)

- 11.1 Carbonato de manganês
- 11.2 Cloreto de manganês
- 11.3 Citrato de manganês
- 11.4 Sulfato de manganês

## Formas de vitaminas

### 1. Vitamina A

Acetato de retinil

Palmitato de retinil

Propionato de retinil

## 2. Provitamina A

Beta caroteno

## 3. Vitamina D

### 3.1. Vitamina D2

Ergocalciferol

### 3.2. Vitamina D3

Colecalciferol

Colecalciferol-colesterol

## 4. Vitamina E

D-alfa-tocoferol

DL-alfa-tocoferol

Acetato de d-alfa-tocoferil

Acetato de dl-alfa-tocoferil

Succinato de d-alfa-tocoferil

Succinato de dl-alfa-tocoferil

## 5. Tiamina (Vitamina B1)

Cloridrato de tiamina

Mononitrato de tiamina

## 6. Riboflavina (vitamina B2)

Riboflavina

Riboflavina 5'-fosfato de sódio

## 7. Niacina

Nicotinamida

Ácido nicotínico

8. Vitamina B6

Cloridrato de piridoxina

9. Biotina (Vitamina H)

d-Biotina

10. Folacina

Ácido fólico

11. Ácido pantotênico

Pantotenato de cálcio

Pantenol

12. Vitamina B12

Cianocobalamina

Hidroxocobalamina

13. Vitamina K1

Fitomenadiona ou fitonadiona

14. Vitamina C

Ácido ascórbico

Ascorbato de sódio

Ascorbato de cálcio

Palmitato de ascorbila

15. Colina

Bitartarato de colina

Cloreto de colina

16. Inositol

Formas especiais de vitaminas

Por razões de estabilidade e facilidade de manuseio, algumas vitaminas precisam ser convertidas em preparações adequadas, como por exemplo: soluções lipossolúveis, produtos recobertos por gelatinas, preparações gordurosas. Para este propósito, as seguintes matérias primas comestíveis e aditivos permitidos para as respectivas categorias podem ser utilizados:

Matérias primas /Aditivos

Limite máximo no alimento pronto para consumo

Dextrina

100 mg/g

Amidos modificados

100 mg/kg

Goma arábica (acácia)

100 mg/kg

Dióxido de silício

10 mg/kg

FONTE: Codex Alimentarius vol. 4 - 1994 CAC/GL 10-1979