



**Universidade Federal do Ceará**  
**Centro de Ciências Agrárias**  
**Departamento de Tecnologia de Alimentos**  
**Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos**

**LARISSA MORAIS RIBEIRO DA SILVA**

**COMPOSTOS BIOATIVOS EM POLPAS E SUBPRODUTOS DE FRUTAS  
TROPICAIS: QUANTIFICAÇÃO, ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E  
ENCAPSULAMENTO**

**Fortaleza**

**2014**

**LARISSA MORAIS RIBEIRO DA SILVA**

**COMPOSTOS BIOATIVOS EM POLPAS E SUBPRODUTOS DE FRUTAS  
TROPICAIS: QUANTIFICAÇÃO, ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E  
ENCAPSULAMENTO**

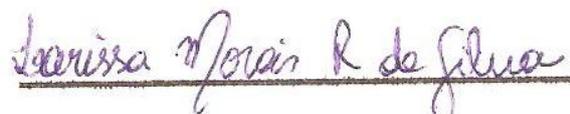
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Dra. Evânia Altina Teixeira de Figueiredo

**FORTALEZA**

**2014**

A citação de qualquer trecho dessa tese é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.



Larissa Morais Ribeiro da Silva

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

---

S581c Silva, Larissa Morais Ribeiro da.  
Compostos bioativos em polpas e subprodutos de frutas tropicais: quantificação, atividade antimicrobiana e encapsulamento / Larissa Morais Ribeiro da Silva. – 2014.  
109 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2014.  
Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.  
Orientação: Profa. Dra. Evania Altina Teixeira de Figueiredo.

1. Ação antimicrobiana. 2. Compostos fenólicos. 3. Frutas tropicais. 4. Polpa de frutas. I. Título.

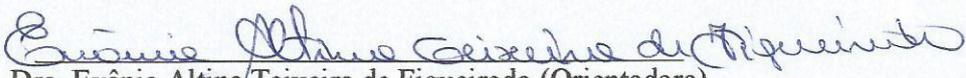
**LARISSA MORAIS RIBEIRO DA SILVA**

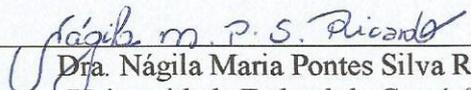
**COMPOSTOS BIOATIVOS EM POLPAS E SUBPRODUTOS DE FRUTAS  
TROPICAIS: QUANTIFICAÇÃO, ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E  
ENCAPSULAMENTO**

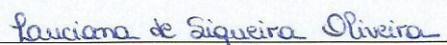
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

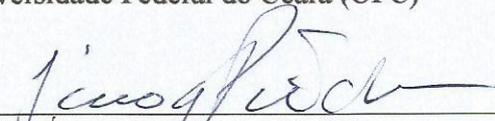
Aprovado em: 31/10/2014

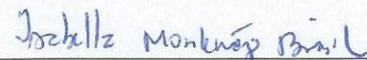
**BANCA EXAMINADORA**

  
Dra. Evânia Altina Teixeira de Figueiredo (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

  
Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

  
Dra. Luciana de Siqueira Oliveira  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

  
Dr. Ícaro Gusmão Pinto Vieira  
PADETEC (UFC)

  
Dra. Isabella Montenegro Brasil  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

FORTALEZA

2014

Aos meus pais Ana Estelita e José Eurico.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida e por conceder que meus sonhos se tornem realidade.

À Universidade Federal do Ceará, por intermédio do programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realização deste doutorado.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos, através do Programa Institucional de Bolsas de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE).

À minha orientadora, professora Evânia Altina Teixeira de Figueiredo, meu sincero agradecimento, pela amizade, paciência, por sempre estar disposta a me ajudar e me acolher como filha, desde o segundo semestre do curso de graduação. Obrigada por ter acreditado e confiado em mim.

À professora Carmen Luiza Gomes, por ter me acolhido em seu laboratório e pelo apoio, amizade, sugestões e essencial colaboração nos artigos.

Ao professor Geraldo Arraes Maia, meu eterno orientador e amigo, pela idéia inicial que gerou esta pesquisa.

Aos professores Raimundo Wilane e Paulo Henrique, por todo o apoio.

À professora Nágila Ricardo, pela amizade, por ter aceitado o convite de me auxiliar neste estudo e ter me acolhido com muito carinho no Laboratório de Polímeros e Inovações de Materiais, ter concedido o uso do CLAE, tirado minhas dúvidas e incentivado meu trabalho.

Ao prof. Ícaro Gusmão, por ter me acolhido em seu laboratório no Parque de Desenvolvimento Tecnológico, obrigada pelas valiosas sugestões quanto às análises utilizando CLAE.

À professora Isabella Montenegro Brasil, por me incentivar na realização do doutorado sanduíche e toda a participação nesta pesquisa.

Às Dras. Leônia e Luciana, sempre presentes no laboratório, obrigada pelo braço amigo e por sempre estarem dispostas a ajudar!

Aos membros da banca examinadora, em especial ao amigo Paulo Henrique, pela atenção e valiosas contribuições no sentido de melhorar este trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Frutas e Hortaliças, Sr. Omar e Sra. Hilda.

Aos amigos do Laboratório de Frutas e Hortaliças, da Universidade Federal do Ceará: Alessandra, Alexsandra, Aline Gurgel, Ana Cristina, Ana Valquíria, Bruno, Claisa,

Denise, Giovana, Jorgiane, Karine, Karol, Leilanne, Leônia, Luana, Mayla, Nara, Natália Sucupira, Natália Kellen, Patrícia, Rafaela, Samira, Samuel, Virlane e Winne. Agradeço a amizade e momentos de descontração.

Aos colegas do laboratório do grupo de Engenharia de nanoescala em alimentos, da Texas A&M University: Bruna Nicácio, Emerson, Feifei, Jorge, Juliane, Laura, Marina, Necla, Neeraj e Paulo.

Aos colegas Rafael Almeida e Gledson Vieira, pela valiosa ajuda nas análises de CLAE.

Aos amigos que conheci em College Station/TX, que foram minha família durante esse período, em especial Ana Virgínia, Bruna Nicácio, Bruna Alves, Emerson, Juliane, Rafael e Odair.

Ao Paulo Mendes, secretário da Coordenação do Programa de Pós-Graduação.

Aos meus pais, Ana Estelita e Eurico, por sempre estarem ao meu lado, pelo amor incondicional, sempre dedicados e não medindo esforços para me ver feliz, incentivando sempre minha vida acadêmica, sendo o meu exemplo de humildade, dedicação e alcance. Obrigada por tudo, amo muito vocês!

À minha irmã Carolina, por mais que uma irmã, ser minha melhor amiga, meu grande agradecimento por sempre estar presente, obrigada por tudo, te amo muito!

À toda minha família, por todo o apoio e carinho.

À vovó Alaíde, que tanto amo e que por tantas vezes compreendeu minha ausência durante o decorrer deste trabalho.

À minha querida tia Haydée, por sempre ter me acolhido como filha, sempre ter me incentivado aos estudos, desde pequena, todos os dias, muito obrigada pelo carinho.

Ao querido Júlio Henrique, por todo o amor, paciência e fundamental apoio às minhas atividades acadêmicas.

Às minhas grandes amigas Priscila Rodrigues e Aninha Cristininha, pela torcida pelo meu sucesso profissional.

Aos novos, mas não menos importantes amigos, por todo o apoio!

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a elaboração deste trabalho, e que de alguma forma eu não tenha citado.

## RESUMO

Atualmente há uma demanda por antimicrobianos naturais para uso na indústria de alimentos e, neste sentido, as frutas tropicais apresentam, um potencial promissor, porém ainda pouco investigado. Este trabalho teve como objetivo identificar e quantificar resveratrol, quercetina e cumarina em polpas e subprodutos de frutas tropicais, elaborar nanopartículas com os extratos que apresentaram maiores teores destes compostos e avaliar a atividade antimicrobiana contra os microrganismos *Listeria* sp. e *E. coli* K12. Os subprodutos de pitanga roxa e manga, assim como as polpas de cajá, acerola e pitanga roxa apresentaram maiores teores de quercetina, representando fontes desta substância. Subprodutos de goiaba e pitanga apresentaram resveratrol em suas constituições, podendo ser considerados fontes deste composto. Para a cumarina, os subprodutos de maracujá, goiaba e pitanga, assim como a polpa de manga, podem ser considerados fontes naturais. Entre os materiais analisados, a polpa de acerola e os subprodutos do maracujá e da goiaba foram selecionados para posterior caracterização e nanoencapsulação. As nanopartículas sintetizadas utilizando ácido poli lactídeo co-glicolídeo (PLGA) 65:35 apresentaram maiores tamanhos de partícula (153,37 a 376,70 nm), quando comparadas às sintetizadas com PLGA 50:50 (136,53 a 369,25 nm). Todas as amostras apresentaram baixo índice de polidispersidade, correspondendo a heterogênea distribuição na emulsão analisada quanto ao tamanho das partículas obtidas. As nanopartículas sintetizadas com PLGA 65:35 apresentaram maior eficiência do encapsulamento (%EE), com exceção da amostra contendo acerola, a qual apresentou melhor EE% para PLGA 50:50. Em relação à análise de liberação, todas as amostras avaliadas apresentaram comportamento semelhante, obtendo liberação máxima do composto nos primeiros 30 minutos, apresentando liberação constante após esse período, durante 72 horas de análise. De uma maneira geral, as nanopartículas sintetizadas com PLGA 65:35 apresentaram menor concentração inibitória mínima para *E. coli* K12 e *L. monocytogenes* quando comparadas às nanopartículas sintetizadas com PLGA 50:50. A síntese de nanopartículas de PLGA utilizando extratos fenólicos de frutas, especialmente utilizando PLGA 65:35, pode apresentar importantes aplicações, como na indústria de alimentos, a conservação desses produtos, considerando seu efeito na inibição de microrganismos (*E. coli* K12 e *L. monocytogenes*). Além do efeito antimicrobiano, essas frutas apresentam diversos compostos com propriedades antioxidantes, que são responsáveis pela redução do risco de diversas doenças.

**Palavras-chave:** Atividade antimicrobiana. Compostos fenólicos. Nanoencapsulação. Frutas tropicais.

## ABSTRACT

Currently, there is a demand for natural antimicrobials for use in the food industry. Some tropical fruits have a promising potential, not investigated at the moment. This study aimed to identify and quantify resveratrol, quercetin and coumarin in pulps and byproducts of tropical fruits, develop nanoparticles with extracts that showed higher levels of these compounds and evaluate the antimicrobial activity against *Listeria* sp. and *E. coli* K12. The Surinam cherry and mango byproducts, as well as caja, acerola and Surinam cherry pulps showed higher levels of quercetin, representing sources of this substance. Guava and Surinam cherry byproducts showed resveratrol in their content, may be considered as sources of this compound. Similarly, for coumarin, passion fruit, guava and Surinam cherry byproducts, as well as mango pulp, can be considered natural sources. Among the analyzed material, the acerola pulp and passion fruit and guava byproducts were selected for further characterization and nanoencapsulation. Nanoparticles synthesized using co-glycolide (PLGA) 65:35 poly lactide showed higher particle sizes (from 153.37 to 376.70 nm), as compared with the synthesized PLGA 50:50 (136.53 to 369.25 nm). All samples showed low polydispersity index, corresponding to a heterogeneous distribution in the emulsion analyzed for particle size obtained. The nanoparticles synthesized with PLGA 65:35 showed higher encapsulation efficiency, with the exception of the sample containing acerola (best EE % for PLGA 50:50) and for the release analysis, all samples showed similar behavior, providing maximum release compound within 30 minutes, with constant release thereafter during 72 hours analysis. In general, nanoparticles synthesized with PLGA 65:35 had lower minimum inhibitory concentration for *E. coli* K12 and *L. monocytogenes* compared with the 50:50 PLGA nanoparticles synthesized. The synthesis of PLGA nanoparticles using extracts of fruits (especially using PLGA 65:35) may have important applications in the food industry to inhibit microorganisms (*E. coli* K12 and *L. monocytogenes*). Besides antimicrobial activity, these compounds show various fruits with antioxidant properties, which are responsible for reducing the risk of various diseases.

**Keywords :** Antimicrobial activity. Phenolic compounds. Nanoencapsulation. Tropical fruits .

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Pág.
Figura 1 - Estrutura molecular: a. trans-resveratrol, b. cis-resveratrol.....	30
Figura 2 - Estrutura molecular da quercetina.....	31
Figura 3 - Estrutura molecular da cumarina.....	33
Figura 4 - Representação estrutural do poli (D, L lactídeo-co-glicolídeo) (PLGA)...	42
Figura 5 Fluxograma de desenvolvimento da pesquisa.....	44
Figura 6 - Padrão de resveratrol (A), quercetina (B) e cumarina (C).....	64
Figura 7 - Cromatogramas referentes a identificação do pico de quercetina em extratos de polpas de frutas tropicais.....	65
Figura 8 - Cromatogramas referentes a identificação do pico da quercetina em extratos de subprodutos de frutas tropicais.....	66
Figura 9 - Cromatogramas referentes a identificação do pico de resveratrol em extratos de frutas tropicais.....	68
Figura 10 - Cromatogramas referentes a identificação do pico de cumarina em extratos de frutas tropicais.....	69
Figura 11 - Imagens de microscopia de transmissão eletrônica de nanopartículas de PLGA. A1) subproduto de maracujá -PLGA 50:50, (A2) subproduto de maracujá-PLGA 65:35, (B1) subproduto de goiaba-PLGA 50:50, (B2) subproduto de goiaba-PLGA 65:35, (C1) polpa de acerola-PLGA 50:50, e (C2) polpa de acerola-PLGA 65:35. Imagens foram obtidas com 36,000, 44,000, 71,000, e 89,000 tempos de magnificação.....	74
Figura 12 - Análise de liberação controlada das nanopartículas contendo extrato de polpa de acerola para PLGA 50:50 (A1) e PLGA 65:35 (A2). ....	76
Figura 13 - Análise de liberação controlada das nanopartículas contendo extrato de subproduto de maracujá para PLGA 50:50 (B1) e PLGA 65:35 (B2).....	77
Figura 14 - Análise de liberação controlada das nanopartículas contendo extrato de subproduto de goiaba para PLGA 50:50 (C1) e PLGA 65:35 (C2).....	78

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

UFC Universidade Federal do Ceará

PLGA D,L lactideo-co-glicolídeo

PA polpa de acerola

SM subproduto de maracujá

SG subproduto de goiaba

SP subproduto de pitanga

PM polpa de manga

## LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1 - Compostos fenólicos de subprodutos do processamento de frutas.....	21
Tabela 2 - Classes de compostos fenólicos.....	25
Tabela 3 - Teores de compostos fenólicos totais em frutas.....	26
Tabela 4 - Pesquisas realizadas em produtos vegetais relacionadas ao teor de resveratrol.....	29
Tabela 5 - Teores necessários para atuação farmacológica do resveratrol.....	30
Tabela 6 - Pesquisas realizadas em produtos vegetais relacionadas ao teor de quercetina.....	32
Tabela 7 - Teores necessários para atuação farmacológica da quercetina.....	32
Tabela 8 - Pesquisas realizadas em produtos vegetais relacionadas ao teor de cumarina.....	33
Tabela 9 - Teores necessários para atuação farmacológica da cumarina.....	34
Tabela 10 - Atividade antimicrobiana de compostos fenólicos.....	35
Tabela 11 - Efeito antimicrobiano de substâncias naturais.....	38
Tabela 12 - Efeito antimicrobiano de frutas e subprodutos de frutas.....	39
Tabela 13 - Programa de gradiente para a determinação e quantificação de quercetina em polpas e subprodutos de frutas tropicais.....	48
Tabela 14 - Teor de compostos fenólicos totais em polpas e subprodutos de frutas tropicais.....	58
Tabela 15 - Teor de $\beta$ -caroteno em polpas e subprodutos de frutas tropicais.....	60
Tabela 16 - Teores de licopeno em polpas e subprodutos de frutas tropicais.....	61
Tabela 17 - Teores de antocianinas em polpas e subprodutos de frutas tropicais.....	62
Tabela 18 - Teores de flavonóides amarelos em polpas e subprodutos de frutas tropicais.....	63
Tabela 19 - Validação dos métodos cromatográficos para as análises de resveratrol, quercetina e cumarina em polpas e subprodutos de frutas tropicais.....	64
Tabela 20 - Teores médios de quercetina de polpas e subprodutos de frutas tropicais.....	67
Tabela 21 - Teores de cumarina em polpas e subprodutos de frutas tropicais.....	70
Tabela 22 - Caracterização microbiológica de polpas e subprodutos de frutas tropicais utilizados na elaboração das nanopartículas.....	71

Tabela 23 -	Caracterização química de polpas e subprodutos de frutas tropicais utilizados para elaboração dos extratos aplicados na nanoencapsulação	72
Tabela 24 -	Tamanho de partícula e índice de polidispersidade de nanopartículas de extrato de acerola, maracujá e goiaba, sintetizadas com PLGA.....	73
Tabela 25 -	Eficiência do encapsulamento.....	75
Tabela 26 -	Constantes de taxa de liberação e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) de liberação extratos de frutas tropicais de PLGA 50:50 e PLGA 65:35 a 35°C, ajustado à equação 1.....	79
Tabela 27 -	Efeito antimicrobiano dos extratos de goiaba, maracujá e acerola para <i>E. coli</i> K12 e <i>L.monocytogenes</i> .....	80
Tabela 28 -	Efeito antimicrobiano das nanopartículas de PLGA sintetizadas com extratos de frutas tropicais contra <i>E. coli</i> K12.....	82
Tabela 29 -	Efeito antimicrobiano das nanopartículas de PLGA sintetizadas com extratos de frutas tropicais contra <i>L. monocytogenes</i> .....	82

## SUMÁRIO

	Pág.
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	18
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	19
<b>3.1 Comercialização, perdas pós-colheita e benefícios à saúde relacionados ao consumo de frutas</b> .....	19
3.2 Subprodutos de frutas.....	21
3.3 Compostos compostos fenólicos e ação antimicrobiana.....	22
<i>3.3.1 Teores de compostos fenólicos em vegetais</i> .....	25
<i>3.3.2 Compostos fenólicos: propriedades nos vegetais e atividade biológica</i> .....	27
<i>3.3.3 Resveratrol</i> .....	29
<i>3.3.4 Quercetina</i> .....	30
<i>3.3.5 Cumarina</i> .....	32
<i>3.3.6 Atividade antimicrobiana dos compostos fenólicos</i> .....	34
3.4 Microrganismos deteriorantes e patogênicos em frutos tropicais e antimicrobianos naturais.....	35
3.5 Nanotecnologia aplicada a alimentos.....	40
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	43
4.1 Matéria-prima.....	43
4.2 Reagentes e padrões.....	43
4.3 Planejamento experimental.....	44
<i>4.3.1 Etapa 1: Caracterização dos compostos bioativos de polpas e subprodutos de frutas tropicais</i> .....	44
<i>4.3.2 Etapa 2: Identificação e quantificação de quercetina, resveratrol e cumarina e polpas e subprodutos de frutas tropicais</i> .....	45
<i>4.3.3 Etapa 3: Caracterização química, físico-química e microbiológica de polpas e subprodutos de frutas tropicais</i> .....	45
<i>4.3.4 Etapa 4: Nanoencapsulação dos extratos de frutas contendo os compostos fenólicos resveratrol, quercetina e cumarina e caracterização das nanopartículas</i> .....	45
<i>4.3.5 Etapa 5: Análise da atividade antimicrobiana dos extratos de frutas tropicais puros, nanoencapsulados e padrões de resveratrol, quercetina e cumarina</i> .....	
4.4 Metodologias utilizadas.....	46
<i>4.4.1 Determinação dos teores de resveratrol, quercetina e cumarina</i> .....	46

4.4.1.1 Detecção e quantificação do resveratrol.....	46
4.4.1.2 Detecção e quantificação da quercetina.....	47
4.4.1.3 Detecção e quantificação da cumarina.....	48
<b>4.4.2 Determinações químicas e físico-químicas e quantificação dos compostos bioativos.....</b>	<b>49</b>
4.4.2.1 pH.....	49
4.4.2.2 Sólidos solúveis (SS).....	49
4.4.2.3 Acidez total titulável (ATT).....	49
4.4.2.4 Açúcares redutores (AR) e açúcares solúveis totais (AT).....	49
4.4.2.5 Teores equivalentes de $\beta$ -caroteno e licopeno.....	50
4.4.2.6 Polifenóis extraíveis totais.....	50
4.4.2.7 Antocianinas totais.....	51
<b>4.4.3 Metodologias para avaliações microbiológicas.....</b>	<b>52</b>
4.4.3.1 Coliformes a 35 °C e a 45 °C.....	52
4.4.3.2 Bactérias aeróbias mesófilas.....	52
4.4.3.3 Bolores e leveduras.....	52
4.4.3.4 <i>Salmonella</i> sp.....	53
4.4.3.5 <i>Listeria</i> sp.....	53
<b>4.4.4 Síntese e caracterização das nanopartículas de resveratrol, quercetina e cumarina.....</b>	<b>54</b>
<b>4.4.5 Avaliação da atividade antimicrobiana.....</b>	<b>56</b>
4.5 Análise estatística.....	57
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>58</b>
5.1 Etapa 1: Caracterização dos compostos bioativos de polpas e subprodutos de frutas tropicais.....	58
5.2 Etapa 2: Identificação e quantificação de quercetina, resveratrol e cumarina em polpas e subprodutos de frutas tropicais.....	64
<b>5.2.1 Validação dos métodos.....</b>	<b>66</b>
<b>5.2.2 Identificação e quantificação de quercetina em polpas e subprodutos de frutas tropicais.....</b>	<b>64</b>
<b>5.2.3 Identificação e quantificação de resveratrol em polpas e subprodutos de frutas tropicais.....</b>	<b>68</b>
<b>5.2.4 Identificação e quantificação de cumarina em polpas e subprodutos de frutas tropicais.....</b>	<b>69</b>

5.3 Etapa 3: Caracterização química, físico-química e microbiológica de polpas e subprodutos de frutas tropicais.....	70
5.4 Etapa 4: Nanoencapsulação dos extratos de frutas contendo os compostos fenólicos resveratrol, quercetina e cumarina e caracterização das nanopartículas.....	72
5.5 Etapa 5: Análise da atividade antimicrobiana dos extratos de frutas tropicais puros, nanoencapsulados e padrões de resveratrol, quercetina e cumarina .....	80
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>84</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>85</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta uma considerável biodiversidade de plantas frutíferas, com alta potencialidade de comercialização de suas frutas (FERNANDES *et al.*, 2010), sendo seu consumo *in natura*, assim como de seus produtos, considerado em plena expansão em todas as regiões do país e em todo o mundo.

O crescente consumo de frutas frescas está relacionado a uma série de fatores que levam à busca por alimentos nutritivos e naturais, o que aumenta a substituição das refeições por lanches rápidos, a procura por ganho de tempo e por alimentos individualizados de fácil utilização (RODRIGUES, 2004), como as polpas de frutas.

As polpas de frutas são fontes de sais minerais, ácidos orgânicos e fibras, além de compostos fenólicos, carotenóides e vitaminas, como a vitamina C (KIM *et al.*, 2010) e vitamina E (RAMADAN-HASSANIEN, 2008). Estes compostos apresentam influência positiva na saúde humana reduzindo o risco de várias doenças, como câncer e doenças cardiovasculares, além de proporcionarem ao consumidor sabor, cor e aroma agradáveis (MAIA; SOUSA; LIMA, 2007; CASWELL, 2009; HASSIMOTTO; GENOVESE; LAJOLO, 2009).

No Brasil, em toda a cadeia produtiva das frutas, incluindo colheita, transporte e armazenamento, as perdas são ainda bastante elevadas. As frutas tropicais apresentam, em geral, elevada perecibilidade, e ainda são considerados escassos os dados que impulsionem de fato a aplicação de novas técnicas de pós-colheita que venham a diminuir efetivamente estas perdas. Dessa forma, com a enorme biodiversidade presente no país, especialmente no Nordeste, é necessária a investigação científica no que se diz respeito à detecção, quantificação, extração, aplicação e utilização de substâncias de interesse para aplicação industrial que tragam benefícios à população, como os compostos fenólicos.

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários produzidos pelos vegetais, que além de sua capacidade antioxidante, podem apresentar atividade antimicrobiana e antiviral (IGNAT; VOLF; POPA, 2011). Em concentrações elevadas, os compostos fenólicos são consideradas substâncias tóxicas para a célula bacteriana, inibindo seu crescimento (GARCÍA-RUIZ *et al.* 2007). Diversas pesquisas revelam o efeito antimicrobiano de compostos fenólicos sobre microrganismos específicos, como *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* e *Helicobacter pylori* (SANTIAGO, 2007).

De acordo com Huber e Rodrigues-Amaya (2008), dados sobre a composição de compostos fenólicos em alimentos são ainda considerados insuficientes mesmo a nível mundial e esta carência é considerada ainda mais acentuada no Brasil.

É importante relatar que os consumidores tem se tornado cada vez mais exigentes e criteriosos com a qualidade dos produtos que consomem. É crescente a preocupação em fazer uso de produtos menos agressivos de origem natural ou o mais próximo possível desta origem (PACKER e LUZ, 2007), para evitar o consumo de substâncias sintetizadas quimicamente e aumentar a ingestão de compostos com alegação funcional.

Os compostos fenólicos podem ser explorados industrialmente, a fim de fornecer ao mercado de alimentos conservantes de origem natural, geralmente reconhecido como seguros (“GRAS”) e de baixo custo. Além do efeito antimicrobiano, os compostos fenólicos apresentam-se também como compostos bioativos, sendo responsáveis por contribuição significativa à manutenção e melhoria efetiva da saúde humana. Atualmente, pesquisas envolvendo o encapsulamento de substâncias naturais, como os compostos fenólicos, vêm sendo realizadas.

A utilização da nanotecnologia em produtos alimentícios se torna uma alternativa para efetivar a utilização de substâncias naturais, como os compostos bioativos, que proporcione o aumento da estabilidade e melhore as características desejáveis dos mesmos, como cor, composição nutricional e potencial antioxidantes. Assim, o uso da nanotecnologia pode contribuir para o desenvolvimento de alimentos modernos e convenientes, sem grandes prejuízos ao valor nutricional (ROBSON, 2011). Estes compostos nanoencapsulados também podem ser utilizados industrialmente, visando o enriquecimento de novos produtos, tendo em vista as propriedades terapêuticas dos vegetais, bastantes difundidas cientificamente, acarretando redução das perdas pós-colheita das frutas, fornecimento de novos produtos com alegação funcional ao consumidor, além da geração de novos empregos e conseqüente incremento da economia regional e nacional.

A identificação e a quantificação dos compostos fenólicos, como o resveratrol, quercetina e cumarina, em frutas tropicais e seus subprodutos, torna-se uma estratégia primordial para elucidação de sua potencialidade como antimicrobianos naturais e conseqüentemente sua nanoencapsulação, para aplicações na área de alimentos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito antimicrobiano de extratos fenólicos de polpa e subprodutos de frutos tropicais nanoencapsulados.

### 2.2 Objetivos específicos

- ✓ Identificar e quantificar os compostos fenólicos: resveratrol, quercetina e cumarina em polpas de frutas tropicais e seus subprodutos;
- ✓ Avaliar os constituintes bioativos das polpas e dos subprodutos de frutas tropicais através das análises de  $\beta$ -caroteno, licopeno, antocianinas, flavonóides amarelos e compostos fenólicos totais;
- ✓ Selecionar as polpas e os subprodutos que se caracterizem como fonte potencial de resveratrol, quercetina e cumarina;
- ✓ Nanoencapsular as amostras selecionadas e avaliar as características físicas das nanopartículas;
- ✓ Avaliar a ação antimicrobiana de padrões de resveratrol, quercetina e cumarina, além dos extratos das frutas selecionadas e suas nanopartículas contra microrganismos patogênicos (*E. coli* K12 e *Listeria monocytogenes*).

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Comercialização, perdas pós-colheita e benefícios à saúde relacionados ao consumo de frutas

O Brasil apresenta uma considerável biodiversidade de plantas frutíferas, sendo alta a potencialidade comercial de suas frutas. Com uma extensão territorial de 8.512.965 km<sup>2</sup>, o Brasil produz 43 milhões de toneladas de frutas tropicais, subtropicais e de clima temperado, proporcionando ao país uma grande diversidade de frutas o ano inteiro, muitas delas exclusivas de cada região. Dessa forma, o Brasil se destaca na produção de frutas frescas e processadas, sendo considerado o terceiro maior produtor mundial de frutas, superado apenas pela China e Índia, e, em relação às frutas tropicais, é considerado o maior produtor mundial, onde 47% do total produzido são destinados ao mercado *in natura* e 53% ao processamento (IBRAF, 2010).

Em relação à comercialização destas frutas, o volume de importação de frutas em 2010, as frutas que apresentaram maiores valores foram: pêra, maçã, uva e ameixa. Em relação à exportação, apresentaram maior volume: melão, banana e manga (IBRAF, 2010). Conforme dados da secretaria do comércio exterior, o Brasil exportou 800.547 toneladas de frutas frescas em 2010, contabilizando US\$ 839,5 milhões (IBGE, 2010).

O Brasil possui mais de 20 pólos de fruticultura distribuídos nas regiões Norte (Amazônia), Sul (frutas de clima temperado) e Nordeste (culturas irrigadas no semi-árido). Várias frutas dessas regiões apresentam composição em aroma e compostos funcionais de grande valor, particularmente as frutas ricas em antioxidantes naturais como carotenóides, polifenóis e ácido ascórbico (OLIVEIRA et al., 2009; HAMINIUK et al., 2011).

Os vegetais são fontes de energia, proteína, vitaminas e minerais e são a única ou principal fonte de vitamina C, folato, fibras e compostos bioativos, dos quais o metabolismo humano também é dependente (BASTOS; ROGERO; ARÊAS, 2009).

De acordo com IBGE (2010), o consumo alimentar da população brasileira combina a tradicional dieta à base de arroz e feijão, aliada a alimentos com poucos nutrientes e muitas calorias. A ingestão diária de frutas, legumes e verduras está abaixo dos níveis recomendados pelo Ministério da Saúde (400g), para mais de 90% da população.

As principais frutas consumidas no Brasil, em 2008, foram banana, laranja, melancia, maçã, mamão, citros, abacaxi, manga, uva e melão, representando um total de 28,86

kg/pessoa/ano. No Brasil, a região Nordeste é a terceira maior consumidora de hortifrutis, sendo superada pelas regiões Sul e Sudeste (Silveira et al., 2011).

Dessa forma, com o aumento da conscientização quanto aos benefícios à saúde e aumento da qualidade e expectativa de vida propiciada pelo consumo destes produtos, a busca por uma alimentação mais saudável deve aumentar, observando-se uma tendência crescente no que se diz respeito ao aumento do consumo destes vegetais, principalmente as frutas tropicais, tendo em vista as características sensoriais bastante aceitas pelos consumidores, como aroma e sabores peculiares, elevado teor de açúcares e elevada acidez.

As frutas tropicais são amplamente aceitas pelos consumidores e são importantes fontes de componentes antioxidantes, porém a maioria dessas frutas é altamente perecível, e suas perdas pós-colheita são mais preocupantes em países tropicais (MAIA et al., 2009). A enorme variedade de frutas tropicais passíveis de exploração e de desenvolvimento no Brasil se apresenta ao país como uma janela de oportunidades para as exportações de sucos e polpas (MAIA, SOUSA; LIMA, 2007).

O mercado de polpas de frutas congeladas têm apresentado constante crescimento devido ao elevado potencial mercadológico, em função do segmento a ser conquistado, na medida em que os hábitos alimentares relativos ao consumo de frutas *in natura* sejam transferidos para o de polpa de frutas. A perspectiva de crescimento deste mercado está ligada diretamente à conscientização da população sobre esta alternativa de consumo de frutas, que evita os problemas de sazonalidade dos frutos, aliada a mudanças de hábitos provocados por diversos fatores, destacando-se o ajustamento do homem às facilidades da vida moderna e a inserção da mulher no mercado de trabalho (OLIVEIRA et al., 1998).

No Brasil, o consumo de sucos corresponde a uma movimentação de cerca de R\$ 2 bilhões por ano, onde foi observado um aumento de 16% nas vendas de 2009 em comparação com o ano anterior. Além disso, o mercado de sucos foi responsável por 17% dos 53,8 bilhões de litros de bebidas não alcoólicas vendidas em 2008. Números apontados pela Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas não Alcoólicas (Abir) indicam que o volume de sucos de frutas produzidos no Brasil em 2009 foi de 92 mil litros apenas nos meses de dezembro e janeiro. Já os meses de junho e julho contaram com 72,6 mil litros (ABIR, 2010).

### 3.2 Subprodutos de frutas

Nas últimas décadas, a população mundial vem aumentando de maneira acentuada, exigindo um melhor aproveitamento dos recursos alimentícios disponíveis (PEREIRA et al., 2003). No Brasil, o agronegócio é responsável por grande fatia da economia, principalmente no que diz respeito à geração de empregos e produção de frutas e derivados para comercialização a âmbito regional, nacional e para exportação.

Subprodutos agroindustriais são conceituados como sendo aqueles provenientes do processo produtivo e instalações industriais, que podem ser reutilizados, sendo utilizados como um bem econômico e de valor social, gerando trabalho e renda, visando, dessa forma, o desenvolvimento sustentável (BRASIL, 2010). A designação de resíduos é utilizada quando a amostra não apresenta valor comercial.

As indústrias processadoras de frutas geram grandes quantidades de subprodutos. O aproveitamento destes subprodutos pode contribuir muito para a melhoria do meio ambiente, tendo em vista os grandes volumes produzidos e eliminados em locais inadequados, provocando sérios problemas ambientais (SOUSA et al., 2011; UCHOA et al., 2008).

Os subprodutos provenientes do processamento de frutas apresentam, de uma forma geral, teores consideráveis de compostos bioativos, incluindo compostos fenólicos (Tabela 1). Dessa forma, esses compostos apresentam valor agregado potencial, como o uso para aplicação como aditivos naturais em alimentos e produção de alimentos funcionais (OLDONI, 2010).

Tabela 1 - Compostos fenólicos de subprodutos do processamento de frutas.

Subproduto	Fenólicos totais *	Autor
Bagaço de acerola	247,62	Sousa et al. (2011)
Casca de lichia	10,21	Wang et al. (2011)
Casca de rambutan	40,20	Thitilertdecha; Rakariyatham (2011)
Casca de mangostão	25000	Nackz et al. (2011)
Casca de maracujá	101,3	Abreu (2011)
Bagaço de uva	7475,0	Rockenbach et al. (2011)
Casca de maçã	588,02	Vieira et al. (2011)
Casca de goiaba	660,00	Watanabe et al. (2011)
Bagaço de caju	95,95	Barbosa (2010)

\*mg de ácido gálico/100g.

De acordo com Damiani et al. (2008), a utilização econômica de subprodutos de frutas oriundos do mercado *in natura* ou das agroindústrias, aliada ao desenvolvimento de tecnologias para minimizar as perdas nos processos produtivos, podem contribuir de forma significativa para a economia do país.

Vários estudos têm sido desenvolvidos visando a elaboração de novos produtos alimentícios a partir de subprodutos de frutas. Costa et al. (2007) elaboraram pós alimentícios a partir de subprodutos provenientes da casca e bagaço de abacaxi, assim como Uchoa et al (2008), que elaboraram pós alimentícios a partir do bagaço de caju, goiaba e maracujá. Miguel et al. (2008) desenvolveram compota, doce e geléia a partir de subprodutos provenientes do processamento mínimo de melão, obtendo aceitabilidade dos produtos elaborados com índices superiores a 80%. Damiani et al. (2008) desenvolveram geléias de manga formuladas com a casca da fruta e Rodrigues e Zambiasi (2008) elaboraram geléias de abacaxi a partir de subprodutos provenientes da agroindústria.

De acordo com a Tabela 1, é possível observar, para algumas frutas, elevados teores de compostos bioativos, como os compostos fenólicos. Dessa forma, a exploração desses subprodutos visando a extração de compostos fenólicos específicos, como o resveratrol, quercetina e cumarina, vem a ser interessante industrialmente. Essas substâncias, quando isoladas, podem ser aplicadas em alimentos, visando a atuação como conservantes naturais (efeito antimicrobiano), além de adicionar ao alimento propriedades funcionais.

Estudos visando o aproveitamento desses subprodutos de frutas, com o objetivo de uma posterior utilização de compostos específicos, como os compostos fenólicos, são ainda pouco abordados na literatura.

### **3.3 Compostos fenólicos e ação antimicrobiana**

Numerosos compostos presentes em vegetais vêm sendo estudados com base em suas propriedades bioativas, tendo seus potenciais terapêuticos como âncora dos estudos científicos. Dessa forma, uma dieta rica em frutas e hortaliças diminui o risco de vários cânceres, e recentemente, ingredientes extraídos desses produtos tem tido bastante ênfase nas pesquisas científicas (LIU et al., 2010). Entre estes compostos estão incluídos os compostos fenólicos (IGNAT, VOLF, POPA, 2011).

Os compostos fenólicos são um amplo e numeroso grupo de moléculas encontradas em vegetais, como hortaliças, frutas, chás, café, cacau, cereais, vinho, suco de frutas e soja (HORST e LAJOLO, 2007).

Os vegetais apresentam metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são aqueles que são encontrados em todo o reino vegetal, onde há uma relação direta quanto ao crescimento e desenvolvimento desses organismos, como observado em processos de fotossíntese, respiração, transporte de solutos, síntese de proteínas e assimilação de nutrientes. Dessa forma, os metabólitos primários são essenciais para o desenvolvimento e crescimento dos vegetais. Os metabólitos secundários, por sua vez, não estão ligados a estes processos e são restritos a algumas espécies vegetais (FERREIRA; OLIVEIRA; SANTOS, 2008). Os compostos fenólicos são classificados como metabólitos secundários.

Estruturalmente, os compostos fenólicos compreendem compostos que possuem um anel aromático ligado a um ou mais grupos hidroxila, e podem variar de simples moléculas de fenóis a grandes moléculas de compostos polimerizados (BALASUNDRAM; SUNDRAN; SAMMAN, 2006).

Em produtos vegetais, estes compostos apresentam considerável interesse tecnológico devido à sua influência nas características sensoriais do produto final, como cor, sabores amargos e adstringentes, aromas e turbidez (ZARDO et al., 2008).

A biossíntese dos compostos fenólicos pode ser induzida por diversos fatores, como o ataque de microrganismos (KISELEV, 2011), estresses químicos ou físicos (SAUTTER et al., 2008) no vegetal, como infecções e exposição a radiação ultravioleta (JÁUREGUI et al., 2009). Os polifenóis apresentam uma estrutura química comum, derivada do benzeno, ligada a um grupo hidrofílico.

Os ácidos cinâmico e p-cumárico, obtidos, respectivamente, da fenilalanina e da tirosina, constituem o ponto de partida da síntese de compostos fenólicos (SOARES, 2008; JÁUREGUI et al., 2009).

Os principais compostos fenólicos encontrados nas frutas e hortaliças podem ser alocados em várias classes, de acordo com o tipo e o número de anéis fenólicos, e em subclasses, de acordo com substituições específicas na estrutura básica, associações com carboidratos e formas polimerizadas (FARAH e DONANGELO, 2006; ALMEIDA, 2007).

Existem três grandes classes de compostos fenólicos: os flavonóides, ácidos fenólicos e taninos (MATILLA et al., 2011).

Ácidos fenólicos podem ser classificados em dois subgrupos: ácidos hidroxibenzóicos e ácidos hidroxicinâmicos. Ácidos hidroxibenzóicos incluem ácidos gálico,

p-hidroxibenzóico, vanílico e siríngico, os quais possuem em comum a estrutura  $C_6-C_1$ , sendo considerados os ácidos fenólicos mais simples encontrados na natureza. Ácidos hidroxicinâmicos, por outro lado, são compostos aromáticos com cadeia lateral formada por três carbonos ( $C_6-C_3$ ), sendo os mais comuns os ácidos caféico, ferúlico, p-cumárico e sinápico (BELLUZZO, 2008).

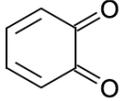
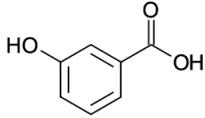
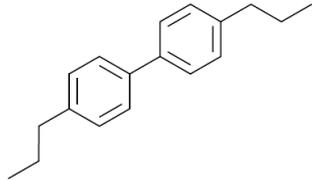
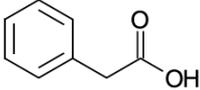
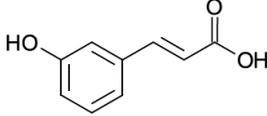
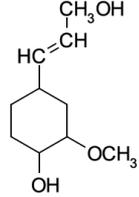
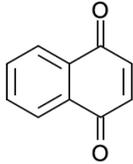
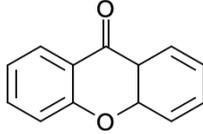
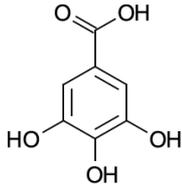
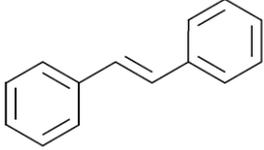
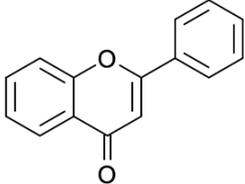
Os flavonóides constituem o maior grupo de compostos fenólicos presentes nos vegetais. Possuem baixo peso molecular, apresentando em sua estrutura química quinze átomos de carbono distribuídos numa configuração  $C_6-C_3-C_6$ . Essencialmente, a estrutura consiste de dois anéis aromáticos A e B, unidos por três carbonos, geralmente na forma de um anel heterocíclico C. Variações na configuração do anel C resultam em outras classes de flavonóides, como flavonas, flavanonas, catequinas, isoflavonas e antocianidinas (FERREIRA; OLIVEIRA; SANTOS, 2008; BELLUZZO, 2008). Dentre esses, ácidos fenólicos, flavonóides e taninos podem ser considerados os principais componentes da dieta humana (BELLUZZO, 2008).

Alguns compostos fenólicos não se apresentam em forma livre nos tecidos vegetais. São aqueles presentes sob a forma de polímeros, na qual estão os taninos (SOARES, 2002). Os taninos são compostos de alto peso molecular que constituem o terceiro grupo de compostos fenólicos e podem ser subdivididos em taninos hidrolisáveis e condensáveis (BELLUZZO, 2008).

Os taninos hidrolisáveis contêm um núcleo central de glicose ou um álcool poliídrico, esterificado com ácido gálico ou elágico, e são prontamente hidrolisáveis com ácidos, bases ou enzimas. Os taninos condensáveis são polímeros de catequina e/ou leucoantocianidina, e não são prontamente hidrolisáveis por tratamento ácido (SOARES, 2002).

As classes de compostos fenólicos em vegetais podem ser observadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Classes de compostos fenólicos e representação da estrutura química.

Fenólicos simples, benzoquinonas 	Ácidos hidroxibenzoícos 	Lignanas/neoglicanas 
Ácidos fenilacéticos 	Ácidos hidroxicinâmicos 	Ligninas 
Naftoquinonas 	Xantonas 	Taninos condensados 
Estilbenos 	Flavonóides 	

### 3.3.1 Teores de compostos fenólicos em vegetais

O conhecimento do conteúdo dos compostos fenólicos em vegetais é considerado uma ferramenta para o entendimento do seu papel na fisiologia da planta e na saúde humana, bem como para pesquisas que visam o aumento do seu consumo (HOFFMANN RIBANI, 2006). Diversos estudos quantificam e constataam a riqueza de diversas frutas quanto aos teores de compostos fenólicos (Tabela 3).

Tabela 3 - Teores de compostos fenólicos totais em frutas.

Polpa de fruta	Compostos fenólicos (mg. 100g <sup>-1</sup> )	Autor
Abacaxi	58,80**	Thé et al. (2010)
Abacate	21,86*	Fu et al. (2011)
Abriçó	25,41 *	Braga et al. (2010)
Açaí	182,95 a 598,55*	Santos et al. (2008)
Acerola	1956,53*	Silva (2011)
Ameixa	88,28*	Fu et al. (2011)
Amora preta	241,7*	Ferreira; Rosso e Mercadante (2010)
Araçá-boi	87*	Genovese et al. (2008)
Ata	81,70*	Almeida et al. (2011)
Bacuri	23,8	Rufino et al. (2008)
Banana	215,7*	Faller e Fialho (2009)
Cajá	126,85***	Melo <i>et al.</i> (2008)
Caju	844,36*	Silva (2011)
Camu-camu	1797*	Genovese et al. (2008)
Carambola	36,04*	Fu et al. (2011)
Cereja	114,56*	Fu et al. (2011)
Cupuaçu	51,85 a 74,90**	Santos et al. (2008)
Figo	0 a 11,3	Vallejo, Marín e Tomás-Barberán (2012)
Goiaba	73,60 *	Morgado et al. (2010)
Graviola	203,94***	Melo et al. (2008)
Jamelão	1140*	Sheikh et al. (2011)
Kiwi	87,54*	Fu et al. (2011)
Laranja	114,6*	Faller e Fialho (2009)
Lichia	59,77*	Fu et al. (2011)
Lima ácida	76,1*	Pereira (2009)
Limão	455,2*	Duzzioni et al. (2010)
Maçã	121,9***	Zardo et al. (2008)
Mamão	88,1*	Oliveira et al. (2009)
Manga	15,3 a 56,7*	Noratto et al. (2010)
Mangaba	98,80*	Almeida et al. (2011)
Maracujá	74*	Genovese et al. (2008)
Melancia	137,2*	Tlili et al. (2011)
Melão	31,50*	Fu et al. (2011)
Morango	52,8*	Kajdzanoska; Petreska e Stefova (2011)
Pêra	27,58*	Fu et al. (2011)

Pitanga	463,00*	Bagetti et al. (2011)
Tamarindo	83,80*	Almeida et al. (2011)
Tangerina	134,1*	Faller e Fialho (2009)
Romã	2015,2*	Fischer; Carle e Kammerer (2011)
Umbu	32,70***	Melo e Andrade (2010)
Uva	138,93***	Melo et al. (2008)

\*Resultado expresso em mg de ácido gálico; \*\* Resultado expresso em mg de ácido tânico; \*\*\* Resultado expresso em mg de catequina

No que diz respeito a identificação e quantificação de compostos fenólicos, métodos espectrofotométricos e cromatográficos em camada delgada eram inicialmente os mais utilizados. No entanto, o interesse em pesquisar os efeitos biológicos destes compostos, tornou imprescindível que dados mais confiáveis sobre conteúdo destes em alimentos fossem adquiridos. Assim, nos últimos anos, têm-se utilizado métodos analíticos mais sensíveis e seletivos, como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (HUBER; RODRIGUES-AMAYA, 2008) a fim de se obter maiores informações a respeito destes compostos.

### 3.3.2 Compostos fenólicos: propriedades nos vegetais e atividade biológica

Nas plantas, os compostos fenólicos exercem defesa contra microorganismos e insetos, função de fotoproteção e também são responsáveis pela pigmentação e por algumas características sensoriais dos alimentos (HORST e LAJOLO, 2007).

Os flavonóides, principalmente antocianinas e flavonóis, atuam nas plantas atraindo polinizadores e disseminadores de sementes, pois em uma flor, muitas vezes, formam padrões simétricos de listras, pontos ou círculos concêntricos chamados de guias de nectário. Tais padrões podem ser presentes em insetos e acredita-se que auxiliam na localização do pólen e do néctar (FERREIRA; OLIVEIRA; SANTOS, 2008).

Além da pigmentação em frutas, flores, sementes e folhas, os flavonóides também têm importantes funções na sinalização entre plantas e microrganismos e na fertilidade de algumas espécies (HUBER; RODRIGUES-AMAYA, 2008; WINKEL-SHIRLEY, 2008).

Os compostos fenólicos eram considerados inicialmente compostos antinutrientes, devido a alguns efeitos adversos que produziam no metabolismo humano, exercidos principalmente pela classe dos taninos. Porém, estudos atuais têm demonstrado a atuação benéfica dessas substâncias (HUBER e RODRIGUES-AMAYA, 2008).

Os compostos fenólicos são considerados um dos grupos de compostos bioativos responsáveis pelos efeitos benéficos à saúde, sendo obtidos através do consumo de alimentos vegetais. Embora existam outros mecanismos, o modo de ação mais citado é a atividade antioxidante, fornecida pela habilidade de seqüestrar espécies reativas de oxigênio e quelar íons metálicos (HOFFMANN RIBANI, 2006). Essa capacidade antioxidante vem sendo constatada por diversos autores, como Snyder et al. (2011) e pode prevenir ou minimizar os efeitos deletérios de diversas enfermidades associadas pelo estresse oxidativo, como aterosclerose, câncer, disfunção pulmonar, cataratas, doenças renais e lesões de pele (GIADA; FILHO, 2006), doenças inflamatórias intestinais (SERGENT et al., 2010) e diabetes tipo II (VADIVEL; BIESALSKI, 2011).

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos depende do arranjo dos grupos sobre a estrutura nuclear (HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002) e é de interesse nutricional, pois tem sido associada a potencialização de efeitos promotores da saúde humana através da prevenção de várias doenças (GIADA; FILHO, 2006).

Além da atividade antioxidante, podem ser citados outros efeitos farmacológicos fornecidos pelos compostos fenólicos, como ação antiinflamatória e antiplaquetária, além de efeitos antialérgicos. Estes efeitos podem inibir enzimas, como a prostaglandina sintetase, a lipoxigenase e a ciclooxigenase, todas relacionadas diretamente com a formação de tumores (LAGHTON et al., 1991; MIEAN; MOHAMED, 2001; DEGÁSPARI; NINA, 2004).

Em relação aos flavonóides, sua atividade biológica depende da sua estrutura química e dos vários substituintes da molécula, uma vez que a estrutura básica pode sofrer uma série de modificações, como glicosilação, esterificação, amidação e hidroxilação, que irão modular a polaridade, toxicidade e direcionamento intracelular destes compostos (HUBER; RODRIGUES-AMAYA, 2008).

Relacionados com a redução da incidência de doenças cardiovasculares (GRESELE et al. 2011), câncer, distúrbios neurológicos e respiratórios, os compostos fenólicos protegem as células contra os danos causados pelos radicais livres, aumentando a expectativa de vida (BRISHT et al., 2010).

Entre os diversos efeitos bioativos dos compostos fenólicos estudados neste estudo, podem ser citados a propriedade antiinflamatória e protetora do DNA, fornecida pela ingestão de resveratrol (BRISHT; WAGNER; BULNER, 2010) e atividade anticancerígena relacionada a ingestão de quercetina (CHEN; ZHOU, 2010) e cumarina (LACY; O'KENNEDY, 2004).

Em relação ao mecanismo de atuação desses compostos no organismo humano, os mesmos podem agir de diferentes formas, atuando diretamente nos alvos fisiológicos ou em seus mecanismos de ação (BASTOS; ROGERO; ARÊAS, 2009).

A simples ingestão do composto fenólico presente em vegetais não indica, necessariamente, sua atuação benéfica, sendo necessários constantes estudos a respeito da natureza do alvo biológico, das condições ambientais e da dosagem de compostos fenólicos ingerida, juntamente com a disponibilidade dessas substâncias. Estes fatores influenciam a eficácia destes compostos (SOUSA, 2008). Dessa forma, a correta administração destas substâncias poderá propiciar os efeitos benéficos, constatados cientificamente por diversos pesquisadores.

### 3.3.3 Resveratrol

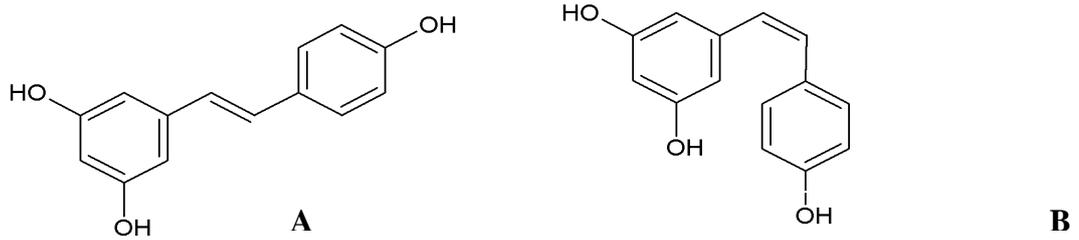
O resveratrol é um estilbeno natural (MEDINA-BOLIVAR et al., 2007), encontrado em várias espécies vegetais (Tabela 4), em duas formas genéricas: trans-(E) e cis-(Z) (Figura 1). O trans-resveratrol pode ser isomerizado para o isômero cis através de aquecimento ou irradiação com luz ultravioleta (VIÑAS et al. 2008). O isômero trans-resveratrol é reconhecido por possuir atividades biológicas (SAUTTER et al., 2005).

Tabela 4 - Pesquisas realizadas em produtos vegetais relacionadas ao teor de resveratrol.

Produto vegetal	Teor de resveratrol	Autor
Cranberry	712,3 ng/g	Borowska et al. (2009)
Bagaços de uvas	0,19 a 10,73 mg /g	Casas et al. (2010)
Suco de uva orgânico	25,9 mg/L	Freitas et al. (2010)
Cacau	0,8 mg/kg	Jerkovic et al. (2010)
Uva	12,2 a 14,6 µg/g	Sagdic et al. (2011)
Suco de morango	0,034 µg/mL	Viñas et al. (2008)
Maçã	127,9 µg/100g	Sautter et al. (2008)

O resveratrol é considerado uma fitoalexina. O termo fitoalexina significa “agente defensor de plantas”. Quando a planta é submetida a uma patologia, ocorre uma resposta de defesa da célula vegetal, seguida da resistência da planta adquirida após a exposição ao microrganismo (DELANOUIIS et al., 2009), ou outros estresses vegetais, como danos físicos. O resveratrol é ainda classificado como uma substância fitoestrógena, por possuir capacidade de interagir com o receptor de estrógeno (SZKUDELKA; SZKUDELSKI, 2010).

Figura 1. Representação da estrutura molecular A. trans-resveratrol, B. cis-resveratrol.



FONTE: AUTOR.

Numerosos estudos vêm constatando as propriedades benéficas do resveratrol (COTTART et al., 2010). Considerada uma substância com atividade antioxidante, é relacionada também com o controle da obesidade e diabetes (SZKUDELKA; SZKUDELSKI, 2010), doenças auto-imunes (PETRO, 2011) e inflamações (ATHA et al., 2009). Os teores necessários para atuação farmacológica do resveratrol são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Teores necessários para atuação farmacológica do resveratrol.

Atividade	Teor de resveratrol	Autor
Prevenção de isquemia do miocárdio	2,5 a 5 mg/kg	Dudley et al. (2009)
Inibição de PI3K: fosfatidilinositol-3-cinase (função neuroprotetora)*	25 µM	Frojdo et al. (2007)
Efeito fotoprotetor	12,5 a 25 µM/L	Moreno (2009)

\* Dados fornecidos em IC<sub>50</sub>.

Demais benefícios no que diz respeito à ingestão do resveratrol são cientificamente comprovados, sendo a substância capaz de aumentar a resistência das fibras colágenas (exercendo efeito protetor sobre as paredes dos vasos sanguíneos); dissipar as plaquetas que provocam coágulos e entopem as artérias; diminuir a destruição dos linfócitos, preservando o sistema imunológico e favorecer funções digestivas (DAVID et al., 2007).

O resveratrol tem sido extraído de vegetais e comercializado com o atributo de suplemento nutricional (GUNCI, 2010), sendo a China atualmente o principal país produtor desta substância (KISELEV, 2011).

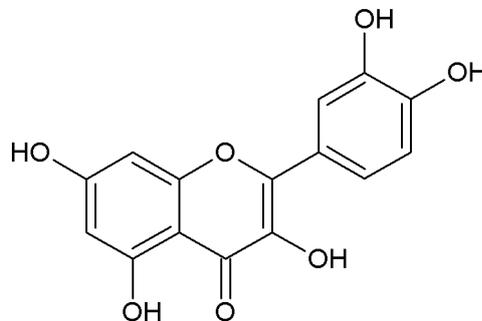
Quanto a aplicação em alimentos, a ação antioxidante natural tem apresentado bons resultados, mas ainda observa-se poucos estudos na área. Em estudo realizado por Filip

et al. (2003), a adição de resveratrol preveniu a oxidação de margarina, além de suprimir a deterioração por mofos.

### 3.3.4 Quercetina

A quercetina (3,5,7,3'4'-pentahidroxi flavona, Figura 2) é um componente comum em muitas frutas e vegetais, sendo considerada o principal flavonóide presente na dieta humana (BEHLING et al., 2004).

Figura 2. Representação da estrutura molecular da quercetina.



FONTE: AUTOR.

Atualmente, são observadas na literatura diversas pesquisas envolvendo a detecção e quantificação de quercetina em produtos de origem vegetal (Tabela 6).

Tabela 6 - Pesquisas realizadas em produtos vegetais relacionadas ao teor de quercetina.

Produto vegetal	Teor de quercetina (mg/100g)	Autor
Acerola	4,1	Hoffmann-Ribani e Rodrigues-Amaya (2008)
Figo Roxo	1,3	
Goiaba	1,1	
Morango	1,0	
Pitanga	6,7	
Amora-preta	20,23	Jacques et al. (2010)
Casca de maçã	2,1	Wach; Pyrznska; Biesaga (2007)
Uva	1,46	Abe et al. (2007)
Ameixa	9	Velioglu et al. (2008)
Pêra	6	
Suco de Noni	0,29	Dussossoy et al. (2011)
Bagaço de caju	0,24	Barbosa (2010)

Várias propriedades terapêuticas da quercetina têm sido estudadas nos últimos anos. Relatos e evidências epidemiológicas sugerem que dietas ricas em flavonóides, como a quercetina, têm efeitos na prevenção e no tratamento de doenças cardiovasculares, câncer e insuficiências renal e hepática (BEHLING et al., 2004). Os teores necessários para atuação farmacológica da quercetina são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Teores necessários para atuação farmacológica da quercetina.

Atividade	Teor de quercetina	Autor
Atividade antioxidante <i>in vitro</i> (eritrócitos humanos)	64 ± 8,70 µM	Mikstacka; Rimando e Ignatowicz (2010)
Atividade anticancerígena (câncer gástrico)	≥ 11,9 mg/dia	Ekstrom et al. (2011)
Efeito antiinflamatório	15 mg/dia	Boots et al. (2008)
Redução da peroxidação lipídica	30 µM/L	Kleemann et al. (2011)

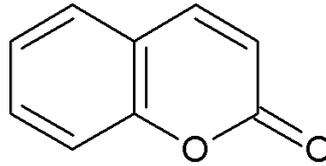
A quercetina é, atualmente, bastante reconhecida como uma substância anticancerígena (CHEN; ZHOU, 2010), apresentando atividade pró-oxidante (YANG et al., 2012), tendo sua ingestão diária recentemente associada à redução de diversos tipos de cânceres, como o gástrico (EKSTROM et al. 2011), de pulmão e de cólon (MURAKAMI et al., 2008).

Além disso, a quercetina reduz a resposta inflamatória das células (BASTOS; ROGERO; ARÊAS, 2009; BOOTS et al., 2008) e está relacionada com a redução da arterosclerose (KLEEMANN et al., 2011) e tratamento de hiperpigmentação da pele (ARUNG et al., 2011). Vários estudos têm sido desenvolvidos visando confirmar os efeitos benéficos da inclusão de quercetina na alimentação, como em estudo realizado por Martinez et al., (2009), onde a administração de quercetina em ratos apresentou redução do estresse oxidativo pulmonar.

### 3.3.5 Cumarina

Cumarinas são benzo-derivados da pirona, de ocorrência natural ou sintética, classificadas como benzo- $\alpha$ -pironas. As benzo- $\gamma$ -pironas são comumente conhecidas por cromonas (ABRAHAM et al., 2010). As cumarinas (Figura 3) são derivadas do ácido cinâmico, por ciclização da cadeia lateral do ácido o-cumárico (SOARES, 2002).

Figura 3. Representação da estrutura molecular da cumarina.



Fonte: SOARES (2002).

As cumarinas são compostos fenólicos, constituintes naturais das plantas, podendo ser encontradas em diversas fontes vegetais, como frutas, hortaliças, sementes amêndoas, café, chá e vinhos (LACY; O’KENNEDY, 2004). Estes compostos podem apresentar um aroma de baunilha, sendo utilizados como aromatizantes em alimentos, porém, em doses pré-estabelecidas, consideradas seguras ao consumidor (ABRAHAM et al., 2010), sendo utilizado um limite máximo de 2 mg/Kg de alimentos e bebidas em geral (SPROLL et al., 2008). Estudos abordando a análise e adição de cumarina em alimentos ainda são considerados escassos. As cumarinas estão relacionadas ao aroma e sabor de chá verde Japonês (YANG et al., 2009), cereais e produtos de panificação (SPROLL et al., 2008). É possível observar na Tabela 8 pesquisas realizadas em produtos vegetais relacionadas ao teor de cumarina.

Tabela 8 - Pesquisa realizada em produtos vegetais relacionadas ao teor de cumarina.

Produto vegetal	Teor de cumarina	Autor
Uva	189,3 µg/g	Sagdic et al. (2011)
Sucos de frutas	nd*	Rahim et al. (2011)
Suco de noni	1,32 mg/ 100g**	Dussossoy et al. (2011)
Suco de limão	107 µg/ 100mL***	
Casca de lima	29,72 µg/ 100mL***	Gorgus et al. (2010)
Suco de pomelo	1650 µg/ 100mL***	

\* Não determinado; \*\*expresso em escopoletina; \*\*\* expresso em bergamotina.

As cumarinas apresentam benefícios na terapia contra tumores e vírus HIV, são consideradas estimulante do sistema nervoso central, apresentam propriedades antibacterianas, anti-inflamatórias, anti-coagulantes (MUSA; COOPERWOOD; KHAN, 2008) e anticancerígenas (LACY e O’KENNEDY, 2004). Os teores necessários para atuação farmacológica da cumarina são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Teores necessários para atuação farmacológica da cumarina.

	Atividade	Teor de cumarina	Autor
Efeito contra espécies reativas de oxigênio (mg/ml)	Radical superóxido ( $O_2^-$ )	1,27	Ikeda et al. (2009)
	Oxigênio singlete ( $^1O_2$ )	0,68	
	Radical hidróxido ( $OH$ )	> 4	
	Peroxinitrito ( $ONOO^-$ )	0,042	

Ikeda et al. (2009), assim como Dussossoy et al. (2011) constataram a presença de cumarina em frutos de noni e Mahhattanadul et al. (2011) avaliaram o efeito do extrato aquoso da fruta noni em inflamações gástricas, relatando a influência da cumarina entre os compostos relacionados com essa propriedade.

Fiorentino et al. (2009) relataram a presença de cumarina em polpa e semente de kiwi. Manthey (2005) constatou a presença de cumarina em três diferentes variedades de uvas imaturas, relatando rápida redução no teor desta substância durante o desenvolvimento do fruto.

### 3.3.6 Atividade antimicrobiana dos compostos fenólicos

Os compostos fenólicos, além de sua capacidade antioxidante, podem apresentar atividade antimicrobiana e antiviral (IGNAT, VOLF, POPA, 2011), sendo normalmente produzidos pelo vegetal em resposta a estresses químicos, físicos ou biológicos (SAUTTER et al., 2008). Em concentrações elevadas, os compostos fenólicos são considerados substâncias tóxicas para a célula bacteriana, inibindo seu crescimento (GARCÍA-RUIZ et al. 2007). É possível que os compostos fenólicos atuem na desnaturação de proteínas, presentes na membrana plasmática dos microrganismos, impedindo o transporte de substâncias na célula, influenciando nos processos vitais da mesma.

Atualmente, diversas pesquisas revelam o poder antimicrobiano de compostos fenólicos sobre microrganismos específicos, como *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* e *Helicobacter pylori* (SANTIAGO, 2007).

A Tabela 10 apresenta a atividade antimicrobiana de diferentes compostos fenólicos, frente a microrganismos específicos.

Tabela 10 - Atividade antimicrobiana de compostos fenólicos

Composto	Microrganismo	Autor
Resveratrol	<i>Penicillium</i> sp*	Sautter et al. (2008)
	<i>Colletotrichum</i> , <i>Botrytis</i> e <i>Fusarium</i>	Sobolev et al. (2011)
	<i>N. gonorrhoeae</i> , <i>N. meningitidis</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>P. aeruginosa</i> e <i>C. albicans</i>	Docherty; Fu e Tsai (2001)
Quercetina	<i>Staphylococcus aureus</i>	Camargo e Raddi (2008)
	<i>Lactobacillus plantarum</i> *	Curiel; moñoz e Felipe (2010)
Quercetina e resveratrol	<i>Salmonella</i> entérica sorovar <i>Thiphymurium</i>	Paolillo; Carratelli e Rizzo (2011)
4-Hidroxi-cumarina	<i>E.coli</i> e <i>S.aureus</i>	Kumar et al. (2013)
Cumarina	<i>Leishmania</i>	Napolitano et al. (2004)
	Cepas mutantes de <i>S. aureus</i>	Fournier e Hooper (1998)
	<i>P. digitatum</i>	Ortunõ et al. (2011)
	<i>Aspergillus parasiticus</i> e <i>Fusarium verticillioides</i>	Mohanlall e Odhav (2006)
Ácido gálico	<i>L. monocytogenes</i> e <i>C. jejuni</i>	Arcan e Yemenicioglu (2011)

\* Não foi verificado efeito antimicrobiano para o microrganismo em estudo

### 3.4 Microrganismos deteriorantes e patogênicos em frutas tropicais e derivados e antimicrobianos naturais

As frutas tropicais, são geralmente ácidas, devido ao elevado teor de ácidos orgânicos presentes (cítrico, málico e tartárico), apresentado pH variando entre 2,0 (para cajás) a 5,59 (para mamões). As frutas possuem quantidades elevadas de sólidos solúveis totais, podendo variar de 5,7° Brix (para acerola) até valores acima de 25° Brix, como em algumas variedades de bananas (MAIA; SOUSA; LIMA, 2007, ICMSF, 2002).

As frutas apresentam microbiota natural que provém do ambiente, a qual pode ser influenciada por diversos fatores, como a estrutura da planta, técnicas de cultivo, transporte e armazenamento (ROSA e CARVALHO, 2000; PACHECO et al., 2002). A contaminação desses produtos pode ocorrer também durante a comercialização dos mesmos.

De acordo com os fatores intrínsecos, como exemplo o pH, torna-se possível afirmar que as frutas apresentam maior tendência a contaminação por bolores e leveduras, porém esse fator não impede a presença de demais tipos de microrganismos.

Alterações causadas pela deterioração proveniente de bolores e leveduras são importantes por promoverem mudanças de natureza sensorial no produto, no entanto, o problema realmente relevante é a capacidade de alguns bolores de sintetizarem micotoxinas (HUIS IN'T VELD, 1996), metabólitos secundários que aparecem como resultado do

crescimento destes microrganismos. Estas substâncias causam respostas tóxicas denominadas como micotoxicoses. A ingestão de micotoxinas por seres humanos se dá pelo consumo de alimentos contaminados, que possuem subprodutos ou o próprio metabólito presente (SWEENEY e DOBSON, 1998).

De acordo com Mídio e Martins (2000), os gêneros *Byssochamys* e *Penicillium* podem ser encontrados na parte íntegra de alguns frutos e para o desenvolvimento dos mesmos é necessário que o fruto esteja danificado quer seja por outros microrganismos, insetos e suas larvas ou mesmo por danos físicos pós-colheita (manuseio e armazenamento), produzindo uma substância tóxica denominada patulina. A espécie mais importante e citada na literatura científica é o *Penicillium expansum*, contaminante comum de maçãs e outras frutas e conseqüentemente, de sucos de frutas.

As bactérias deteriorantes mais comuns encontradas em produtos de frutas incluem espécies de *Acetobacter*, *Alicyclobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Gluconobacter*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Saccharobacter*, *Zymomonas* e *Zymobacter*.

Surtos de doenças alimentares atribuídos ao consumo de sucos de frutas comerciais não pasteurizados (frescos) contaminados com patógenos emergentes, tais como: *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* sp. e *Cryptosporidium parvum* já foram notificados (FOSTER; VASAVADA, 2003).

Os antimicrobianos são definidos como substâncias químicas que eliminam ou inibem o crescimento de outros organismos. Do ponto de vista industrial, visam o controle do crescimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos, retardando a deterioração biológica e prevenindo a disseminação de doenças transmitidas por alimentos, respectivamente, contribuindo desta forma com o prolongamento da vida de prateleira dos alimentos.

O mecanismo de atuação dos compostos que apresentam caráter antimicrobiano pode ocorrer de três formas distintas: devido à reação deste composto com a membrana celular do microrganismo, causando aumento da permeabilidade e perda dos constituintes celulares, destruição ou inativação do material genético ou pela inativação de sistemas enzimáticos ou de enzimas consideradas essenciais (KIM et al., 1995; RODRIGUEZ SAUCEDA, 2011).

As substâncias antimicrobianas podem ser classificadas como sintéticas ou naturais. Os antimicrobianos naturais constituem cada vez mais uma nova forma de garantir uma alimentação segura, mantendo inalterada a qualidade dos alimentos. É observada uma tendência quanto ao uso destes compostos, que começa a crescer no mercado europeu,

especialmente em combinação com outras técnicas modernas de controle, como a análise de riscos e o controle de pontos críticos. Em alguns países, como a Nigéria, por exemplo, os extratos de espécies com propriedades conservantes naturais são mais utilizados do que os antimicrobianos sintéticos. Os sistemas antimicrobianos naturais presentes nas plantas, animais ou microorganismos estão cada vez mais ganhando adeptos no âmbito da conservação natural, especialmente em atividades antimicrobianas a partir de extratos de várias espécies de plantas e partes de plantas (FOOD INGREDIENTS, 2010). Dessa forma, a redução ou eliminação da utilização de substâncias antimicrobianas sintéticas pode ser considerada uma demanda atual da indústria de alimentos (BUBONJA-SONJE; GIACOMETTI; ABRAM, 2011).

Em relação à utilização destas substâncias, os compostos antimicrobianos de origem vegetal (óleos essenciais, aldeídos, ésteres, ervas e especiarias) têm sido utilizados efetivamente na redução de patógenos e microrganismos produtores de esporos, em frutas e sucos de frutas (RAYBAUDI-MASSILA et al., 2009).

Estudos abordando a incorporação de substâncias antimicrobianas naturais a frutas e hortaliças *in natura*, visando a redução das perdas pós-colheita causadas por fitopatologias, têm sido realizados. Rodríguez et al. (2011) avaliaram o efeito de extratos de plantas Mexicanas em diferentes fungos (*Rhizopus stolonifer*, *Colletotricum gloesporoides* e *Penicillium digitatum*) responsáveis por doenças pós-colheita em frutas, observando efeito antifúngico.

São também utilizados em embalagens ativas, incorporados a polímeros utilizados para embalagem de alimentos, como em estudo realizado por Guarda et al. (2011), na incorporação de timol e carvacrol microencapsulados em biopolímeros. Suppakul et al. (2011), adicionaram antimicrobianos linalol e metilchavicol em filmes de polietileno de baixa densidade e Botre et al. 2010, incorporaram óleo essencial de orégano em filme para pizza pronta, constatando efeito inibitório *in vitro* para *Penicillium* spp. e *Staphylococcus aureus*.

Sánchez-González et al. (2011) incorporaram óleos essenciais de bergamota, limão e chá verde à filmes de polissacarídeos (quitosana e hidroximetilpropilcelulose) e avaliaram a atividade antimicrobiana das amostras durante um período de 12 dias. Os autores constataram efeito antimicrobiano contra *L.monocytogenes*, *E. coli* e *S. aureus*.

Sánchez-González et al. (2010) avaliaram a atividade antimicrobiana de filmes elaborados com quitosana incorporados com óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, observando efeito antimicrobiano contra *L.monocytogenes* e *P.digitatum*.

A viabilidade e utilização de antimicrobianos naturais em etapas do processamento de produtos derivados de frutas também vêm sendo estudada. Tomilho, cominho-preto, sálvia, alecrim e louro foram testados na higienização de cenouras e maçãs minimamente processados, sendo constatada redução da concentração de *Salmonella Typhimurium* e *Escherichia coli* O157:H7 (TORNUK et al., 2011).

O efeito antimicrobiano de diversas substâncias naturais têm sido estudado com bastante ênfase por diversos autores. Diversos estudos envolvendo o efeito antimicrobiano de substâncias naturais são destacados na Tabela 11.

Tabela 11 - Efeito antimicrobiano de substâncias naturais e extratos.

Antimicrobiano natural	Microorganismo	Autor
Nisina e Timol	<i>L. monocytogenes</i>	Xiao, Davidson e Zhong (2011)
Trans-cinamaldeído e eugenol	<i>Salmonella spp.</i> e <i>Listeria spp.</i>	Gomes; Moreira e Castell-Perez (2011)
Extrato de <i>Equisetum arvense</i>	<i>A.flavus</i> , <i>A.parasiticus</i> , <i>A.carbonarius</i> , <i>F.verticillioides</i> e <i>F.graminearum</i>	Garcia et al. (2011)
Óleo de folhas de <i>L. alba</i>	<i>L. monocytogenes</i> e <i>S. aureus</i>	Machado et al. (2014)
Extrato de <i>Cameroonian Zanthoxylum</i>	<i>P.aeruginosa</i>	Misra et al. (2013)
Extrato de café	<i>S. entérica</i> , <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i>	Almeida (2007)
Extrato de casca de <i>Passiflora edulis</i>	<i>C. albicans</i>	Galvão et al. (2010)
Corante natural de <i>Acacia catechu</i>	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>C. albicans</i> e <i>C. tropicalis</i>	Khan et al. (2011)
Óleo de <i>Bidens frondosa</i> Linn	<i>S. aureus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. enteritidis</i> e <i>E.aerogenes</i> .	Rahman et al. (2011)
Terpeno ( <i>Melaleuca Alternifolia</i> ) e D-limoneno	<i>L. delbrueckii</i> , <i>S. cerevisia</i> e <i>E. coli</i>	Donsi et al. (2011)
Óleo essencial de <i>Salvia fruticosa</i>	<i>B.cereus</i> , <i>S.aureus</i> , <i>L.monocytogenes</i> , <i>E.coli</i> , <i>P.aeruginosa</i> , <i>S. Typhimurium</i>	Giweli et al. (2013)
Lactoferrina	<i>E. coli</i>	Ying et al. (2011)
Óleo de <i>Mentha piperita</i>	<i>P. aeruginosa</i> e <i>P. digitatum</i>	Tyagi; Malik (2011)
Pólen grego	<i>E. coli</i>	Graikou et al. (2011)
Óleos de frutas cítricas	<i>E. coli</i> O157:H7 e <i>L. monocytogenes</i>	Espina et al. (2011)
Óleo de <i>Trachyspermum ammi</i>	<i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>E. aerogens</i> e <i>S. aureus</i>	Paul et al. (2011)a
Quitosana	<i>E. coli</i>	Mellegard et al. (2011)

Extrato de folhas de <i>Vitis vinifera</i> L.	<i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>E. coli</i> e <i>S. Infantis</i>	Katalinic et al. (2013)
Óleos de <i>Rosmarinus officinalis</i> , <i>Melissa officinalis</i> , <i>Lavandula angustifolia</i> , <i>Thymus vulgaris</i> e <i>Pogostemon cablin</i> .	<i>B. subtilis</i> , <i>B. cereus</i> e <i>S. aureus</i>	Hussain et al. (2011)
Infusão de <i>Caesalpinia paraguariensis</i>	<i>M.morganii</i> , <i>E. carotovora</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i> e <i>Enterococcus spp.</i>	Sgariglia et al. (2011)
Extrato de <i>Callistemon linearis</i>	<i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Sarcina lutea</i> , <i>E.coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>A. niger</i>	Haque et al. (2013)
Extrato de <i>Zeyheria tuberculosa</i>	<i>S. aureus</i>	Ramos et al. (2012)
Óleo essencial de <i>Litsea cubeba Pers.</i>	<i>S. aureus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i> e <i>A. niger</i> .	Saikia et al. (2013)

Conforme observado na Tabela 11, pode-se afirmar, de maneira geral, que pesquisas envolvendo o efeito antimicrobiano de substâncias naturais englobam em sua maioria, extratos de plantas e óleos vegetais. Na prática, a utilização de algumas dessas substâncias como inibidora de microrganismos muitas vezes não é viável em alimentos, devido às características sensoriais próprias que as mesmas apresentam, como forte aroma ou viscosidade inadequada.

Estudos abordando o efeito antimicrobiano de frutas e subprodutos de frutas (Tabela 12) ainda podem ser considerados escassos, sendo necessárias pesquisas abordando as atividades antimicrobianas desses produtos e subprodutos, a fim de utilizar os mesmos como substâncias conservadoras naturais, reduzindo as perdas de vegetais, aumentando a oferta e incrementando a economia do país.

Tabela 12 - Efeito antimicrobiano de frutas e subprodutos de frutas.

Fruta/subproduto	Microrganismo	Autor
Suco de cranberry	<i>L. monocytogenes</i>	Côte et al. (2011)
Polpa de ata	<i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> e <i>S. thypi</i>	Ahmad; Sultana (2003)
Extrato de araçá	<i>S. enteritidis</i>	Medina et al. (2011)
Extrato de jabuticaba	<i>S. aureus</i>	Haminiuk et al. (2011)
Extrato de romã	<i>S. aureus</i>	Braga et al. (2005)
Semente de uva	<i>L.monocytogenes</i> , <i>S.typhimurium</i> , <i>E.coli</i> O157:H7 e <i>C.jejuni</i>	Perumalla; Hettiarachchy (2011)

Figo	<i>C. albicans</i>	Debib et al. (2013)
Casca de uva	<i>S. aureus, B. cereus, E. coli O157:H7, S. Infantis, C. coli</i>	Katalinic et al. (2010)
Casca de romã	<i>L. monocytogenes, S. aureus, E. coli e Y. enterocolitica.</i>	Al-Zoreky (2009)
	<i>S. Enteritidis e A. Parasiticus</i>	Orak; Dermici e Gumus (2011)
Casca de limão	<i>B. subtilis, C. utilis e B. cereus.</i>	Mahmud et al. (2009)
Caroço de manga	<i>E. coli</i>	Abdalla et al. (2007)
Casca verde de noz	<i>S. aureus</i>	Oliveira et al. (2008)
Casca de maçã	<i>L.monocytogenes</i>	Du et al. (2011)

### 3.5 Nanotecnologia aplicada a alimentos

A nanotecnologia é uma área interdisciplinar que inclui conhecimentos de física, química e biologia (NEETHIRAJAN, JAYAS, 2011). Relacionada ao design, produção e uso de estruturas de tamanho e formas controladas (MORRIS, 2011), envolve a manipulação da matéria em escala muito pequena (geralmente entre 1 e 100 nanômetros), explorando novas funções e propriedades que ocorrem nessa escala (CUSHEN et al., 2011). A utilização desta tecnologia no processamento de alimentos é bastante importante, tendo em vista que muitos elementos comuns se comportam de maneira diferente nas escalas atômica e molecular do que quando utilizados na forma convencional (partículas maiores) (CUSHEN et al., 2011).

Dessa forma, a nanoencapsulação pode fornecer várias vantagens ao alimento, como proteção a ingredientes sensíveis em condições ambientais desfavoráveis, eliminação de incompatibilidades (solubilização) e mascaramento de características sensoriais desagradáveis (FATHI, MOZAFARI, MOEHBBI, 2012), visando aumentos potenciais na qualidade e propriedades funcionais dos alimentos (CUSHEN et al., 2011).

A nanotecnologia vem apresentando importância fundamental também no que diz respeito à agricultura, podendo estar presente nos estágios de produção, processamento, armazenamento, embalagem e transporte de produtos agroindustriais (MOUSAVI, REZAEI, 2011).

Rápidos avanços na nanotecnologia, nos últimos anos, têm aberto novas perspectivas para setores industriais e de consumo de alimentos, incluindo a redução do uso de conservantes, sal, gordura e surfactantes em produtos alimentícios; desenvolvimento de novos sabores e texturas, melhoria da absorção e biodisponibilidade de nutrientes e suplementos alimentares (CHAUDRY, CASTLE, 2011). Outras utilizações da nanotecnologia em alimentos envolvem a utilização em embalagens poliméricas, com redução do peso das

mesmas, além de aumento da resistência mecânica, mantendo a qualidade e aumentando o tempo de armazenamento do produto. Revestimentos antimicrobianos também têm sido testados (CHAUDRY, CASTLE, 2011), assim como a utilização da nanotecnologia na identificação de bactérias (NEETHIRAJAN, JAYAS, 2011).

Atualmente, diversos estudos têm sido realizados a fim de desenvolver produtos e comprovar os benefícios da utilização da nanotecnologia. Mehravar, Jahanshahi e Saghatoleslami (2009) nanoencapsularam  $\alpha$ -lactoalbumina.

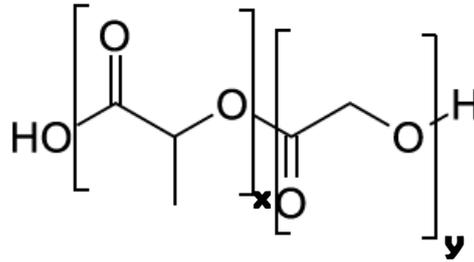
Hu et al. (2011) avaliaram a influência da utilização de embalagens adicionadas de nanocompósitos na qualidade pós-colheita de kiwi, observando diferentes alterações positivas para a qualidade pós-colheita do fruto, como redução da permeabilidade de oxigênio e vapor de água, redução do amaciamento e perda de peso do fruto além da inibição da germinação de esporos. Llores et al. (2011) descrevem que a adição de alguns nanocompósitos metálicos na embalagem de alimentos pode reduzir a fotodegradação da embalagem, inserindo também atividade antimicrobiana contra determinados microrganismos.

Joe et al. (2011) desenvolveram uma formulação baseada em nanoemulsão a partir de óleos de mamona, girassol coco, amendoim e gergelim; constatando atividade antimicrobiana contra *Salmonella typhi*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e antifúngica contra *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus niger* e *Penicillium* sp, para alimentos como carne de frango crua, suco de maçã, leite e vegetais, apresentando redução das culturas bacterianas e fúngicas.

A utilização de extratos de frutas tropicais para nanoencapsulação pode apresentar-se bastante interessante devido ao possível sinergismo observado entre os diversos compostos presentes nos extratos, que pode aumentar as propriedades bioativas e atividade antimicrobiana, quando comparado ao composto isolado, que normalmente é utilizado para estudos visando nanoencapsulação de compostos bioativos.

O poli (D, L-lactídeo-co-glicolídeo) (PLGA) (Figura 4), é um co-polímero formado por lactídeo e glicolídeo. Esses dois monômeros são considerados biodegradáveis e são liberados na hidrólise do PLGA e considerados facilmente metabolizados pelo corpo, nas mitocôndrias, via ciclo de Krebs, apresentando uma toxicidade mínima em fármacos ou na aplicação de biomateriais (KUMARI; YADAV; YADAV, 2010; DANHIER et al, 2012).

Figura 4. Representação estrutural do poli (D, L lactídeo-co-glicolídeo) (PLGA). X= número de unidades de lactídeo e y= número de unidades de glicolídeo.



FONTE: AUTORA.

Dependendo da composição de lactídeo e glicolídeo, diferentes formas de PLGA podem ser obtidas, apresentando solubilidades diferentes (ASTETE, SABLIOV, 2006) e influenciando também no tempo de degradação do polímero (PROKOP; DAVIDSON, 2008; VERT; MAUDUIT, 1994).

As formas de PLGA são normalmente identificadas pela razão dos monômeros utilizados. Por exemplo, PLGA 50:50 apresenta um co-polímero que tem em sua composição 50% de lactídeo e 50% de glicolídeo (DANHIER et al., 2012).

Quando ingeridas, inicialmente, dependendo das características das partículas, o corpo reconhece as mesmas como corpo estranhos, onde são transmitidas pelo sangue ao fígado e ao baço. Nanopartículas que apresentam cargas positivas escapam dos lisossomos e podem ser internalizadas pelas células. As nanopartículas de PLGA inicialmente apresentam cargas negativas, tendo sua carga alterada para positiva através de modificação em sua superfície, sendo então capazes de serem internalizadas pela célula através de transporte em quantidade (FOGED et al., 2005; VASIR; LABHASETWAR, 2008).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Matéria-prima

As frutas utilizadas neste estudo foram provenientes da cidade de Fortaleza/CE (com exceção da pitanga, que foi adquirida na Bahia), Brasil, colhidas e processadas durante o ano de 2011. Foram utilizadas as polpas e subprodutos provenientes da mesma fruta.

Após lavagem em água corrente, para remoção das sujidades superficiais, as frutas foram imersas em solução de 200 ppm de cloro, drenadas e submetidas a secagem natural. Os frutos foram então despulpados industrialmente pela mesma indústria fornecedora das polpas, sendo separadas as polpas e os subprodutos para as análises.

Foram utilizadas polpas comerciais das seguintes frutas: abacaxi (*Ananas comosus*), acerola (*Malpighia emarginata* D.C.), pitanga roxa (*Eugenia uniflora* L.), cajá (*Spondias mombin* L.), caju (*Anacardium occidentale* L.), goiaba (*Psidium guajava*), graviola (*Annona muricata* L.), mamão (*Carica papaya* L.), manga (*Mangifera indica* L.), maracujá (*Passiflora edulis* Sims.), sapoti (*Manikara zapota* L.) e tamarindo (*Tamarindo indica* L.).

Os subprodutos utilizados foram provenientes do processamento das polpas (despulpamento), sendo utilizados subprodutos de: abacaxi (casca e bagaço), acerola (semente), caju (película e bagaço), goiaba (casca, bagaço e semente), graviola (bagaço e semente), mamão (casca, bagaço e semente), manga (casca e bagaço), maracujá (semente), sapoti (casca, bagaço e semente).

As matérias-primas utilizadas não foram submetidas a tratamento térmico, adição de água e/ou conservantes, acondicionadas em recipientes de polietileno hermeticamente fechados e armazenados sob congelamento até o momento das análises.

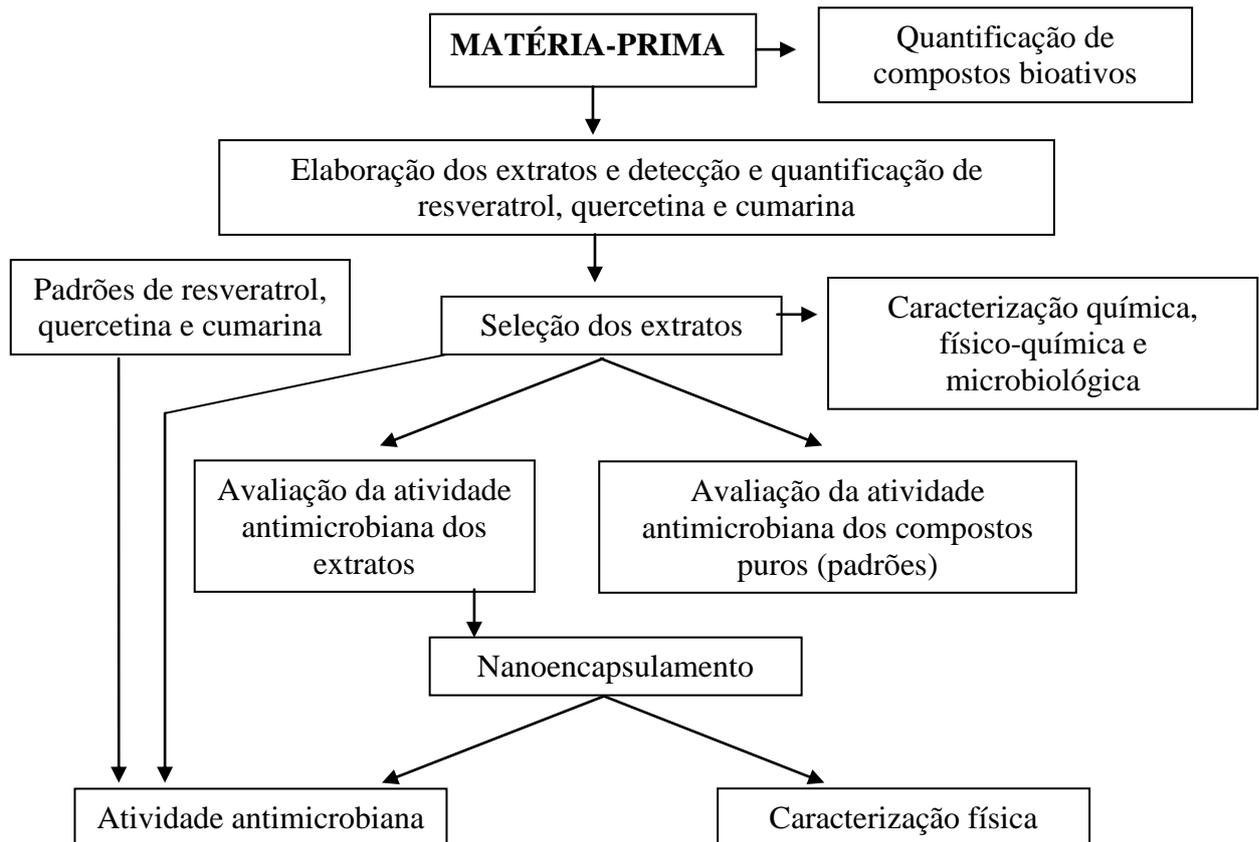
### 4.2 Reagentes e padrões

Os padrões de resveratrol, quercetina e cumarina, assim como os solventes utilizados para as análises de identificação e quantificação dos compostos (acetonitrila e metanol grau CLAE) foram obtidos da Sigma Aldrich (Steinheim, Germany).

### 4.3 Planejamento experimental

O experimento foi desenvolvido em cinco etapas distintas, apresentadas na Figura 5 e descritas abaixo:

Figura 5. Fluxograma de desenvolvimento da pesquisa.



FONTE: AUTORA.

#### 4.3.1 Etapa 1: Avaliação dos componentes bioativos das polpas e dos subprodutos de frutas tropicais.

Nesta etapa, as polpas e os subprodutos de frutas tropicais foram analisados quanto ao conteúdo de compostos fenólicos totais, carotenóides totais, antocianinas e flavonóides amarelos em todas as amostras.

#### **4.3.2 Etapa 2: Identificação e quantificação de quercetina, resveratrol e cumarina em polpas e subprodutos de frutas tropicais.**

Esta etapa teve por objetivo elaborar os extratos das polpas e os subprodutos de frutas tropicais e determinar os teores de resveratrol, quercetina e cumarina.

#### **4.3.3 Etapa 3: Caracterização química, físico-química e microbiológica das polpas e subprodutos de frutas tropicais**

Após a etapa 2, foram selecionadas as amostras (polpas e subprodutos de frutas), que foram então submetidas à caracterização química, físico-química e microbiológica. A caracterização química e físico-química foi realizada através das análises de pH, conteúdo de sólidos solúveis (°Brix), acidez titulável e açúcares totais. Essas análises foram realizadas visando a possível correlação destes dados com o encapsulamento das amostras. Para as análises microbiológicas foram realizadas análises de coliformes fecais, bolores e leveduras, aeróbios mesófilos e *Listeria* sp.

#### **4.3.4 Etapa 4: Nanoencapsulação e caracterização das nanopartículas de extratos fenólicos das polpas e dos subprodutos de frutas tropicais selecionados**

Nesta etapa foi realizado a nanoencapsulação dos extratos fenólicos das amostras que apresentaram maiores teores de resveratrol, quercetina e cumarina, utilizando como matriz o copolímero (D, L lactídeo-co-glicolídeo) (PLGA). Levando em consideração a facilidade de degradação que os compostos fenólicos apresentam, assim como a baixa solubilidade em solventes polares, esta etapa teve como objetivo nanoencapsular esses compostos, visando melhorar sua aplicabilidade em alimentos.

Foram realizadas análises de tamanho de partícula, polidispersidade, eficiência do encapsulamento e análise de liberação controlada.

#### **4.3.5 Etapa 5: Análise da atividade antimicrobiana dos extratos fenólicos de frutas tropicais puros e nanoencapsulados, bem como dos padrões fenólicos**

Nesta etapa determinou-se a atividade antimicrobiana dos extratos fenólicos referentes às amostras que apresentaram maiores teores dos compostos fenólicos, bem como após o encapsulamento. A atividade antimicrobiana foi relacionada a microrganismos patogênicos, sendo determinada a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) para *Listeria monocytogenes* e *E coli* K12. Também foi avaliada a atividade antimicrobiana para os padrões de resveratrol, quercetina e cumarina.

#### **4.4 Metodologias utilizadas**

##### **4.4.1 Determinação dos teores de resveratrol, quercetina e cumarina**

Os teores de resveratrol, quercetina e cumarina foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

A identificação dos compostos foi realizada por comparação dos tempos de retenção e também a partir da co-injeção da amostra e padrão, para confirmação.

A obtenção dos extratos foi realizada a partir de testes iniciais e adaptação da metodologia, para cada composto fenólico estudado.

Para todos os compostos estudados, a quantificação foi realizada por padronização externa, utilizando padrão comercial de cada composto. As curvas de calibração foram construídas pela injeção em triplicata de soluções padrões de trabalho em cinco concentrações diferentes, cobrindo a faixa de concentração esperada das amostras.

Para a quantificação dos compostos fenólicos resveratrol, quercetina e cumarina, foram obtidas curvas de calibração (linearidade), preparadas a partir do padrão, através de diluições com metanol grau CLAE. Foram utilizadas cinco concentrações (2,6; 5,2; 10,4 e 20,8 mg/L) e as injeções para cada ponto foram realizadas em triplicata.

Foi realizada a validação do método, a partir da obtenção da linearidade, limite de detecção e limite de quantificação (RIBANI et al., 2004). Os padrões de resveratrol, quercetina e cumarina foram utilizados em uma concentração de 1mg/mL.

###### **4.4.1.1 Detecção e quantificação do resveratrol**

Os extratos de resveratrol foram obtidos pesando-se em béquer de 100mL, aproximadamente 5g de cada amostra, previamente liofilizada, e adicionado 60mL de uma

solução de etanol:água (50:50), a qual foi submetida, posteriormente, a aquecimento (60 °C) por 30 minutos, com constante agitação. Após aquecimento, os extratos foram filtrados e concentrados em evaporador rotativo, sendo então transferidas para balão de 5mL, aferidos com metanol grau CLAE .

Para identificação e quantificação dos teores de resveratrol nos extratos de polpas e subprodutos de frutas tropicais, foi utilizada metodologia descrita por Sautter et al. (2005), com modificações. As análises foram conduzidas em cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu (CLAE), controlado pelo Software LC Solution, injetor manual com bomba de volume 20µL, modelo LC-20DA, a temperatura de 50 °C, ajustada através de forno modelo CTO-20A e detector de UV-VIS modelo SPD-20A. A detecção do resveratrol foi realizada a 306 nm. Foi utilizada uma coluna Nova Pack C<sub>18</sub> (CLC-ODS, 3µm; 4,6mm x 25cm). A fase móvel utilizada foi preparada com água grau MilliQ acidificada com ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), até pH 2,9 (solução A) e acetonitrila (solução B), na proporção 75A:25B (isocrática) e com tempo de corrida de 15 minutos, sendo injetado volume de 20µL a uma vazão de 1,5 mL/min. As injeções foram realizadas em triplicata.

#### 4.4.1.2 Detecção e quantificação da quercetina

Os extratos de quercetina das amostras foram elaborados segundo metodologia descrita por Wach; Pyrynska e Biesaga (2007), com adaptações. Foram pesados em béquer de 100mL aproximadamente 1,25g de cada amostra, previamente liofilizada, a fim de se obter uma concentração final de 250 mg/mL. Foram adicionados 60mL de etanol P.A. e a amostra foi homogeneizada e submetida a aquecimento por 30 minutos, com constante agitação e com controle da temperatura (< 60 °C), a fim de não submeter a amostra à ebulição. Após aquecimento, foi realizada uma filtração da amostra, com o auxílio de papel de filtro, e o filtrado foi submetido à rotaevaporação a 70 °C. A amostra concentrada foi transferida para um balão volumétrico de 5mL, aferido com metanol grau CLAE. Após o preparo, os extratos foram armazenados em frascos de vidro, ao abrigo de luz, até a realização das análises. Os extratos foram filtrados para injeção em CLAE em membrana marca Millipore de 0,22 µm.

As análises foram conduzidas em cromatógrafo líquido de alta eficiência marca Shimadzu (CLAE), controlado pelo Software LC Solution, injetor manual com bomba de volume 20µL, bomba (modelo LC-20DA), temperatura de 40 °C, ajustada através de forno (modelo CTO-20A) e detector de UV-VIS (modelo SPD-20A). A detecção da quercetina foi

realizada a 350nm. Foi utilizada uma coluna Nova Pack C<sub>18</sub> (CLC-ODS, 3µm; 4,6mm x 25cm).

Foi utilizada um programa tipo gradiente, representada na Tabela 13.

Tabela 13 - Programa de gradiente (CLAE) para a determinação e quantificação de quercetina em polpas e subprodutos de frutas tropicais.

Tempo (min)	Eluente A (% v/v)	Eluente B (% v/v)
0,01	20	80
12,00	20	80
17,00	40	60
23,00	40	60
25,00	20	80
40,00	20	80

Eluente A: acetonitrila; Eluente B: solução tampão pH 2,8 (ácido fosfórico).

A fase móvel utilizada foi preparada com água deionizada MilliQ acidificada com ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) até pH 2,8 (Solução A) e acetonitrila (solução B), com tempo de corrida de 40 minutos, volume injetado de 20µL e vazão de 1,00 mL/min. Foi utilizado programação gradiente, conforme descrito na Tabela 13. As injeções foram realizadas em triplicata.

Inicialmente foram realizadas da solução injeções do padrão de quercetina, a fim de comparar as amostras e realizar a identificação dos compostos, a partir do tempo de retenção. O padrão foi preparado utilizando 5mg de quercetina, dissolvido em metanol em balão para 10mL (concentração de 0,5mg/mL).

#### 4.4.1.3 Detecção e quantificação da cumarina

A metodologia para a análise cumarina foi adaptada da metodologia descrita por Celeghine, Vilegas e Lanças (2001), com modificações. Os extratos foram preparados inicialmente a partir de maceração das amostras com uma solução hidroalcolica (1:1 v/v). As soluções foram deixadas em repouso por 24 horas à temperatura ambiente (25 °C ± 1 °C) e filtradas em papel de filtro, sendo então submetidas à congelamento, até o momento das análises.

As análises cromatográficas foram realizadas utilizando cromatógrafo líquido de alta eficiência marca Shimadzu (CLAE), controlado pelo Software LC Solution, injetor

manual com bomba de volume 20 $\mu$ L, bomba (modelo LC-20DA), temperatura de 30 °C, ajustada através de forno (modelo CTO-20A) e detector de UV-VIS (modelo SPD-20A). A detecção da cumarina foi realizada a 274 nm, utilizando uma fase isocrática acetonitrila:água (40:60 v/v). Foi utilizada uma coluna Nova Pack C<sub>18</sub> (CLC-ODS, 3 $\mu$ m; 4,6mm x 25cm).

#### **4.4.2 Determinações químicas e físico-químicas e quantificação dos compostos bioativos**

##### **4.4.2.1 pH**

O pH foi determinado através de leitura direta, em potenciômetro (marca WTW, modelo 330i/SET), conforme metodologia descrita por IAL (2008).

##### **4.4.2.2 Sólidos solúveis (SS)**

As determinações dos sólidos solúveis (SS) foram feitas em refratômetro digital (ATAGO PR-1010) com escala de 0 a 45 °Brix e compensação de temperatura, através de leitura direta para as amostras e, após filtração, em papel de filtro qualitativo, para os subprodutos. Os resultados foram expressos em °Brix, de acordo com IAL (2008).

##### **4.4.2.3 Acidez titulável (ATT)**

Para determinação da acidez titulável (AT), inicialmente, foram pesados cerca de 1,0 g de polpa ou subproduto, sendo adicionados 50mL de água destilada e 2 a 3 gotas de fenolftaleína, utilizada como indicador. Em seguida, foi feita a titulação com solução de NaOH 0,1 M até mudança de cor para róseo claro permanente. Os resultados foram expressos em percentagem de ácido cítrico, segundo metodologia descrita pelo IAL (2008).

##### **4.4.2.4 Açúcares totais (AT)**

O conteúdo de açúcares totais foi determinado através da técnica que utiliza o reagente DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico), conforme metodologia descrita por Miller (1959). O extrato foi obtido a partir da diluição de 2 g de amostra em 40 mL de água destilada. Em seguida, a mistura foi submetida a tratamento térmico em banho-maria à temperatura de 60 a 70 °C por 5 minutos. As amostras foram transferidas individualmente para balão volumétrico

de 100 mL, o qual foi aferido com água destilada, sendo realizada homogeneização e filtração em papel de filtro qualitativo. Foi realizada uma inversão ácida a partir do extrato de açúcar redutor. Foram adicionados, para cada amostra, 2 mL de ácido clorídrico P.A. em 25 mL do extrato de açúcar redutor, que foi submetido a banho-maria entre 70 a 80 °C/30 minutos, seguido de imediato resfriamento em banho de gelo. Em seguida, a solução foi neutralizada utilizando NaOH 20%, com auxílio de papel de pH, tendo como padrão água. A amostra foi transferida para balão volumétrico de 50 mL, o qual foi aferido com água destilada, obtendo-se o extrato de açúcar total.

Em tubos de ensaio, foram adicionados 1 mL do extrato, 1 mL do reagente DNS, seguido de agitação e aquecimento em banho-maria a 100 °C/5 minutos e imediato resfriamento em banho de gelo. Foi adicionado a cada tubo 7,5 mL de água destilada e a leitura foi realizada em espectrofotômetro (marca SHIMADZU, modelo UV-1800), no comprimento de onda de 540 nm, sendo obtida a absorbância para cada amostra, que foi inserida em uma curva padrão de glicose, obtendo-se a concentração de açúcar, conforme descrito na metodologia. As concentrações obtidas foram utilizadas para a determinação dos teores percentuais de açúcar total, através da equação:

$$\% \text{ Açúcares totais} = \text{Concentração} / (\text{volume da alíquota} \times \text{peso da amostra} \times 50)$$

#### **4.4.2.5 Equivalente de $\beta$ -caroteno e licopeno**

O conteúdo de  $\beta$ -caroteno e de licopeno foram obtidos de acordo com metodologia descrita por Nagata e Yamashita (1992). Em um tubo de ensaio de 25 mL foram pesados 1g de polpa ou do subproduto de fruta, sendo adicionado ao mesmo 10 mL de uma solução extratora contendo acetona:hexano (4:6), submetido então a agitação por 1 minuto. Após agitação, a solução foi filtrada com auxílio de papel de filtro e transferida imediatamente para outro tubo de ensaio, sendo submetida a leitura em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 453nm, 505nm, 645nm e 663nm. O resultado foi expresso em  $\mu\text{g}$  de equivalente de  $\beta$ -caroteno e licopeno/100g de amostra.

#### **4.4.2.6 Polifenóis extraíveis totais**

Os polifenóis extraíveis totais foram determinados através do método de *Folin-Ciocalteu*, utilizando ácido gálico como padrão, conforme metodologia descrita por Larrauri;

Rupérez e Saura-Calixto (1997). A extração foi realizada usando 5 a 25 g de amostra, dependendo da polpa ou do subproduto, posteriormente foi adicionado 40 mL da solução de etanol 50% (primeira solução extratora). A mistura obtida foi homogeneizada, deixada em repouso por 1 hora a temperatura ambiente e protegida da luz. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 3.000 rpm por 15 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante obtido foi filtrado e colocado em um balão volumétrico de 100 mL protegido da luz. Ao precipitado foi adicionado 40 mL de uma solução de acetona 70% (segunda solução extratora), ficando em repouso por mais 1 hora, sob proteção da luz, posteriormente homogeneizada e centrifugada a 3.000 rpm por 15 minutos. O segundo sobrenadante obtido foi misturado ao primeiro no mesmo balão de 100 mL, o qual foi aferido com água destilada, obtendo-se assim o extrato para determinação dos polifenóis extraíveis totais.

Em tubos de ensaio foram adicionadas alíquotas variando de 0,025 a 0,05  $\mu\text{L}$  dos extratos (dependendo da amostra), sendo adicionado água destilada para completar o volume para 0,5 mL. Foram então adicionados 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu (1:3), 1,0 mL de  $\text{NaCO}_3$  e 1,0 mL de água destilada. Os tubos de ensaio foram homogeneizados em agitador tipo vortex para homogeneização e deixados em repouso fora do alcance da luz, por 30 minutos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (marca SHIMADZU, modelo UV-1800) a 700 nm, usando como referência uma curva padrão de ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico (AG).100  $\text{g}^{-1}$  de amostra.

#### 4.4.2.7 Antocianinas totais e Flavonóides amarelos

Foram determinadas segundo a metodologia descrita por Francis (1982). No procedimento 1 mL da amostra foi homogeneizado com solução HCl 1,5 N e etanol 85% para sua extração. As amostras foram homogeneizadas e o conteúdo transferido para um balão volumétrico de 50 mL ao abrigo da luz, o qual foi aferido com a solução extratora, homogeneizado e transferido para frasco âmbar. O sistema foi submetido a 13 horas de repouso sob refrigeração e na ausência de luz. Após esse período o extrato foi filtrado em papel de filtro qualitativo, e submetido a leitura em espectrofotômetro (marca SHIMADZU, modelo UV-1800) a 535 nm para antocianinas totais e 374 nm para flavonóides amarelos. Os resultados foram expressos em mg.100  $\text{mL}^{-1}$  e calculados através da equação:

$$\text{Antocianinas totais (mg.100 mL}^{-1}\text{)} = (\text{absorbância} \times \text{diluição} \times 100) / \text{peso} \times 98,2.$$

$$\text{Flavonóides amarelos (mg.100 mL}^{-1}\text{)} = (\text{absorbância} \times \text{diluição} \times 100) / \text{peso} \times 76,6.$$

#### **4.4.3 Metodologias para avaliações microbiológicas**

As avaliações microbiológicas realizadas nas amostras selecionadas foram feitas conforme metodologia recomendada pelo APHA (2001) e SILVA et al. (2001).

##### **4.4.3.1 Coliformes a 35 °C e 45 °C**

Para a análise de coliformes, inicialmente foram selecionadas três diluições ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ) de cada amostra, as quais foram inoculadas em uma série de três tubos de caldo lactosado por diluição, adicionando-se 1,0 mL da diluição por tubo. Os tubos de caldo lactosado foram incubados a 35 °C por 24 a 48 horas. Após o período de incubação, foram obtidos os resultados com base na formação de gás dentro dos tubos.

Havendo a presença de gás nos tubos de Duhan, uma alçada bem carregada do material de cada tubo de ensaio foi transferida para um tubo contendo caldo *E. coli* (EC), sendo estes incubados em banho-maria a 45,5 °C por 24 horas. A produção de gás dentro dos tubos indica contagem de coliformes a 45 °C, e nesse caso, os resultados foram obtidos em uma Tabela de número mais provável (NMP) e expressos em NMP/g de amostra.

##### **4.4.3.2 Bactérias aeróbias mesófilas**

Para a análise de bactérias aeróbias mesófilas, inicialmente foi realizada uma diluição, tomando-se 25 g de cada polpa e diluindo-se para 1:10 e 1:100, separadamente. Em seguida, 0,1 mL de cada diluição foi adicionado em placas contendo o meio de cultura “Ágar Padrão para Contagem” (PCA). As placas foram incubadas invertidas em estufa a 35 °C/48h. Os resultados foram expressos em Unidade Formadora de Colônia por grama de amostra (UFC/g).

##### **4.4.3.3 Bolores e leveduras**

Para a análise de bolores e leveduras, foi utilizado o método de diluição e plaqueamento em superfície em meio “Potato Dextrose Agar” (PDA), acidificado com ácido tartárico (10%), a partir de 25 mL de cada amostra em diluições de 1:10 e 1:100 em água peptonada. A incubação foi feita em estufa a 25 °C/5 dias. Os resultados foram expressos em Unidade Formadora de Colônia por grama de amostra (UFC/g).

#### 4.4.3.4 *Salmonella* spp.

Inicialmente foi realizada uma homogeneização das amostras a serem analisadas. Para cada amostra foi pesado, assepticamente, 25 gramas, o qual foi transferido para um frasco contendo 225 mL de caldo lactosado, previamente preparado e esterilizado e incubado em estufa a 35 °C/24 horas. Após o período de incubação, o frasco foi cuidadosamente agitado, sendo transferido 1,0 mL do seu conteúdo para tubos contendo 10 mL de caldo Tetracionato, o qual foi incubado a estufa a 35 °C/24 horas e 0,1 mL para tubos contendo Caldo Rappaport-Vassiliadis modificado (RV), incubando-se em banho-maria a 42 °C/24 horas. Após o período de incubação, os tubos foram agitados e, em seguida, foi transferida uma alçada de cada caldo para placas contendo Ágar Entérico de Hectoen (HE) e para placas contendo Ágar Xilose Lisina Desoxicicolato (XLD) e Agar sulfito-bismuto, que foram posteriormente, incubadas invertidas em estufa a 35 °C/24 horas. As colônias suspeitas de *Salmonella* spp foram transferidas para TSI e LIA e incubadas a 35 °C por 24 horas. Os tubos com reações típicas foram submetidas a testes sorológicas e bioquímicos.

#### 4.4.3.5 *Listeria* spp.

Foram transferidas 25 g de cada amostra para 225 mL de Caldo de Enriquecimento para *Listeria* Tamponado (BLEB), previamente preparado e esterilizado, sendo posteriormente incubado em estufa bacteriológica a 30 °C/48 h.

Após a incubação, o inóculo foi estriado em placa por esgotamento no meio Ágar Oxford (OXA) e meio Ágar *Listeria* de Ottaviani e Agosti (ALOA), sendo incubado a 35 °C/24-48 h. Decorrido o tempo de incubação, foram selecionadas pelo menos cinco colônias típicas de ambas as placas, e em seguida submetidas à realização de testes bioquímicos que compreenderam: Catalase, Gram, motilidade, hemólise e testes de fermentação de carboidratos (Dextrose, Ramnose, Xilose, Manitol e Maltose).

#### **4.4.4 Síntese e caracterização das nanopartículas de PLGA contendo extratos fenólicos das frutas tropicais**

Para a síntese das nanopartículas foi utilizada metodologia descrita por Ganea et al. (2010) e Quintanar-Guerrero (1998). Os extratos fenólicos das polpas e dos subprodutos selecionados, considerando as amostras com maiores teores de resveratrol, quercetina e cumarina (subproduto de goiaba, polpa de acerola e subproduto de maracujá, respectivamente) foram nanoencapsulados a partir de uma matriz de poli (D, L-lactídeo-co-glicolídeo), com duas diferentes concentrações de lactídeo e glicolídeo PLGA 50:50 e 65:35, através do método de evaporação-emulsificação.

Inicialmente, os extratos foram dissolvidos em etanol P.A. e o PLGA em diclorometano P.A. Após a solubilização, a solução que continha o extrato foi adicionada à solução de PLGA, formando uma fase orgânica. Em seguida, a mistura foi adicionada, gota a gota, a uma solução de PVA 10% utilizando um homogeneizador a 20.000 rpm por 4 minutos. A emulsão foi submetida a sonicação, utilizando um sonicador tipo banho, em temperatura ambiente, por 30 minutos. Posteriormente o solvente foi removido da solução com auxílio de evaporador rotativo sob vácuo. A solução foi submetida a ultrafiltração até volume final de 50mL e submetidas a congelamento e posterior liofilização, sendo em seguida armazenadas sob congelamento, utilizando-se um dessecador, até o momento da caracterização.

Também foram elaboradas nanopartículas controle de acordo com o mesmo procedimento descrito acima, porém, sem adição dos extratos à fase orgânica.

A caracterização das nanopartículas foi realizada através de análises de tamanho e polidispersidade, eficiência do encapsulamento e análise de liberação controlada.

Para a análise de tamanho de partícula e índice de polidispersidade, suspensões aquosas de nanopartículas foram analisadas utilizando o equipamento Delsa™ Nano C Particle Analyzer (Beckman Coulter, Brea, 129 CA). Nanopartículas foram dissolvidas em água destilada, a uma concentração de 10 mg/mL e sonicadas por 20 minutos antes das análises. As análises foram realizadas utilizando cubetas de plástico de 1 cm, utilizando um ângulo de 165°, e índice de refração de 1,3328, por 120 tempos de acumulação contínuos. As suspensões aquosas de nanopartículas foram examinadas através de microscopia de transmissão eletrônica, utilizando o equipamento FEI Morgagni Transmission Electron Microscope (TEM) (FEI Company, Hillsboro, OR). As análises foram realizadas na Escola de Medicina Veterinária e Ciência Biomédica da Universidade Texas A&M (College Station, TX). Suspensões aquosas de partículas foram dispostas em filme de 300 mesh e umedecidas

com uma solução aquosa de acetato de uranila 2% (w/v) (Electron Microscopy Sciences, Hatfield, PA), a fim de promover o ideal contraste para magnificação das partículas. O excesso de líquido foi removido utilizando papel de filtro e as amostras foram secas a temperatura ambiente antes das análises, realizadas utilizando magnificações de 50,000-100,000 vezes. As observações foram realizadas a 80 kV.

Para a eficiência do encapsulamento, inicialmente as nanopartículas foram dissolvidas em solução de etanol 95% (w/v), sendo primeiro adicionado água destilada, até completa dissolução, seguido do volume de etanol, a fim de completar a proporção utilizada. A solução foi homogeneizada e deixada em repouso por 72 horas. Decorrido o tempo, as amostras foram filtradas em filtros de seringa contendo membrana de nylon a 0,2 µm (VWR International, Radnor, PA), a fim de remover o excesso de PLGA e PVA. O teor de compostos foi medido utilizando espectrofotômetro (Shimadzu UV-1601 spectrophotometer, Columbia, MA) a 274 (cumarina), 306 (resveratrol) ou 350 nm (quercetina), em cubetas de quartzo de 1 cm. A eficiência do encapsulamento foi calculada de acordo com a seguinte equação (Gomes et al., 2011):

$$EE (\%) = (\text{teor de composto bioativo encapsulado} / \text{teor inicial de composto bioativo antes da encapsulação}) \times 100$$

As análises de liberação controlada foram conduzidas a fim de observar a taxa de liberação dos compostos fenólicos estudados a partir das partículas de PLGA e extratos fenólicos de frutas tropicais, conforme relatado por Zigoneanu et al. (2008). As nanopartículas foram dispersas em água e, em seguida foi adicionado o meio de liberação, a fim de obter uma concentração de 1,0 mg/mL de nanopartículas. O meio de liberação consistiu de solução tampão salina fosfato (PBS) a 0,15M e pH 7,4 e, após a adição das nanopartículas, alíquotas de 1mL por tubo da solução foram distribuídas em tubos eppendorf. Os tubos foram submetidos a banho com agitação (VWR International), o qual foi ajustado a 100 rpm e 35 °C. As amostras foram filtradas utilizando filtros de seringa com membrana de nylon de 0,2 µm e analisadas em relação ao teor de cada composto estudado, em tempos pré-determinados (15, 30, 45, 60, 90, 120, 240, 480, 720, 1440, 2280 e 25920 minutos), totalizando 72 horas de análise, através de leituras espectrofotométricas a 274 (cumarina), 306 (resveratrol) ou 350 nm (quercetina).

Foi utilizada uma equação empírica modificada para descrever a liberação dos extratos das nanopartículas elaboradas com PLGA (Ritger, Peppas 1987):

$$\frac{M(t)}{M_o} = b_1 * \exp(-k_1 t) + b_2 * \exp(-k_2 t) \quad (1)$$

Onde  $M(t)$  refere-se ao conteúdo de extrato presente na nanopartícula, (mg),  $t$  (horas) ao tempo de liberação e  $M_o$  ao conteúdo inicial de extrato das frutas (mg),  $b_1$ ,  $b_2$  (adimensional),  $k_1$  e  $k_2$  (1/h) são constantes. Os valores  $k_1$  e  $k_2$  são definidos como as constantes de liberação dos extratos das frutas (Hill et al, 2013).

#### 4.4.5 Avaliação da atividade antimicrobiana

As concentrações inibitórias mínimas (MIC) dos compostos fenólicos nanoencapsulados contra *Listeria* sp. e *E. coli* K12 foram determinadas utilizando o método de diluição, conforme metodologia descrita por Brandt *et al.* (2010), com modificações. Cada extrato foi dissolvido em 1 mL de etanol, sendo o volume completado para 10 mL com água destilada, seguido de homogeneização em vortex até completa dissolução. A concentração final das soluções antimicrobianas foi ajustada para se obter as variações de 50 a 7000 µg / mL.

Para cada microrganismo estudado, foi preparada uma suspensão bacteriana a  $10^5$  UFC/mL. Para a obtenção dessa suspensão, os microrganismos selecionados foram ressuspensos em tubos de ensaio contendo caldo TSB (*E.coli* K12) e TPB (*Listeria monocytogenes*) estéreis, incubados a estufa bacteriológica a 35°C/24 horas. Decorrido o período de incubação, foi retirada uma alçada de cada tubo, sendo realizado o mesmo procedimento, incubando o tubo por mais 24 horas. Decorrido o período de incubação, a suspensão microbiana foi submetida a centrifugação a 4000 rpm por 15 minutos e lavagem com água peptonada estéril (0,1%), por três vezes, sendo então ressuspensa em caldo TSB ou TPB estéril. A partir dessa suspensão foram realizadas as diluições em água peptonada a 0,1%, a fim de se obter a concentração final de  $10^5$  UFC/mL. A concentração inicial da suspensão bacteriana foi obtida a partir da realização da curva de crescimento microbiano, para cada microrganismo, a qual foi realizada a partir de leitura espectrofotométrica a 600 nm por 30 horas com leituras realizadas a cada 60 minutos.

Após o preparo da suspensão microbiana, 1 mL desta suspensão foi adicionado à cubetas estéreis, seguido da adição de 1mL da solução antimicrobiana (extratos). Em

seguida, as cubetas foram seladas com parafilme e foi realizada leitura espectrofotométrica a 600 nm, utilizando um espectrofotômetro UV-visível (Spectronic 20D +, Milton Roy Company, Rochester, NY, EUA). Após leitura, as amostras foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C/24 horas, sendo então realizada nova leitura espectrofotométrica. As amostras que apresentaram diferença entre as leituras menor que 0,05 foram consideradas com efeito inibitório, representando a concentração inibitória mínima (CIM).

Foi plaqueado uma alíquota de 0,1 mL dos tubos referentes à concentração inibitória mínima, assim como dos tubos contendo as concentrações maiores que esta alíquota, em em ágar Oxford (*Listeria monocytogenes*) ou TSA (*E. coli* K12). Após incubação das placas a 37 °C/24 horas, as amostras que não apresentaram crescimento microbiano foram consideradas por apresentarem efeito bactericida, representando a concentração bactericida mínima (CBM).

#### **4.5 Análise estatística**

Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Os resultados das análises químicas e físico-químicas foram avaliados através de análise de variância (ANOVA) e teste de médias por Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e expressos como média seguida de desvio padrão.

Além de expressos graficamente, os dados obtidos na análise de liberação controlada foram ajustados estatisticamente ao modelo descrito pela Equação 1, através do software JMP v.9 (SAS Institute, Cary, NC), a fim de obter por regressão linear, as constantes  $k_1$  e  $k_2$ . O ajuste dos parâmetros do modelo foram analisados através dos coeficientes de determinação ( $R^2$ ).

Os dados obtidos nas análises referentes ao efeito antimicrobiano do resveratrol, quercetina e cumarina foram expressos através das concentrações inibitória e bactericida mínima.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Etapa 1: Caracterização das polpas e dos subprodutos de frutas tropicais quanto ao conteúdo de compostos bioativos

Os resultados referentes aos conteúdos de compostos fenólicos totais de polpas e subprodutos de frutas tropicais são apresentados na Tabela 14.

As amostras avaliadas apresentaram-se como fontes de compostos fenólicos totais, obtendo-se conteúdos variando na faixa de 60,84 a 2441,34 mg GAE/100g de polpa ou subproduto.

De acordo com estudo realizado por Vasco, Ruales, Kamal-Eldin, 2008, as frutas tropicais analisadas com relação aos teores de polifenóis podem ser classificadas em três categorias: baixo teor (<100 mg GAE/100g), médio teor (100-500 mg GAE/100g) e alto teor (>500 mg GAE/100g). Dessa forma, as amostras analisadas podem ser classificadas como de médio e de alto teor de compostos fenólicos totais, em termos de valores, com exceção da polpa de sapoti, mamão, manga e maracujá e do subproduto do mamão, que apresentaram teores < 100mg AGE/ 100g.

Tabela 14. Teor de compostos fenólicos totais de polpas e subprodutos de frutas tropicais.

Frutas		Compostos fenólicos totais (mg GAE/100g base úmida)	
Nome comum	Nome científico	Polpa	Subproduto
Abacaxi	<i>Ananas comosus</i>	137,32 ± 11,28 dA	317,45 ± 25,67 dB
Acerola	<i>Malpighia emarginata</i> D.C.	1827,07 ± 50,22 aA	1195,14 ± 2,76 bA
Cajá	<i>Spondias mombin</i> L.	156,93 ± 7,9 4 d	Nr
Caju	<i>Anacardium occidentale</i> L.	700,46 ± 33,17 bA	1591,76 ± 89,47 aB
Goiaba	<i>Psidium guajava</i>	333,24 ± 21,58 cA	685,78 ± 2,78 cB
Graviola	<i>Annona muricata</i> L.	547,01 ± 22,56 cA	201,26 ± 3,12 deB
Mamão	<i>Carica papaya</i> L.	88,08 ± 9,85 dA	98,47 ± 3,19 eA
Manga	<i>Mangifera indica</i> L.	122,23 ± 4,22 dA	336,25 ± 45,32 dB
Maracujá	<i>Passiflora edulis</i> Sims.	116,65 ± 2,43 dA	277,67 ± 25,01 dB
Pitanga	<i>Eugenia uniflora</i> L.	420,65 ± 20,67 cA	1482,36 ± 35,82 aB
Sapoti	<i>Manikara zapota</i> L.	52,30 ± 5,00 dA	305,81 ± 52,59 dB
Tamarindo	<i>Tamarindo indica</i> L.	492,97 ± 28,48 c	nr

Resultados expressos em média ± desvio padrão (n=3). AGE= ácido gálico equivalente. nr: não realizado

A,B (maiúsculo) em uma mesma linha representam amostras significativamente diferentes (p<0,05), Tukey. letras (minúsculo) em uma mesma coluna representam amostras significativamente diferentes (p<0,05), Tukey.

As polpas de acerola, caju, tamarindo, graviola e pitanga roxa apresentaram maiores teores de compostos fenólicos totais, assim como os subprodutos de pitanga roxa, acerola, caju e goiaba (Tabela 14).

Os subprodutos de pitanga roxa, caju e goiaba, quando comparadas as polpas, com exceção dos subprodutos de acerola (que apresentou maior teor de compostos fenólicos na polpa), apresentaram elevados conteúdos de compostos fenólicos.

Almeida et al. (2011) avaliaram os teores de compostos bioativos presentes em polpas de frutas brasileiras, obtendo para compostos fenólicos totais (método utilizando o reagente de *Folin-Ciocalteu*) os seguintes teores: 29,0 mg GAE/100g para jaca, 53,2 mg GAE/100g para mamão, 38,1 mg GAE/100g para abacaxi e 83,8 mg GAE/100g para tamarindo, sendo estes resultados bastante inferiores aos obtidos neste estudo. Os frutos podem apresentar diferenças em seus constituintes devido à diversos fatores, tais como época do ano, clima, condições de cultivo e temperatura, o que explica a diferença obtida entre os autores citados e o presente estudo.

Bagetti et al. (2011) obtiveram teor de compostos fenólicos de 463 mg GAE/100g para polpa de pitanga roxa, valor próximo ao obtido no presente trabalho. Parashar; Badal (2011) quantificaram os teores de compostos fenólicos totais em sucos de laranja e romã, obtendo resultados de 22,0 e 112,3 mg/100g, respectivamente. Biegelmyer (2011) determinaram teores de compostos fenólicos totais de 292,03 mg/100g em polpa de goiaba amarela e 501,33g/100g em polpa de goiaba vermelha. Infante et al. (2013) avaliaram subprodutos de abacaxi, caju, maracujá e manga, obtendo teores de compostos fenólicos de 24,0; 106,7; 34,3 e 45,0 mgAGE/100g de matéria seca, respectivamente.

A Tabela 15 apresenta o conteúdo de  $\beta$ -caroteno nas polpas e nos subprodutos das frutas tropicais estudadas.

Em termos de valores, as amostras que apresentaram maiores teores deste composto foram as polpas de cajá, maracujá e manga. Para os subprodutos, a pitanga roxa apresentou destaque em relação ao teor deste pigmento quando comparada às demais amostras.

Não foi determinado  $\beta$ -caroteno para as polpas e subprodutos de graviola e sapoti. Para a goiaba e pitanga, não foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os teores de  $\beta$ -caroteno da polpa e o subproduto. As demais polpas de frutas analisadas apresentaram maiores teores de  $\beta$ -caroteno do que os subprodutos. As polpas e subprodutos de abacaxi, goiaba e tamarindo destacaram-se significativamente das demais, pelo menor conteúdo de  $\beta$ -caroteno.

Tabela 15. Teores de  $\beta$ -caroteno em polpas e subprodutos de frutas tropicais.

Frutas		$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ base úmida)	
Nome comum	Nome científico	Polpa	Subproduto
Abacaxi	<i>Ananas comosus</i>	5,94 $\pm$ 3,20 cA	17,78 $\pm$ 11,73 dB
Acerola	<i>Malpighia emarginata D.C.</i>	164,76 $\pm$ 93,79 abA	44,88 $\pm$ 15,96 bB
Cajá	<i>Spondias mombin L.</i>	241,16 $\pm$ 35,02 a	nr
Caju	<i>Anacardium occidentale L.</i>	60,18 $\pm$ 27,28 bcA	43,28 $\pm$ 17,31 bcB
Goiaba	<i>Psidium guajava</i>	10,08 $\pm$ 1,10 cA	9,21 $\pm$ 1,26 dA
Graviola	<i>Annona muricata L.</i>	nd	nd
Mamão	<i>Carica papaya L.</i>	141,12 $\pm$ 13,93 abcA	61,63 $\pm$ 0,00 bB
Manga	<i>Mangifera indica L.</i>	178,61 $\pm$ 66,46 abA	52,08 $\pm$ 55,93 B
Maracujá	<i>Passiflora edulis Sims.</i>	207,58 $\pm$ 68,31 abA	35,66 $\pm$ 13,62 cdB
Pitanga	<i>Eugenia uniflora L.</i>	166,26 $\pm$ 28,29 abA	126,97 $\pm$ 17,00 aA
Sapoti	<i>Manikara zapota L.</i>	nd	nd
Tamarindo	<i>Tamarindo indica L.</i>	0,64 $\pm$ 0,90 c	nr

Resultados expressos em média  $\pm$  desvio padrão (n=3). nr: não realizado, nd: não determinado

letras (maiúsculo) em uma mesma linha representam amostras significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ), Tukey.

letras (minúsculo) em uma mesma coluna representam amostras significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ), Tukey.

O subproduto de pitanga apresentou-se como uma excelente fonte de  $\beta$ -caroteno quando comparado aos outros subprodutos.

Teores similares de  $\beta$ -caroteno têm sido anteriormente relatados na literatura para diversas frutas tropicais (CHEN, TAI, CHEN, 2007; DIAS, CAMÕES, OLIVEIRA, 2009; SEGANTINI, et al., 2012). Silva et al (2013) avaliaram o teor de  $\beta$ -caroteno em polpa de acerola congelada, obtendo teores variando de 2349 a 37040  $\mu\text{g}/100\text{mL}$ .

Os resultados referentes aos teores de licopeno em polpas e subprodutos de frutas tropicais são apresentados na Tabela 16. As amostras que apresentaram licopeno em suas constituições foram as polpas de pitanga roxa, mamão, sapoti, goiaba e tamarindo. Em relação aos subprodutos das frutas, foi determinado teores de licopeno em subprodutos de pitanga roxa, mamão, sapoti e goiaba. As polpas de pitanga roxa e mamão apresentaram destaque quanto ao teor de licopeno, apresentando maiores teores.

Tabela 16. Teores de licopeno em polpas e subprodutos de frutas tropicais.

Frutas		Licopeno ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ base úmida)	
Nome comum	Nome científico	Polpa	Subproduto
Abacaxi	<i>Ananas comosus</i>	nd	nd
Acerola	<i>Malpighia emarginata D.C.</i>	nd	nd
Cajá	<i>Spondias mombin L.</i>	nd	nr
Caju	<i>Anacardium occidentale L.</i>	nd	nd
Goiaba	<i>Psidium guajava</i>	$6,77 \pm 1,30$ bA	$6,25 \pm 3,83$ aA
Graviola	<i>Annona muricata L.</i>	nd	nd
Mamão	<i>Carica papaya L.</i>	$144,77 \pm 78,04$ aA	$10,75 \pm 0,00$ aB
Manga	<i>Mangifera indica L.</i>	nd	nd
Maracujá	<i>Passiflora edulis Sims.</i>	nd	nd
Pitanga	<i>Eugenia uniflora L.</i>	$153,62 \pm 0,15$ aA	$79,24 \pm 20,47$ aB
Sapoti	<i>Manikara zapota L.</i>	$10,47 \pm 4,58$ bA	$10,59 \pm 0,64$ aA
Tamarindo	<i>Tamarindo indica L.</i>	$0,05 \pm 0,06$ b	nr

Resultados expressos em média  $\pm$  desvio padrão (n=3). nr: não realizado, nd: não determinado

A,B (maiúsculo) em uma mesma linha representam amostras significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

a,b (minúsculo) em uma mesma coluna representam amostras significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Todas as polpas e subprodutos analisados apresentaram baixas concentrações de licopeno quando comparados ao tomate, uma fruta bastante reconhecida quanto ao conteúdo desse carotenóide. Carvalho et al. (2005) analisaram diferentes híbridos de tomate e concluíram que o teor de licopeno nessas frutas variou de 8200 a 10500  $\mu\text{g}/100\text{g}$ .

Acerola e pitanga (polpas e subprodutos) apresentaram maiores teores ( $p < 0,05$ ) de antocianinas totais. Os subprodutos de caju, mamão, manga e maracujá apresentaram elevados teores ( $p < 0,05$ ) de antocianinas totais quando comparados aos obtidos nas suas respectivas polpas, o que pode ser considerada uma importante informação para o aproveitamento dessas matérias-primas na aplicação de suplementos nutricionais, aditivos na dieta e/ou produtos farmacêuticos.

Antocianinas não foram detectadas nas polpas de graviola e sapoti e no subproduto de sapoti (Tabela 17). Antocianinas são compostos responsáveis por muitas cores, variando entre vermelha, azul e lilás, presentes nas frutas. Esses compostos são especialmente abundantes em *berries*, como em *blueberries* e *blackcurrants* (KAHKONEN, HOPIA, HENONEN, 2001).

Com exceção da pitanga, os teores de antocianinas totais para as polpas de fruta foram considerados baixos quando comparados a *berries*, como morango (21  $\text{mg}/100\text{g}$ ), uvas vermelhas (27  $\text{mg}/100\text{g}$ ), *raspberries* vermelhas (92  $\text{mg}/100\text{g}$ ), cerejas (122  $\text{mg}/100\text{g}$ ) e

*blackberries* (387 mg/100g) (WU et al., 2006). Teores comparáveis de antocianinas totais foram observados em diferentes amostras de polpa de pêssego, com valores variando na faixa entre 0,002 a 0,34 mg/100g (SEGANTINI, LEONEL, LIMA, COSTA, RAMOS, 2012).

Tabela 17. Teores de antocianinas em polpas e subprodutos de frutas tropicais.

Frutas		Antocianinas (mg/100g base úmida)	
Nome comum	Nome científico	Polpa	Subproduto
Abacaxi	<i>Ananas comosus</i>	1,61 ± 0,29 cA	1,15 ± 0,03 bA
Acerola	<i>Malpighia emarginata D.C.</i>	9,06 ± 0,41 bA	40,45 ± 4,01 bB
Cajá	<i>Spondias mombin L.</i>	1,24 ± 0,38 cde	Nr
Caju	<i>Anacardium occidentale L.</i>	1,01 ± 0,15 cdeA	3,56 ± 0,07 bB
Goiaba	<i>Psidium guajava</i>	1,70 ± 0,29 cA	0,31 ± 0,00 bB
Graviola	<i>Annona muricata L.</i>	Nd	Nd
Mamão	<i>Carica papaya L.</i>	0,13 ± 0,04 cfA	2,82 ± 0,28 bB
Manga	<i>Mangifera indica L.</i>	1,47 ± 0,21 cdA	2,05 ± 0,38 bA
Maracujá	<i>Passiflora edulis Sims.</i>	0,53 ± 0,04 defA	2,28 ± 0,24 bB
Pitanga	<i>Eugenia uniflora L.</i>	24,12 ± 0,31 aA	1167,26 ± 4860,46 aB
Sapoti	<i>Manikara zapota L.</i>	Nd	0,31 ± 0,22 b
Tamarindo	<i>Tamarindo indica L.</i>	1,56 ± 0,12 c	Nr

Resultados expressos em média ± desvio padrão (n=3). nr: não realizado, nd: não determinado.

A,B (maiúsculo) em uma mesma linha representam amostras significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

letras (minúsculo) em uma mesma coluna representam amostras significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Apenas as polpas de cajá, maracujá, pitanga e tamarindo, assim como os subprodutos de acerola, caju, mamão, manga, maracujá e pitanga apresentaram flavonóides amarelos em suas constituições (Tabela 18). Os teores obtidos para flavonóides amarelos nas polpas de fruta apresentaram-se na mesma faixa de outros valores reportados na literatura para frutas tropicais. Como 9,6mg/100g para polpa de acerola, 7,1mg/100g para polpa de cajá e 63,8mg/100g para polpa de caju (RUFINO et al., 2010); ainda que seja difícil estabelecer uma comparação entre as frutas em diferentes trabalhos científicos, devido a diversos fatores, como época do ano, espécie, cultivar e método de extração.

As amostras referentes aos subprodutos apresentaram elevados teores ( $p < 0,05$ ) de flavonóides amarelos quando comparadas às amostras referentes às polpas de frutas, resultado similar ao observado para a análise de antocianinas totais, pois são pigmentos e, como tal, estão principalmente localizados nas cascas das frutas.

Tabela 18. Teores de flavonóides amarelos em polpas e subprodutos de frutas tropicais.

Frutas		Flavonóides amarelos (mg/100g base úmida)	
Nome comum	Nome científico	Polpa	Subproduto
Abacaxi	<i>Ananas comosus</i>	nd	nd
Acerola	<i>Malpighia emarginata D.C.</i>	nd	16,13 ± 0,03 bc
Cajá	<i>Spondias mombin L.</i>	9,19 ± 0,28 a	Nr
Caju	<i>Anacardium occidentale L.</i>	nd	10,85 ± 1,07 d
Goiaba	<i>Psidium guajava</i>	nd	10,84 ± 1,07
Graviola	<i>Annona muricata L.</i>	nd	nd
Mamão	<i>Carica papaya L.</i>	nd	12,23 ± 3,73 c
Manga	<i>Mangifera indica L.</i>	nd	23,66 ± 3,80 ab
Maracujá	<i>Passiflora edulis Sims.</i>	9,20 ± 2,21 aA	26,52 ± 2,46 aB
Pitanga	<i>Eugenia uniflora L.</i>	10,89 ± 0,96 aA	23,76 ± 2,22 abB
Sapoti	<i>Manikara zapota L.</i>	nd	nd
Tamarindo	<i>Tamarindo indica L.</i>	8,04 ± 0,26 a	Nr

Resultados expressos em média ± desvio padrão (n=3). nr: não realizado, nd: não determinado.

A,B (maiúsculo) em uma mesma linha representam amostras significativamente diferentes (p<0,05).

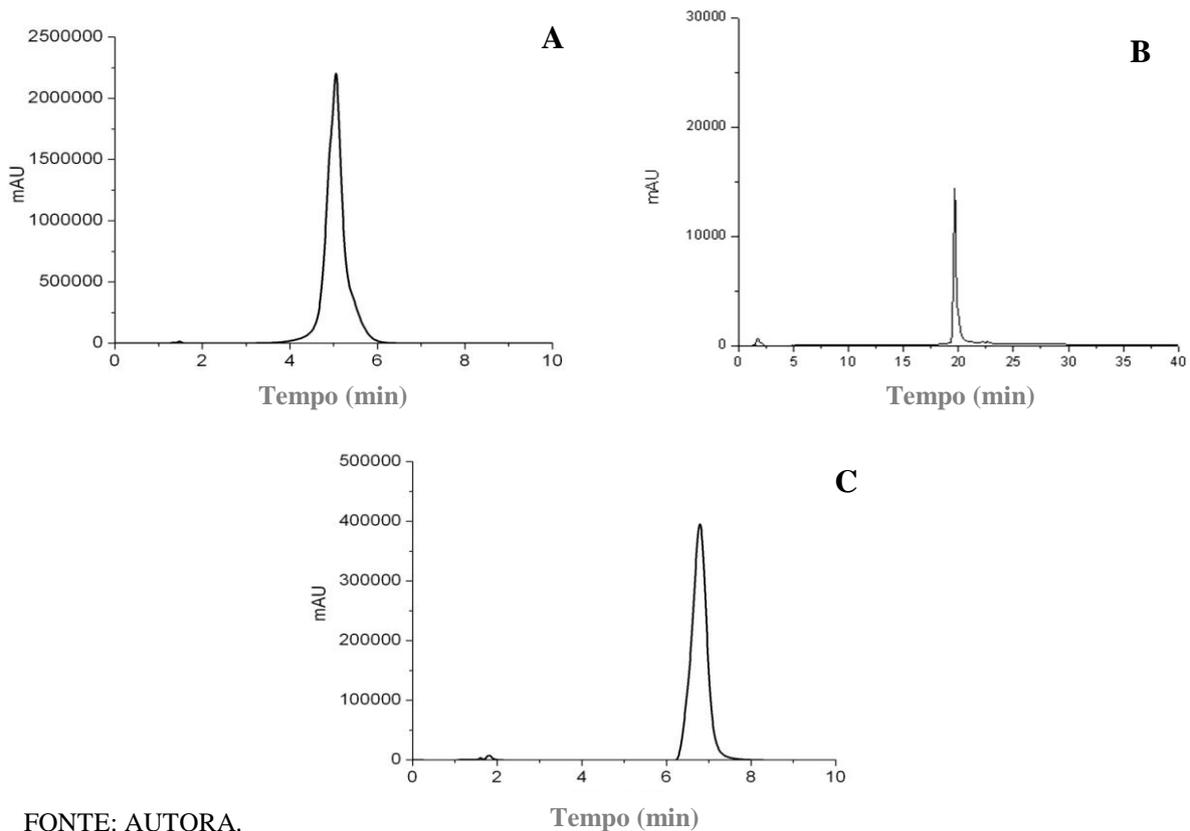
a,b (minúsculo) em uma mesma coluna representam amostras significativamente diferentes (p<0,05).

## 5.2 Etapa 2: Identificação e quantificação de quercetina, resveratrol e cumarina em polpas e subprodutos de frutas tropicais

### 5.2.1 Validação dos métodos

Os cromatogramas referentes aos padrões de resveratrol, quercetina e cumarina são apresentados na Figura 6.

Figura 6. Cromatogramas dos padrões de resveratrol (A), quercetina (B) e cumarina (C).



FONTE: AUTORA.

Os parâmetros referentes à validação dos métodos de análise cromatográfica do resveratrol, quercetina e cumarina são apresentados na Tabela 19.

Tabela 19. Validação dos métodos cromatográficos para as análises de resveratrol, quercetina e cumarina em polpas e subprodutos de frutas tropicais.

Parâmetro	Resveratrol	Quercetina	Cumarina
Limite de detecção (ng/mL)	$0,56 \times 10^{-2}$	74	0,55
Limite de quantificação (ng/mL)	$1,84 \times 10^{-2}$	240	1,09
Linearidade <sup>a</sup>	$y = 1,94 \times 10^8 x + 182465,10$	$y = 61898x - 14053$	$y = 101,172x + 102,127$
Coefficiente de determinação ( $R^2$ )	0,999	0,999	0,999
Tempo de retenção (min)	5,05	19,60	6,82

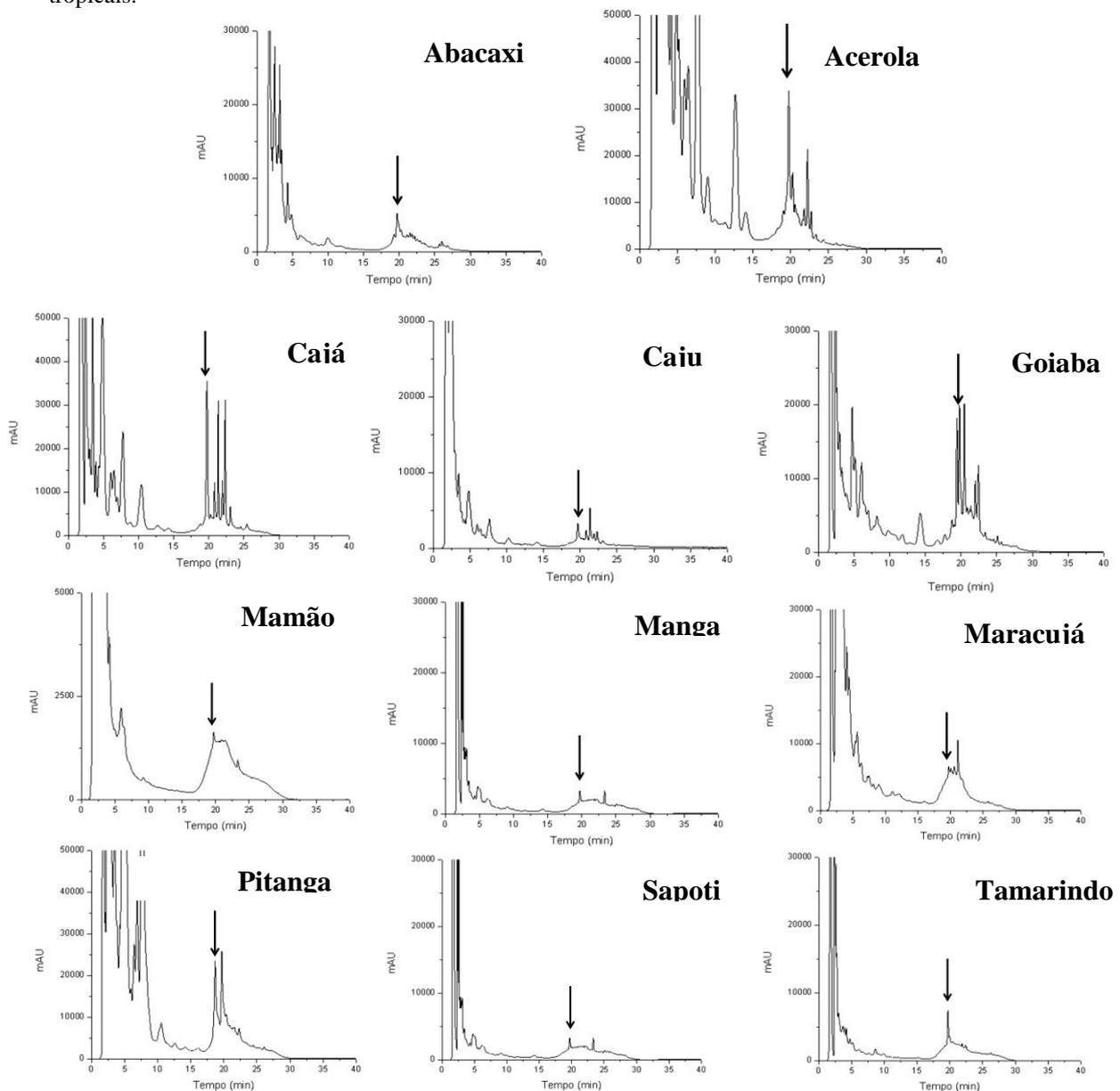
<sup>a</sup> x representa a concentração ( $\mu\text{g/ml}$ ) e y representa a área do pico referente ao comprimento de onda ( $\lambda$ ) analisado.

Menores valores para os limites foram obtidos para o padrão de resveratrol, seguido dos padrões de cumarina e quercetina. Em relação às curvas de calibração, observou-se coeficiente de determinação próximo a unidade, para todos os padrões utilizados.

### 5.2.2 Identificação e quantificação de quercetina em polpas e subprodutos de frutas tropicais

Os cromatogramas referentes à identificação do pico da quercetina em polpas e subprodutos de frutas tropicais são apresentados nas Figura 7 e 8, respectivamente.

Figura 7. Cromatogramas referentes a identificação do pico da quercetina em extratos de polpas de frutas tropicais.

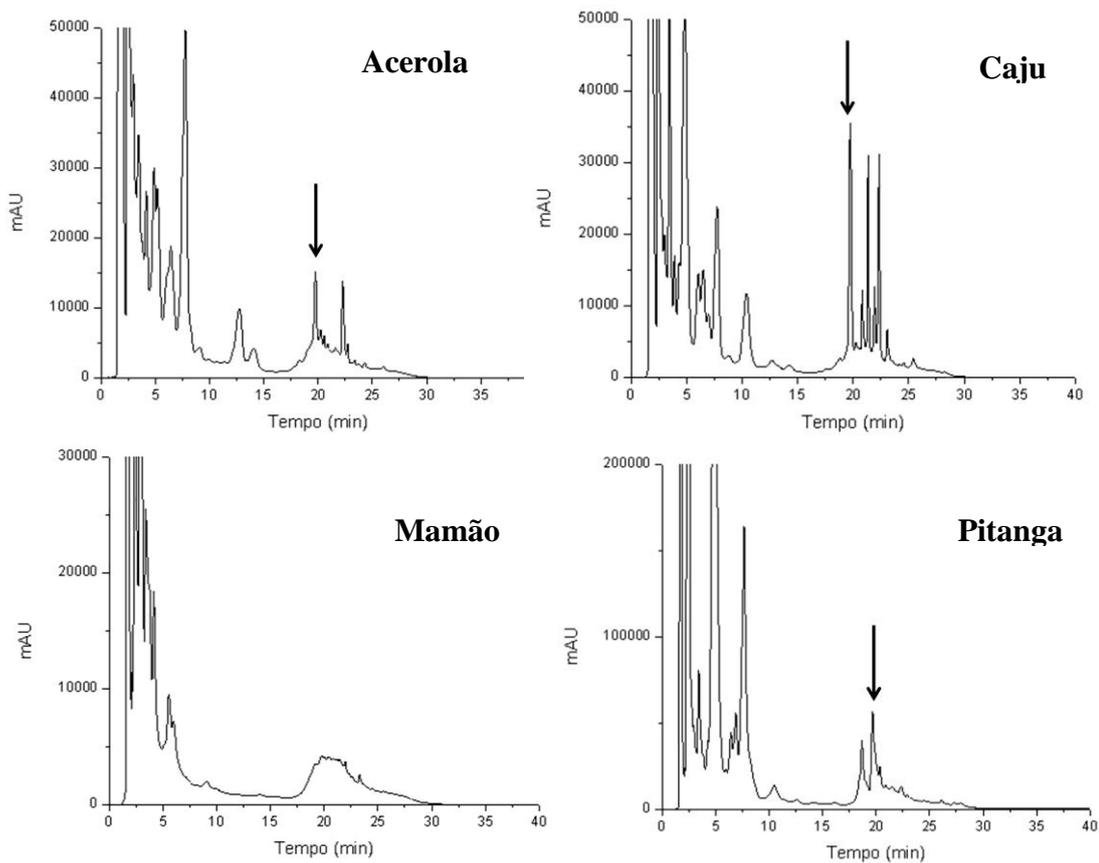


FONTE: AUTORA.

Nas amostras avaliadas, as que não foram observadas presença do fenólico quercetina foram a polpa de graviola e os subprodutos de abacaxi, graviola, mamão, maracujá e sapoti.

As polpas de cajá e acerola apresentaram teores elevados de quercetina ( $\mu\text{g/g}$ ), seguido da pitanga roxa (Tabela 20). Concentrações mais elevadas de quercetina foram detectadas nos subprodutos de pitanga roxa ( $105,52 \mu\text{g/g}$ ), manga ( $61,27 \mu\text{g/g}$ ), caju ( $42,34 \mu\text{g/g}$ ) e acerola ( $30,43 \mu\text{g/g}$ ), conforme observado na Figura 8. Esses subprodutos podem ser utilizados na alimentação humana, para elaboração de diversos produtos, como bolos, *cookies*, doces, geléias, entre outros, favorecendo a utilização dos mesmos na elaboração de novos produtos, tendo em vista seu elevado conteúdo de substâncias bioativas.

Figura 8. Cromatogramas referentes a identificação do pico da quercetina em extratos de subprodutos de frutas tropicais.



FONTE: AUTORA.

Tabela 20. Teores médios de quercetina de polpas e subprodutos de frutas tropicais.

Frutas		Teor de quercetina ( $\mu\text{g/g}$ base seca)	
Nome comum	Nome científico	Polpa	Subproduto
Abacaxi	<i>Ananas comosus</i>	$9,82 \pm 0,00$	Nd
Acerola	<i>Malpighia emarginata</i> D.C.	$49,93 \pm 0,25$	$30,43 \pm 0,85$
Cajá	<i>Spondias mombin</i> L.	$50,24 \pm 0,75$	Nr
Caju	<i>Anacardium occidentale</i> L.	$6,01 \pm 0,62$	$42,34 \pm 0,20$
Goiaba	<i>Psidium guajava</i>	$21,37 \pm 1,07$	$24,27 \pm 0,21$
Graviola	<i>Annona muricata</i> L.	Nd	Nd
Mamão	<i>Carica papaya</i> L.	$2,11 \pm 0,84$	Nd
Manga	<i>Mangifera indica</i> L.	$3,90 \pm 0,20$	$61,27 \pm 1,55$
Maracujá	<i>Passiflora edulis</i> Sims.	$23,46 \pm 0,93$	Nd
Pitanga roxa	<i>Eugenia uniflora</i> L.	$43,09 \pm 2,61$	$105,52 \pm 0,17$
Sapoti	<i>Manikara zapota</i> L.	$2,19 \pm 0,10$	Nd
Tamarindo	<i>Tamarindo indica</i> L.	$14,41 \pm 0,39$	Nr

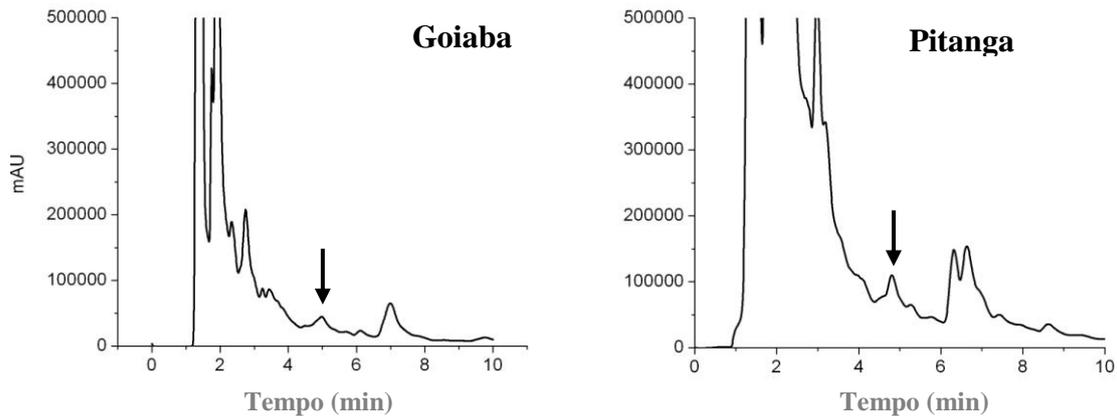
nr: não realizado. nd: não determinado

Diversos estudos têm apresentado a identificação e quantificação de quercetina em polpas e subprodutos de frutas temperadas, através de cromatografia líquida de alta eficiência. Wach; Prynyska e Biesaga (2007) identificaram quercetina em casca de maçã, obtendo conteúdo de  $21 \mu\text{g/g}$  de peso seco. Jacques et al. (2010) identificaram quercetina em polpa congelada de amora preta. Kubola; Siriamornpun (2011) identificaram quercetina em polpa de *Momordica cochinchinensis* Spreng. Mehrabani et al. (2011) identificaram quercetina em casca de maçãs cultivadas no Irã. Schmitzer et al. (2011) identificaram e quantificaram quercetina em diferentes cultivares de pêsego, obtendo teores variando na faixa de  $15,03$  a  $568,83 \mu\text{g/g}$  de peso seco. Orazem; Stampar e Hudina (2011) analisaram pêras de duas cultivares, identificando quercetina em ambas, obtendo teores variando de  $6,02$  a  $12,12 \mu\text{g/g}$  de peso fresco. Slatnar et al. (2011) identificaram quercetina em figo. Liang et al. (2011) analisaram uvas, obtendo teores de quercetina variando de  $0$  a  $71 \mu\text{g/g}$  de peso fresco. Aaby et al. (2012) avaliaram as concentrações de quercetina em diferentes cultivares de morango, obtendo teores variando de  $5$  a  $52 \mu\text{g/g}$  de peso fresco. Deng; West e Jensen (2010), identificaram e quantificaram quercetina em polpa de noni, obtendo teores variando de  $15$  a  $86 \mu\text{g/g}$ .

### 5.2.3 Identificação e quantificação de resveratrol em polpas e subprodutos de frutas tropicais

Os cromatogramas referentes à identificação do resveratrol são apresentados na Figura 9.

Figura 9. Cromatogramas referentes a identificação do pico de resveratrol.



FONTE: AUTORA.

O resveratrol foi identificado e quantificado em subprodutos de goiaba (25,67  $\mu\text{g/g}$  peso seco) e pitanga (112,51  $\mu\text{g/g}$  peso seco), resultados não reportados anteriormente na literatura. O resveratrol não foi detectado nas demais amostras de polpas e subprodutos de frutas analisadas neste estudo. Este composto é um estilbeno natural encontrado em diversas espécies vegetais, geralmente em duas formas: *trans*-(E) e *cis* (Z), sendo o *trans*-resveratrol isômero reconhecido pela sua atividade biológica (MEDINA-BOLIVAR et al., 2007; SAUTTER, et al., 2005). *Trans*-resveratrol apresenta atividade antioxidante e anti-inflamatória (KALANTARI; DAS, 2010), sendo bastante estudado em uvas e vinhos tintos. Ainda que muitos fatores como a variedade da planta, condições ambientais, procedimento de extração e solvente utilizado durante a extração possam influenciar a quantificação desse composto em várias plantas (ROLDAN, PALACIOS, CARO, PEREZ, 2003), foi encontrado cerca de 4,06  $\mu\text{g}/100\text{g}$  de resveratrol em extrato aquoso de uvas secas sem sementes em cultivar Thompson (ZHAO; HALL, 2008), teor menor quando comparado às amostras avaliadas neste estudo, tendo em vista que atualmente, a uva é uma das frutas que apresenta maior teor de resveratrol determinado. Outras fontes de resveratrol incluem chocolate amargo (0,4  $\mu\text{g/g}$ ) (COUNET, CALLEMIEN, COLLIN, 2006), amendoins (0,03-0,14  $\mu\text{g/g}$ ) (SANDERS, MCMICHAEL, HENDRIX, 2000), *cranberry* 712,3 ng/g (BOROWSKA,

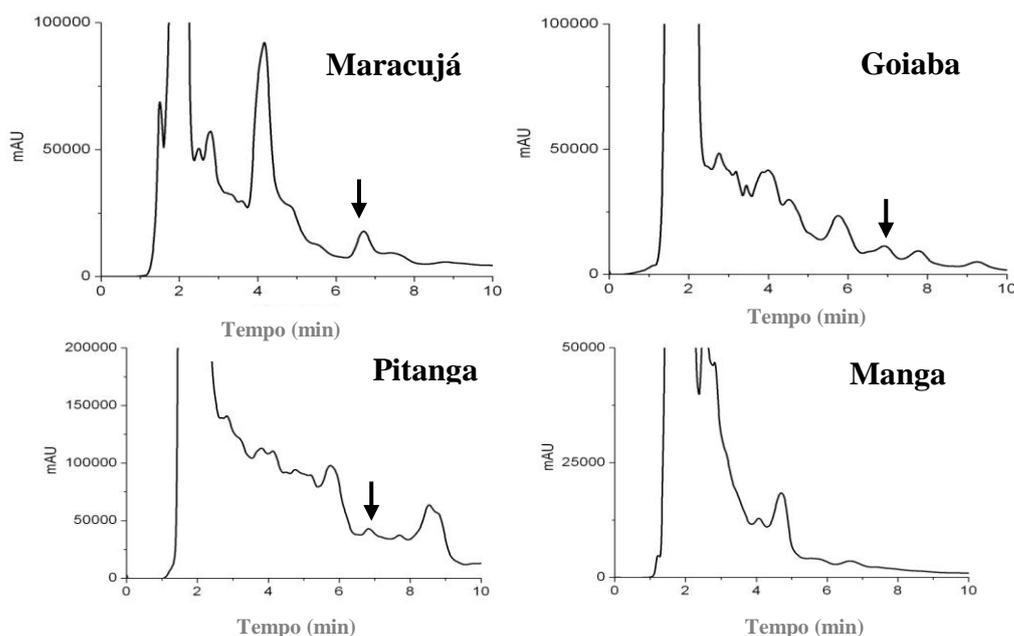
MAZUR, KOPCIUCH, BUSZEWSKI, 2009) e casca e bagaço de uva (0,68 a 0,39  $\mu\text{g/g}$  de peso fresco) (CASAS et al., 2010).

Ao compararmos o conteúdo de resveratrol obtido nas amostras analisadas neste estudo aos outros extratos fenólicos comerciais (padrões), como determinado por Counet et al. (2006), os teores obtidos para os subprodutos de goiaba e pitanga, mesmo que em menor quantidade do que a constatada em vinho tinto comercial (337 mg/100g peso seco), são menores que os obtidos para casca de uva vermelha (60-75 mg/100g extrato seco), casca de uva branca (63 mg/100g extrato seco) e semente de uva vermelha (27 mg/100g extrato seco). Apesar de apresentar baixos valores, os subprodutos de goiaba e pitanga podem ser considerados fontes de resveratrol. Essa informação se faz bastante importante industrialmente, tendo em vista que este composto apresenta diversas propriedades nutracêuticas e farmacêuticas.

#### 5.2.4 Identificação e quantificação de cumarina em polpas e subprodutos de frutas tropicais

Os cromatogramas referentes à identificação do pico de cumarina em polpas e subprodutos de frutas tropicais são apresentados na Figura 10.

Figura 10. Cromatogramas referentes a identificação de cumarina em polpa de manga e subprodutos de goiaba, de maracujá e de pitanga.



FONTE: AUTORA.

No presente estudo, a cumarina foi detectada e quantificada em polpa de manga e subprodutos de goiaba, maracujá e pitanga, com valores variando na faixa de 57,39 a 102,49 µg/100g (base seca) (Tabela 21), resultados ainda não relatados na literatura. A cumarina não foi detectada nas demais amostras analisadas.

A cumarina (1,2-benzopirona) é um produto natural que apresenta aroma doce herbáceo, semelhante a flor de cereja (Yang et al., 2009). Esse composto está presente em diversas famílias, como *Asteraceae*, *Apiaceae*, *Fabaceae*, *Lamiaceae* e *Poaceae*. As cumarinas ocorrem nas plantas na forma de ácido *trans-o*-glucosyloxycinnamic (Kovacki; Repcak, 2008) e são associadas a atividade antimicrobiana, anti-inflamatória e antioxidante (Ikeda, Wada, Nishigaki, Nakashima, 2009; Kovacki; Repcak, 2008).

Tabela 21. Teores de cumarina em polpas e subprodutos de frutas tropicais.

Amostra	Nome científico	Teor (mg/100g base seca)
SG	<i>Psidium guajava</i>	102,49 ± 1,47
SM	<i>Passiflora edulis Sims.</i>	60,28 ± 4,21
SP	<i>Eugenia uniflora L.</i>	71,18 ± 1,98
PM	<i>Mangifera indica L.</i>	57,39 ± 1,73

SM: subproduto de maracujá, SG: subproduto de goiaba, SP: subproduto de pitanga, PM: polpa de manga.

Plantas da família *Lamiaceae* (assim como a lavanda, salvia, alecrim, orégano e manjeriço), além da canela, são amostras conhecidas por apresentarem elevadas concentrações de cumarina e são largamente utilizadas na medicina tradicional e horticultura. Para estas plantas, a literatura reporta teores variando de 14,3 a 276,9 µg/mg peso úmido, onde o gênero *Lavandula* e *Salvia* apresentam os maiores teores (Lee et al., 2011). Demais estudos têm constatado teores acima de 29,40 mg/100g para extrato fenólico da casca de canela (Su-Chen Ho, 2013). Os subprodutos de frutas analisados apresentaram-se como fonte natural de cumarina, apresentando maiores teores que os encontrados em canela.

### 5.3 Etapa 3: Caracterização química, físico-química e microbiológica de polpas e subprodutos de frutas tropicais

Para esta etapa foram selecionadas as amostras de resveratrol (subproduto de goiaba), quercetina (polpa de acerola) e cumarina (subproduto de maracujá).

As amostras analisadas apresentaram ausência de *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes* e contagem de coliformes a 35 °C e 45 °C < 3 MPN/g (Tabela 22).

A contagem de bactérias mesofílicas variou entre  $1,0 \times 10^3$  (subproduto de goiaba) e  $4,5 \times 10^3$  UFC/g (subproduto de maracujá). O subproduto de goiaba foi o único que apresentou contagem de bolores e leveduras.

Tabela 22. Avaliação microbiológica de polpas e subprodutos de frutas tropicais utilizados na nanoencapsulação.

Análises	Polpa de acerola	Subproduto de goiaba	Subproduto de maracujá
Coliformes a 35 °C (NMP/g)	< 3	< 3	< 3
Coliformes a 45 °C (NMP/g)	< 3	< 3	< 3
<i>L.monocytogenes</i> /25g	Ausência	Ausência	Ausência
<i>Salmonella</i> SP/25g	Ausência	Ausência	Ausência
Bactérias mesofílicas (UFC/g)	$1,6 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$4,5 \times 10^3$
Bolores (UFC/g)	< 10	$5,0 \times 10^2$	< 10
Leveduras (UFC/g)	< 10	$1,2 \times 10^4$	< 10

Silva et al. (2011) não detectaram *Salmonella* sp. em néctares de frutas tropicais elaborados com polpas de caju, manga e acerola. Santos, Coelho e Carreiro (2008) avaliaram polpa de acerola, obtendo contagem de bolores e leveduras variando de < 10 UFC/g a  $2,3 \times 10^4$  UFC/g.

Faria, Oliveira; Costa (2012) avaliaram a qualidade microbiológica de polpas de açaí comercializadas na cidade de Pouso Alegre/MG, constatando presença de coliformes a 45°C em 16,7% das amostras avaliadas.

Silveira e Bertagnolli (2012) constataram ausência de *Salmonella* sp em amostras de suco de laranja *in natura* e presença de coliformes a 45°C em 33% das amostras avaliadas.

Os resultados da caracterização química das polpas e subprodutos de frutas tropicais selecionados para elaboração dos extratos e nanoencapsulação são apresentados na Tabela 23. As amostras avaliadas apresentaram teores semelhantes de pH. Em relação à análise de sólidos solúveis totais (SST) e acidez, os subprodutos avaliados apresentaram teores semelhantes; resultados estes não observado para a polpa de acerola.

Para a análise de açúcares totais, o subproduto de goiaba apresentou maior teor, seguido da polpa de acerola e subproduto de maracujá.

Tabela 23. Caracterização química de polpas e subprodutos de frutas tropicais utilizados para elaboração dos extratos aplicados na nanoencapsulação.

Análise	Polpa de acerola (quercetina)	Subproduto de goiaba (resveratrol)	Subproduto de maracujá (cumarina)
pH	3,55 ± 0,01	4,12 ± 0,01	4,14 ± 0,01
SST (°Brix)	5,02 ± 0,00	11,03 ± 0,31	11,53 ± 0,32
Acidez	0,89 ± 0,04	0,62 ± 0,06	0,58 ± 0,04
Açúcares totais (%)	6,87 ± 0,18	14,64 ± 1,04	2,62 ± 0,22

Silva et al (2012) obtiveram resultados similares para caracterização de polpa de acerola: pH (3,73), sólidos solúveis totais (5,80°Brix), acidez (0,81g/100g) e açúcares totais (12,13%).

Diversos autores, avaliando outras polpas de fruta tropicais, obtiveram resultados distintos, tendo em vista as similaridades de cada fruta. Oliveira et al. (2013), avaliando polpa de camu-camu, obtiveram pH (2,63), teor de sólidos solúveis (6,43 °Brix) e acidez (16,28%).

Não foram encontrados trabalhos referentes à caracterização química de subprodutos de goiaba e maracujá.

Lemos et al. (2013) avaliaram as características químicas de subproduto de manga (cascas), obtendo pH de 4,46, teor de sólidos solúveis de 14,33 °Brix e acidez titulável de 0,09%.

#### ***5.4 Etapa 4: Nanoencapsulamento e caracterização das nanopartículas dos extratos fenólicos da polpa de acerola e subprodutos de goiaba e maracujá***

Os tamanhos médios de partícula para as nanopartículas de acerola, maracujá e goiaba foram: 136,53 ± 1,65; 369,25 ± 84,64 e 295,35 ± 8,13 nm (PLGA 50:50) e 153,37 ± 5,16; 376,70 ± 14,42 and 310,65 ± 1,34 nm (PLGA 65:35), respectivamente.

As nanopartículas de acerola-PLGA apresentaram menor tamanho de partícula comparada às demais amostras. As partículas sintetizadas com PLGA 65:35 apresentaram maior tamanho de partícula para todas as amostras analisadas (Tabela 24).

Foram observados valores de índice de polidispersidade próximos a 0,2 (monodisperso) para todas as amostras avaliadas, indicando uma distribuição de partícula heterogênea.

Tabela 24. Tamanhos médios de partícula e índice de polidispersidade de nanopartículas de extrato de acerola, maracujá e goiaba, sintetizadas com PLGA.

Nanopartícula	Tamanho (nm)		Índice de polidispersidade	
	PLGA 50:50	PLGA 65:35	PLGA 50:50	PLGA 65:35
PA	136,53 ± 1,65	153,37 ± 5,16	0,258 ± 0,007	0,167 ± 0,000
SM	369,25 ± 84,64	376,70 ± 14,42	0,232 ± 0,042	0,256 ± 0,000
SG	295,35 ± 8,13	310,65 ± 1,34	0,169 ± 0,031	0,197 ± 0,002
Resveratrol (padrão)	418,9 ± 83,72	650,25 ± 158,89	0,236 ± 0,031	0,271 ± 0,052
Quercetina (padrão)	451,05 ± 29,20	381,75 ± 23,69	0,289 ± 0,004	0,240 ± 0,029
Cumarina (padrão)	373,75 ± 16,62	326,55 ± 3,75	0,162 ± 0,011	0,159 ± 0,015

PA: polpa de acerola, SM: subproduto de maracujá, SG: subproduto de goiaba.

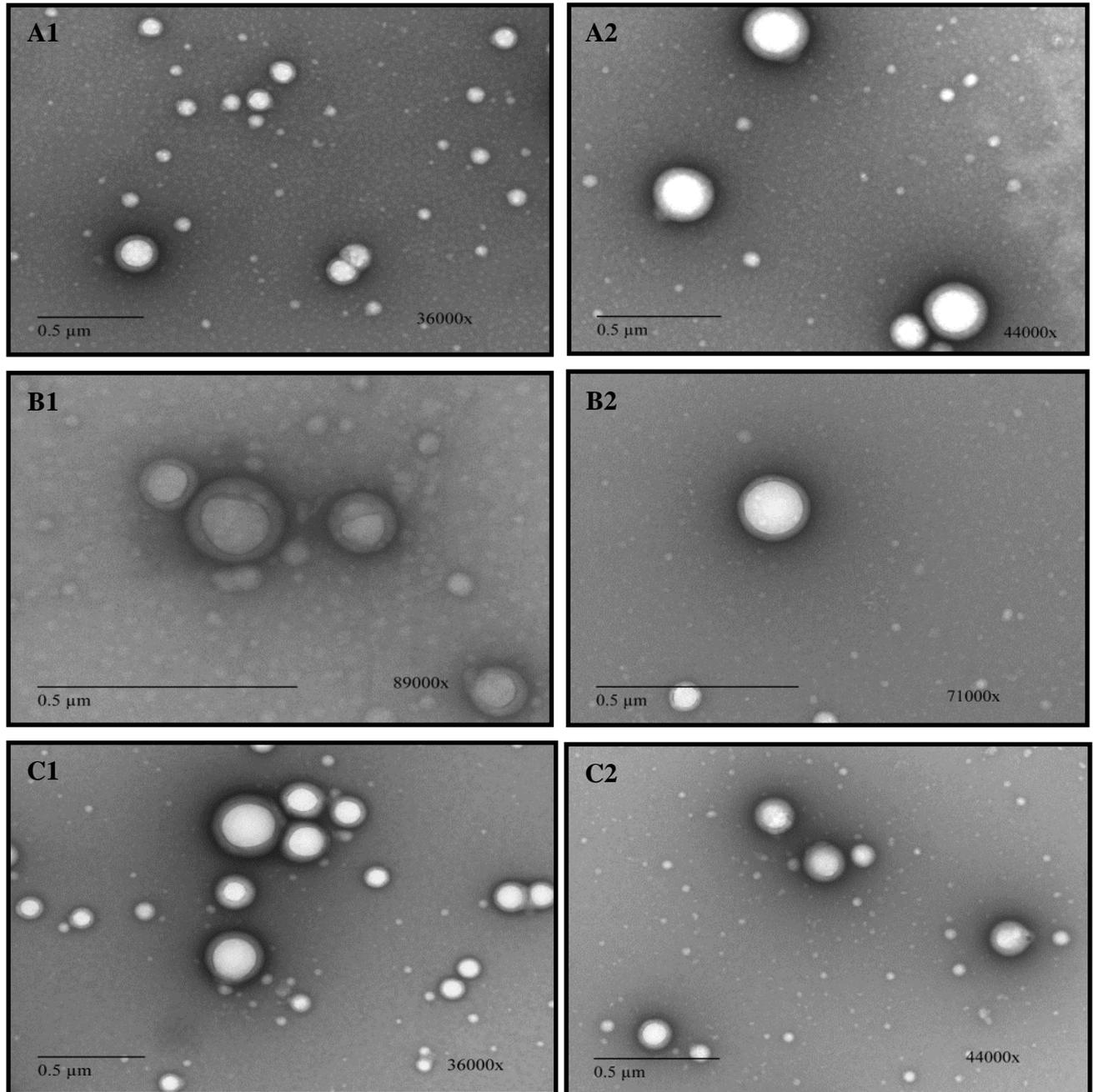
As imagens das nanopartículas obtidas pela microscopia de transmissão eletrônica são apresentadas na Figura 11. Não foram observadas grandes diferenças quanto à estrutura das nanopartículas sintetizadas com PLGA 50:50 e PLGA 65:35. Todas as nanopartículas apresentaram um halo em torno de suas estruturas, característico da matriz utilizada (PLGA).

Hill et al. (2013) utilizaram PLGA com duas proporções de lactídeo e glicolídeo para nanoencapsular extrato de canela e encontraram tamanhos de partícula variando entre 144,77 a 166,65 nm. Resultados similares foram obtidos nesse estudo para o extrato de acerola.

Choi et al. (2010) sintetizaram nanocápsulas utilizando  $\beta$ -ciclodextrina e óleo de peixe, obtendo tamanhos de partícula variando entre 250 a 700 nm. Hosseini et al. (2013) reportaram para nanopartículas de quitosana entre 281,5 a 402,2 nm.

Paul et al. (2011) avaliaram o tamanho de partículas elaboradas com PLGA e extrato de raiz de *Polygala senega*, obtendo tamanho de  $147,7 \pm 4$  nm e índice de polidispersidade de  $0,273 \pm 0,012$ .

Figura 11. Imagens de microscopia de transmissão eletrônica de nanopartículas de PLGA. A1) subproduto de maracujá -PLGA 50:50, (A2) subproduto de maracujá-PLGA 65:35, (B1) subproduto de goiaba-PLGA 50:50, (B2) subproduto de goiaba-PLGA 65:35, (C1) polpa de acerola-PLGA 50:50, e (C2) polpa de acerola-PLGA 65:35. Imagens foram obtidas com 36,000, 44,000, 71,000, e 89,000 tempos de magnificação.



FONTE: AUTORA.

Os resultados para a eficiência do encapsulamento dos compostos bioativos estão apresentados na Tabela 25.

Melhores resultados para eficiência do encapsulamento foram obtidos para nanopartículas sintetizadas com PLGA 65:35 (utilizando extratos de maracujá e goiaba). Em relação a nanopartícula de acerola, melhor eficiência do encapsulamento foi obtida para o PLGA 50:50. Os baixos valores de eficiência do encapsulamento (%) podem estar relacionados com a solubilidade dos compostos após a encapsulação, uma vez que para todas as amostras foi utilizada uma solução de etanol:água (95:5 v/v) para realização desta análise.

Tabela 25. Eficiência do encapsulamento.

Nanopartícula	EE (%)	
	PLGA 50:50	PLGA 65:35
PA	63,27 ± 3,41	10,94 ± 0,24
SM	10,61 ± 0,52	25,47 ± 1,40
SG	1,15 ± 0,16	8,15 ± 1,69
Reveratrol (padrão)	16,69 ± 1,96	14,15 ± 2,16
Quercetina (padrão)	21,88 ± 0,69	32,58 ± 2,70
Cumarina (padrão)	14,15 ± 2,16	38,49 ± 3,57

PA: polpa de acerola, SM: subproduto de maracujá, SG: subproduto de goiaba.

Hill et al. (2013) utilizaram PLGA com diferentes proporções de lactídeo e glicolídeo (65:35 e 50:50) para nanoencapsular extrato de canela e encontraram melhor eficiência de encapsulamento para PLGA 50:50. Comportamento similar foi observado nesse estudo para as partículas elaboradas com extrato de acerola.

Alberina e Alléman (2013) utilizaram o copolímero Eudragit (copolímero derivado de ésteres de ácido acrílico e metacrílico) para nanoencapsular oleos bioativos, utilizando o método de emulsificação difusão, obtendo eficiência de encapsulamento variando entre 11 a 94%. Hosseini et al. (2013) reportaram eficiência de encapsulamento variando de 5,45 a 24,72% para nanopartículas de quitosana.

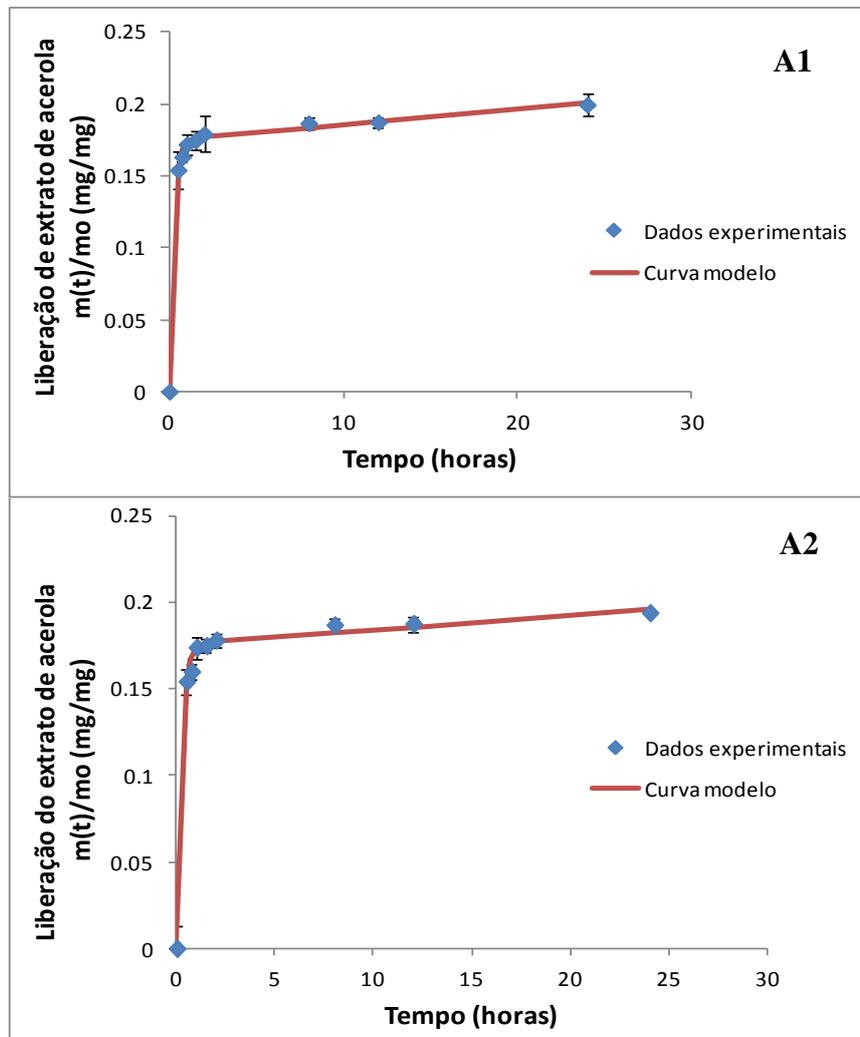
Bhattacharyya et al. (2010) utilizaram PLGA para nanoencapsular extrato de *Gelsemium sempervirens* e as nanopartículas sintetizadas apresentaram eficiência de encapsulamento de 81,6%.

Para as análises de liberação controlada, as nanopartículas apresentaram comportamentos semelhantes, durante as 72 horas de análise.

O perfil de liberação dos extratos de frutas tropicais das nanopartículas de PLGA foi avaliado *in vitro* em função do tempo e os resultados até 30h estão mostrados nas Figuras

12 a 14. Os resultados foram apresentados graficamente até 30 horas de análise por se apresentarem constantes após este período.

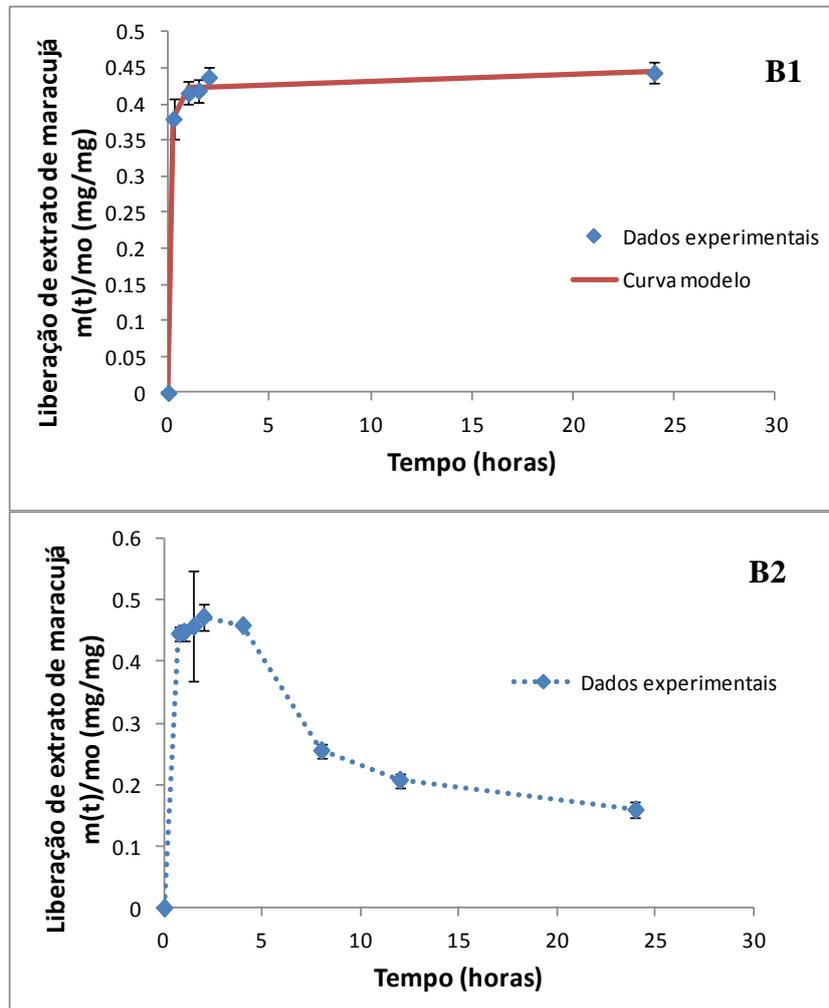
Figura 12. Análise de liberação controlada das nanopartículas contendo extrato de polpa de acerola para PLGA 50:50 (A1) e PLGA 65:35 (A2), utilizando solução tampão salina fosfato pH 7,4.



FONTE: AUTORA.

O perfil de liberação dos extratos de frutas tropicais, nas nanopartículas em ambas as concentrações de lactídeo e glicolídeo utilizadas (PLGA 50:50 e PLGA 65:35) foi considerado bifásico, com um efeito de explosão inicial na primeira hora, seguido de uma liberação uniforme com o tempo.

Figura 13. Análise de liberação controlada das nanopartículas contendo extrato de subproduto de maracujá para PLGA 50:50 (B1) e PLGA 65:35 (B2), utilizando solução tampão salina fosfato pH 7,4.

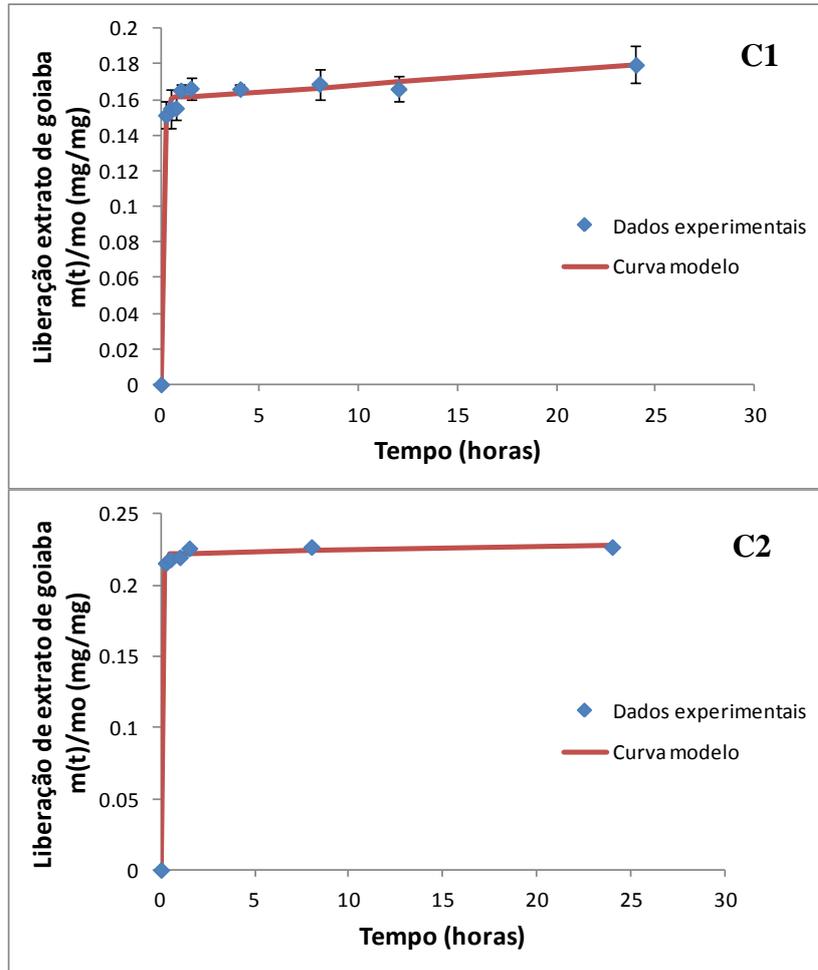


FONTE: AUTORA.

É interessante ressaltar que a liberação de substâncias é resultado de diversos fatores, incluindo a penetração do meio utilizado (tampão) para a matriz da partícula, a difusão do composto ativo através da matriz, a degradação do polímero, a espessura da parede da partícula, a afinidade dos compostos ativos com o polímero, difusão do composto ativo através da matriz do polímero e a absorção e degradação do polímero (Washington 1996; Zigoneanu et al, 2008).

Dessa forma, o efeito cumulativo desses fatores resulta no perfil de liberação do composto, caracterizado por uma grande liberação inicial seguida de um patamar constante de liberação. Esse comportamento pode estar relacionado com o fato do composto ativo estar perto ou ligado à superfície das nanopartículas (Zigoneanu et al, 2008).

Figura 14. Análise de liberação controlada das nanopartículas contendo extrato de subproduto de goiaba para PLGA 50:50 (C1) e PLGA 65:35 (C2), utilizando solução tampão salina fosfato pH 7,4.



FONTE: AUTORA.

Eventualmente, a taxa de liberação pode diminuir com o tempo, pois o composto ativo tem que percorrer uma distância mais longa entre as cadeias do polímero (Gomes et al. 2011). Geralmente, a degradação do PLGA é lenta, assim a liberação do composto ativo é mais dependente da constante de difusão, entumescimento do PLGA e da superfície ou erosão do PLGA (Mu; Feng, 2003).

Em aproximadamente 24 horas, 20 a 50% do composto ativo presente no extrato foi liberado, tanto para as amostras de PLGA 50:50 quanto para PLGA 65:35 e não foram observadas mudanças significativas no conteúdo liberado após 12 horas, para a maioria das partículas.

Os perfis de liberação observados neste estudo foram similares à outros perfis obtidos em diferentes estudos com compostos fenólicos isolados de óleos essenciais (Iannitelli et al., 2011; Gomes et al., 2011). No entanto, os valores percentuais de liberação

foram considerados menores (usualmente cerca de 90% do composto ativo é liberado depois de 24 horas de análise). Deve-se levar em consideração que nestes estudos foram utilizados compostos purificados. No presente trabalho foram utilizados extratos de frutas liofilizados, onde outros compostos presentes podem ter sido liberados simultaneamente.

Menores porcentagens de liberação (entre 20 e 32% de liberação) de proteína de nanopartículas de PLGA foram previamente reportadas durante um período de 90 dias (Panyam et al., 2003), e esse comportamento foi atribuído à taxa de degradação do polímero e às condições de liberação *in vitro*.

Em relação ao modelo utilizado, o mesmo foi ajustado aos dados experimentais para todas as nanopartículas estudadas (Tabela 26), com exceção da nanopartícula contendo extrato de subproduto de maracujá para PLGA 65:35, que apresentou uma explosão inicial nas primeiras horas. No entanto, a taxa de liberação diminuiu acentuadamente com o tempo, em vez de permanecer estável. Isto pode ser explicado devido a uma redução gradual da velocidade de difusão do extrato de maracujá (encontrado mais profundamente no interior da matriz de PLGA 65:35), que foi mais facilmente incorporado para baixo da matriz de polímero, pois o extrato de maracujá pareceu apresentar maior afinidade à porção hidrofóbica do que à porção hidrofílica do PLGA 65:35, que apresenta um teor de lactídeo superior ao PLGA 50:50 (Wischke; Schwendeman 2008; Zigoneanu et al., 2008).

Tabela 26. Constantes de taxa de liberação e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) de liberação extratos de frutas tropicais de PLGA 50:50 e PLGA 65:35 a 35°C, ajustado à equação 1.

Nanopartícula	$k_1$ (1/h)	$k_2$ (1/h)	$R^2$
PA-PLGA 50:50	$1,10 \times 10^{-3}$	$-1,5 \times 10^{-6}$	0,99
PA-PLGA 65:35	$1,06 \times 10^{-3}$	$-1,2 \times 10^{-6}$	0,99
SM-PLGA 50:50	$2,54 \times 10^{-3}$	$-5,8 \times 10^{-7}$	0,99
SM -PLGA 65:35	Nd	Nd	nd
SG-PLGA 50:50	$3,07 \times 10^{-3}$	$-1,3 \times 10^{-6}$	0,99
SG -PLGA 65:35	$3,92 \times 10^{-3}$	$-3,2 \times 10^{-7}$	0,99

nd – não determinado. Equação (2) não foi ajustada ao modelo experimental. PA: polpa de acerola, SM: subproduto de maracujá, SG: subproduto de goiaba.

Luo et al. (2013) reportaram para indol-3-carbinol e 3,30-diindolmetano em zein/carboximetil nanopartículas de quitosana que a maior liberação ocorreu com 0,5 h; seguido de liberação constante por mais 6 horas. Resultados similares foram obtidos neste estudo.

### 5.5 Etapa 5: Análise da atividade antimicrobiana dos extratos fenólicos de frutas tropicais , nanoencapsulados e dos padrões de resveratrol, quercetina e cumarina

O efeito antimicrobiano dos extratos fenólicos de polpa de acerola e de subprodutos de maracujá e da goiaba são apresentados na Tabela 27. Todas as amostras analisadas apresentaram efeito inibitório para os microrganismos testados (*E. coli* K12 e *L. monocytogenes*). Entre os microrganismos testados, maior efeito inibitório (menores concentrações necessárias) foi observado para *L.monocytogenes*, apresentada especialmente para o extrato de subproduto de maracujá. Todos os extratos avaliados, com exceção do extrato de polpa de acerola, apresentaram efeito bactericida para *E. coli* K12, em concentrações elevadas (3000 a 7000 µg/mL). Para *L. monocytogenes*, as únicas amostras que apresentaram efeito bactericida foram os extratos da polpa de acerola e do subproduto da goiaba, sendo interessante observar que os compostos puros (padrões) não apresentaram efeito bactericida.

Tabela 27. Efeito antimicrobiano dos extratos de subproduto de goiaba, subproduto de maracujá e polpa de acerola para *E. coli* K12 e *L.monocytogenes*.

Amostra	<i>E. coli</i> K12 (µg/mL)		<i>L. monocytogenes</i> (µg/mL)	
	MIC	MBC	MIC	MBC
PA	3000	-	2000	3000
SM	2000	4000	450	-
SG	2000	3000	1000	1000
Reveratrol (padrão)	2000	7000	1000	-
Quercetina (padrão)	3000	4500	3500	-
Cumarina (padrão)	2500	4000	2500	-

- não apresentou atividade. PA: polpa de acerola, SM: subproduto de maracujá, SG: subproduto de goiaba.

Para a análise do efeito antimicrobiano dos padrões (resveratrol, quercetina e cumarina), foram observadas concentrações inibitórias mínimas variando entre 2000 a 3000 µg/mL (*E. coli* K12) e 1000 a 3500 µg/mL (*L. monocytogenes*). Esses resultados indicam que possivelmente os extratos utilizados apresentaram efeito sinérgico entre os diversos compostos fenólicos presentes, tendo em vista que a concentração de resveratrol, quercetina e cumarina presente nos extratos é bastante inferior às concentrações dos compostos puros. Deve-se levar em consideração a importância deste fato, tendo em vista que os compostos fenólicos, além da atividade antimicrobiana, apresentam distintas propriedades benéficas à

saúde, como efeito antioxidante e efeito anti-inflamatório, sendo estas propriedades não encontradas simultaneamente em todos os compostos.

Canning et al. (2013) constataram a presença de cumarina em extrato metanólico de *Mammea africana* e confirmaram efeito antimicrobiano (MIC < 2 µg/mL) contra *C. jejuni*, *S. pneumoniae* e *C. difficile*. Araújo et al. (2013) avaliaram a atividade antimicrobiana de óleos extraídos de açaí e de pupunha, constatando efeito antimicrobiano contra *S. aureus*. Fianco et al. (2013) constataram efeito antimicrobiano de extratos etanólicos de própolis de abelhas contra *E. coli* e *S. aureus*.

Shen et al. (2014) avaliaram o efeito antimicrobiano de extrato de *blueberry* contra *L. monocytogenes* e *S. Enteritidis*, constatando maior sensibilidade para *L.monocytogenes* e obtendo concentrações inibitórias mínimas de 300 e 450 mg/mL, para *L.monocytogenes* e *S. enteritidis*, respectivamente. Resultados inferiores aos obtidos neste estudo. Deve-se levar em consideração que o efeito antimicrobiano é geralmente correlacionado com a concentração de alguns compostos bioativos presentes na amostra, como os compostos fenólicos. No estudo realizado por Shen et al. (2014), foi obtido teor de compostos fenólicos totais de 505 AGE/100g de fruta fresca, resultado bastante inferior ao obtido no presente estudo para algumas frutas, como a acerola, o caju e tamarindo (Tabela 14). Porém, isso pode ser justificado pelos tipos de compostos fenólicos presentes nas frutas, que são encontrados em concentrações diferentes e também podem apresentar atividades antimicrobianas distintas.

Gunduz (2013) avaliou o efeito antimicrobiano de polpa de *berry* contra *Salmonella* spp., constatando redução do crescimento do microrganismo, apresentando potencial como conservante natural.

A nanopartícula de acerola sintetizada com PLGA 50:50 apresentou menor concentração inibitória mínima quando comparada com a sintetizada com PLGA 65:35, para *E. coli* K12 (Tabela 28). Dessa forma, a nanoencapsulação do extrato de acerola apresentou-se mais eficiente utilizando PLGA 50:50. Esse resultado pode ser associado com o resultado obtido para a análise de eficiência do encapsulamento, uma vez que essas amostras apresentaram maior resultado para esta análise. As demais amostras avaliadas apresentaram mesma concentração inibitória mínima (500 µg/mL).

As nanopartículas não apresentaram concentração bactericida mínima nas concentrações avaliadas para os microrganismos testados neste estudo. Este fato pode ser explicado pelo cálculo do teor de nanopartículas para análise do efeito antimicrobiano considerar o teor final de composto bioativo nanoencapsulado para obter a concentração

necessária do composto a ser utilizado (baseado na concentração necessária para obter o efeito antimicrobiano para o extrato puro). Dessa forma, levando em consideração que na síntese de nanopartículas obtemos uma proporção de 1:10 (composto bioativo:PLGA), os teores de nanopartícula necessários para obtenção de possível concentração bactericida seriam bastante elevados, o que tornaria a síntese e posterior utilização industrial dessas amostras inviável.

Tabela 28. Efeito antimicrobiano das nanopartículas de PLGA sintetizadas com extratos de frutas tropicais contra *E. coli* K12.

Nanopartícula	MIC (µg/mL)		MBC (µg/mL)	
	PLGA 50:50	PLGA 65:35	PLGA 50:50	PLGA 65:35
PA	500	1000	-	-
SM	500	500	-	-
SG	500	500	-	-
Controle	-	-	-	-

- não apresentou atividade. PA: polpa de acerola, SM: subproduto de maracujá, SG: subproduto de goiaba.

Todas as amostras sintetizadas com PLGA 65:35 (Tabela 29), apresentaram menor concentração inibitória mínima de *L. monocytogenes* quando comparadas às amostras sintetizadas com PLGA 50:50 (Tabela 28), exceto para o subproduto de goiaba. Dessa forma, a síntese de nanopartículas com os extratos de fruta analisados é mais eficiente na promoção de efeito antimicrobiano utilizando PLGA 65:35 para este microrganismo. As nanopartículas avaliadas neste estudo não apresentaram efeito bactericida para *L.monocytogenes* nas concentrações avaliadas.

As nanopartículas controle (elaboradas somente com PLGA, sem adição de composto bioativo) não apresentaram efeito antimicrobiano, para os microrganismos testados.

Tabela 29. Efeito antimicrobiano das nanopartículas de PLGA sintetizadas com extratos de frutas tropicais contra *L. monocytogenes*.

Nanopartícula	MIC (µg/mL)		MBC (µg/mL)	
	PLGA 50:50	PLGA 65:35	PLGA 50:50	PLGA 65:35
PA	500	250	-	-
SM	1000	350	-	-
SG	200	500	-	-
Controle	-	-	-	-

- não apresentou atividade. PA: polpa de acerola, SM: subproduto de maracujá, SG: subproduto de goiaba.

É interessante correlacionar as concentrações inibitórias mínimas obtidas para as nanopartículas com as concentrações inibitórias mínimas para os extratos puros. Para todas as amostras analisadas, a nanoencapsulação dos extratos resultou em melhor efeito antimicrobiano, ou seja, menor concentração necessária para obter a inibição do microrganismo.

Varona et al. (2013) avaliaram o efeito antimicrobiano de óleo essencial de *Lavandula hybrida* livre e encapsulado utilizando amido e soja como material de parede contra *E.coli*, *B. cereus* e *S.aureus*, observando maior atividade antimicrobiana para as partículas sintetizadas com soja. Os autores também destacaram que o composto puro, utilizado na mesma concentração, apresentou maior atividade antimicrobiana para *S. aureus* e *B.cereus*. Porém, para *E.coli*, as nanopartículas apresentaram maior atividade antimicrobiana, comportamento semelhante ao obtido neste estudo.

Hill et al. (2013) utilizaram PLGA para nanoencapsular extrato de canela e relataram que as nanocápsulas sintetizadas apresentaram efeito inibitório contra *Salmonella enterica* sorovar *Typhimurium* e *Listeria monocytogenes*, com concentrações variando de 224,42 a 549,23 µg/mL.

Diferentes estudos avaliando a atividade antimicrobiana de nanopartículas sintetizadas com diferentes materiais de parede também têm sido realizados. Perelshtein et al. (2013) sintetizaram nanopartículas de quitosana e não constaram efeito antimicrobiano contra *E. coli*. Os mesmos autores sintetizaram também nanopartículas de quitosana modificadas (adicionadas de zinco), observando então efeito antimicrobiano para este microrganismo.

Jagtap e Bapat (2013) avaliaram o efeito antimicrobiano de nanopartículas de prata sintetizadas com extrato da semente de *Artocarpus heterophyllus* Lam., constatando efeito antimicrobiano contra *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

Daniel et al. (2013) avaliaram o efeito antimicrobiano de nanopartículas de prata, sintetizadas com extrato de folhas de *Dodonaea viscosa*, constatando efeito antimicrobiano para *E. coli*, *K.pneumonia*, *P.fluorescens*, *S. aureus* e *B. subtilis*.

## 6 CONCLUSÕES

Das frutas estudadas, o resveratrol foi identificado somente em subproduto de goiaba e pitanga roxa, a cumarina em polpa de manga e subprodutos de goiaba, maracujá e pitanga. A quercetina foi identificada em todas as polpas analisadas, com exceção da polpa de graviola. Para os subprodutos, identificou-se quercetina nos extratos de acerola, caju, goiaba, manga e pitanga.

Esta pesquisa demonstrou que os subprodutos de frutas, em especial o de pitanga roxa, são boas fontes de compostos bioativos, dessa forma, a utilização destes produtos, que são abundantes e provenientes de fontes de baixo custo, pode ser realizada por indústrias alimentícias, com oportunidades de desenvolvimento de novos produtos nutracêuticos, além de redução de subprodutos agroindustriais e custo industrial, promovendo positivo impacto econômico e ambiental.

As nanopartículas sintetizadas utilizando PLGA 65:35 apresentaram menores tamanhos de partícula, com exceção da amostra sintetizada com extrato de acerola, que apresentou menor tamanho de partícula quando sintetizada com PLGA 50:50. Todas as amostras apresentaram baixo índice de polidispersidade, correspondendo a heterogênea distribuição na emulsão analisada quanto ao tamanho das partículas obtidas.

A síntese de nanopartículas de PLGA utilizando extratos de frutas (especialmente utilizando PLGA 65:35) pode apresentar importantes aplicações na indústria de alimentos para inibição de microrganismos (*E. coli* K12 e *L. monocytogenes*).

## REFERÊNCIAS

- AABY, K.; MAZUR, S.; NES, A.; SKREDE, G. Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. **Food Chemistry**, v. 132, p. 86–97, 2012.
- ABDALLA, A.E.M.; DARWISH, S.M.; AYAD, E.H.E.; EL-HAMAHMY, R.M. Egyptian mango by-product 2: Antioxidant and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel. **Food Chemistry**, v. 103, p. 1141–1152, 2007.
- ABE, L.T.; MOTA, R.V.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.27, n.2, p.394-400, 2007.
- ABIR – Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas Não Alcolólicas.** Sucos movimentam R\$ 2 bi por ano, 2010. Disponível em: <[http://www.abir.org.br/article.php?id\\_article=4180](http://www.abir.org.br/article.php?id_article=4180)>. Acesso em: 23 nov 2010.
- ABRAHAM, K.; WOHLIN, F.; LINDTNER, O.; HEINEMEYER, G.; LAMPEN, A. Toxicology and risk assessment of coumarin: Focus on human data. **Mol. Nutr. Food Res.** V. 54, p. 228–239, 2010.
- ABREU, D.A. **Caracterização de polpas e subprodutos de frutos do maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener) cultivados nos sistemas convencional e orgânico.** 2011. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Ceará.
- AFANAS'EV, I.B.; DOROZHKO, A.I.; BRODSKII, A.V.; KOSTYUK, V.A.; POTAPOVIITCH, A.L. Chelating and free radical scavenging mechanism of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. **Biochem. Pharmacol.**, v. 38, p. 1763-1769, 1989.
- AHMAD, K.F.; SULTANA, N. Biological studies on fruit pulp and seeds of *Annona squamosa*. **J. Chem.Soc. Pak.**, v. 25, n.4, p. 331-334, 2003.
- ALBERINA, E.; ALLÉMAN, E. Encapsulation of alimentary bioactive oils of the Baikal Lake area into pH-sensitive micro- and nanoparticles. **LWT - Food Science and Technology**, p. 1- 7, 2013.
- ALMEIDA, M.M.B.; SOUSA, P.H.M.; ARRIAGA, A.M.C.; PRADO, G.M.; MAGALHÃES, C.E.C.; MAIA, G.A.; LEMOS, T.L.G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2155–2159, 2011.
- ALMEIDA, A.A.P. **Atividade antimicrobiana de extratos de compostos fenólicos e nitrogenados do café.** 2007. 135f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.
- AL-ZOREKY, N.S. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. **International Journal of Food Microbiology**, v. 134, p. 244–248, 2009.

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

ARAÚJO, M.L.; SILVA, C.F.C.; SOUZA, R.M.; FILHO, A.L.M. Atividade antimicrobiana de óleos extraídos de açaí e de pupunha sobre o desenvolvimento de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 4, p. 985-990, 2013.

ARCAN, I.; YEMENICIOGLU, A. Incorporating phenolic compounds opens a new perspective to use zein films as flexible bioactive packaging materials. **Food Research International**, v. 44, p. 550–556, 2011.

ARUNG, E.T.; FURUTA, S.; ISHIKAWA, H.; KUSUMA, I.W.; SHIMIZU, K.; KONDO, R. Anti-melanogenesis properties of quercetin- and its derivative-rich extract from *Allium cepa*. **Food Chemistry**, v. 124, p. 1024–1028, 2011.

Astete, C. E. and Sabliov, C. M. Synthesis and characterization of PLGA nanoparticles. **Journal of Biomaterials Science - Polymer Edition**, v. 17, n. 3, p. 247–289, 2006.

ATHA, M.; BACK, J.H.; KOPELOVICH, L.; BICKERS, D.R.; KIM, A.L. Multiple molecular targets of resveratrol: Anti-carcinogenic mechanisms. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 486, p. 95–102, 2009.

BAGETTI, M.; FACCO, E.M.P.; PICCOLO, J.; HIRSCH, G.E.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.; KOBORI, C.N.; VIZZOTO, M.; EMANUELLI, T. Physicochemical characterization and antioxidant capacity of pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.). **Cienc. Tecnol. Aliment.**, v. 31, n.1, p. 147-154, 2011.

BALASUNDRAM, N. SUNDRAN, K. SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191–203, 2006.

BARBOSA, M.M.. **Obtenção de carotenóides e flavonóides a partir do bagaço do pedúnculo do caju por maceração enzimática**. 2010. 110f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Ceará, Ceará.

BASTOS, D.H.M.; ROGERO, M.M.; ARÊAS, J.A.G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, v. 53, n.5, p. 646- 656, 2009.

BEHLING, E.A.; SENDÃO, M.C.; FRANCESCATO, H.D.C.; ANTUNES, L.M.G.; BIANCHI, M.L.P. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alim. Nutr.** , v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.

BELLUZZO, A.S.F. **Caracterização parcial da polifenoloxidase e avaliação de compostos fenólicos e antioxidantes em pêssego (cv. BIUTI)**. 2008. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

- BHATTACHARYYA, S.S.; PAUL, S.; KHUDA-BUKHSH, A.R. Encapsulated plant extract (Gelsemium sempervirens) poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles enhance cellular uptake and increase bioactivity in vitro. **Experimental Biology and Medicine**, v. 235, p.678-688, 2010.
- BIEGELMERYER, R.; ANDRADE, J.M.M.; ABOY, A.L.; APEL, DRESCH, R.R.; MARIN, R.; RASEIRA, M.C.B.; HENRIQUES, A.M. Comparative Analysis of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of Red (*Psidium cattleianum*) and Yellow (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) Strawberry Guava Fruit. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 7, p. 991-996, 2011.
- BISHT, K.; WAGNER, K.H.; BULMER, A.C. Curcumin, resveratrol and flavonoids as anti-inflammatory, cyto- and DNA-protective dietary compounds. **Toxicology**, v 278, p. 88–100, 2010.
- BOOTS, A.W.; WILMS, L.C.; SWENNEN, E.L.R.; KLEINJANS, J.C.S.; BAST, A.; HAENEN, G.R.M.M. In vitro and ex vivo anti-inflammatory activity of quercetin in healthy volunteers. **Nutrition**, v. 24, p. 703–710, 2008.
- BOROWSKA, E.J.; MAZUR, B.; KOPICIUCK, R.G.; *Buszewski, B.* Polyphenol, Anthocyanin and Resveratrol Mass Fractions and Antioxidant Properties of Cranberry Cultivars. **Food Technol. Biotechnol.** 47 (1) 56–61, 2009.
- BOTRE, D.A.; SOARES, N.F.F.; ESPITIA, P.J.P.; SOUSA, S.; RENHE, I.R.T. Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta. **Rev. Ceres**, v. 57, n.3, p. 283-291, 2010.
- BRAGA, L.C.; SHUPP, J.W.; CUMMINGS, C.; JETT, M.; TAKAHASHI, J.A.; CARMO, L.S.; CHARTONE-SOUZA, E.; NASCIMENTO, A.M.A. Pomegranate extract inhibits *Staphylococcus aureus* growth and subsequent enterotoxin production. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, p.335–339, 2005.
- BRAGA, A.C.A.; SILVA, A.E.; PELAIS, A.C.A.; BICHARA, C.M.G.; POMPEU, D.R. Atividade antioxidante e quantificação de compostos bioativos dos frutos de abricó (*Mammea Americana*). **Alim. Nutr.**, v.21, n.1, p. 31-36, 2010.
- BRANDT, A.L.; CASTILLO, A.; HARRIS, K.B.; KEETON, J.T.; HARDIN, M.D.; TAYLOR, T.M. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Food Antimicrobials Applied Singly and in Combination. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 9, p. 557- 563, 2010.
- BRASIL, 2010. Lei n. 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Subprodutos Sólidos. **Diário Oficial**, Brasília, 03 de agosto de 2010. Seção 1, p.3-6.
- BUBONJA-SONJE, M.; GIACOMETTI, J.; ABRAM, M. Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and Rosemary extract polyphenols. **Food Chemistry**, v.27, p. 1821–1827, 2011.
- CAMARGO, M.S.; RADDI, M.S.G. Efeito da quercetina sobre o crescimento e atividade hemolítica de *Staphylococcus aureus*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.3, p.71,78, 2008.

CANNING, C.; SUN, S.; JI, J.; GUPTA, S.; ZHOU, K. Antibacterial and cytotoxic activity of isoprenylated coumarin mammea A/AA isolated from *Mammea Africana*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 147, p. 259–262, 2013.

CARVALHO, W.; FONSECA, M.E.N.; SILVA, H.R.; BOITEUX, L.S.; GIORDANO, L.B. Estimativa indireta de teores de licopeno em frutos de genótipos de tomateiro via análise colorimétrica. **Hortic. bras.**, v. 23, n. 3, p. 819-825, 2005.

CASAS, L.; MANTELL, C.; RODRÍGUES, M.; OSSA, E.J.M.; ROLDÁN, A.; ORY, I.D.; CARO, I.; BLANDINO, A. Extraction of resveratrol from the pomace of Palomino fino grapes by supercritical carbon dioxide. **Journal of Food Engineering**, v. 96, p. 304–308, 2010.

CASWELL, H. The role of fruit juice in the diet: an overview. **Nutrition Bulletin**, London, v.34, p. 273–288, 2009.

CELEGHINE, R.M.S.; VILEGAS, J.H.Y.; LANÇAS, F.M. Extraction and Quantitative HPLC Analysis of Coumarin in Hydroalcoholic Extracts of *Mikania glomerata Spreng.* (“guaco”) Leaves. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 12, n. 6, p. 706-709, 2001.

CHAUDRY, Q.; CASTLE, L. Food applications of nanotechnologies: An overview of opportunities and challenges for developing countries. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, p. 595-603, 2011.

CHEN, C.; ZHOU, J.; JI, C. Quercetin: A potential drug to reverse multidrug resistance. **Life Sciences**, v. 87, p. 333–338, 2010.

CHEN, J.P.; TAI, C.Y.; CHEN, B.H. Effects of different drying treatments on the stability of carotenoids in Taiwanese mango (*Mangifera indica* L.). **Food Chemistry**, v. 100, n. 3, p.1005–1010, 2007.

CHOI, M.; RUKTANONCHAI, U.; MIN, S.; CHUN, J.; SOOTTITANTAWAT, A. Physical characteristics of fish oil encapsulated by b-cyclodextrin using an aggregation method or polycaprolactone using an emulsion–diffusion method. **Food Chemistry**, v.119, p.1694–1703, 2010.

COSTA, J.M.C.; FELIPE, E.M.F.; MAIA, G.A.; BRASIL, I.M.; HERNANDEZ, F.F.H. Comparação dos parâmetros físico-químicos e químicos de pós alimentícios obtidos de subprodutos de abacaxi. **Rev. Ciên. Agron.**, v.38, n.2. p.228-232, 2007.

CÔTE, J.; CAILLET, S.; DOYON, G.; DUSSALT, D.; SYLVAIN, J.F.; LACROIX, M. Antimicrobial effect of cranberry juice and extracts. **Food Control**, v. 22, p.1413-1418, 2011.

COTTART, C.H.; NIVET-ANTOINE, V.; LAGUILLIER-MORIZOT, C.; BEAUDEUX, J.L. Resveratrol bioavailability and toxicity in humans. **Mol. Nutr. Food Res.**, v. 54, p. 7–16, 2010.

COUNET, C.; CALLEMIEN, D.; COLLIN, S.; Chocolate and cocoa: New sources of *trans*-resveratrol and *trans*-piceid. **Food Chemistry**, v.98, n.4, p. 649–657, 2006.

- CUSHEN, M.; KERRY, J.; MORRIS, M.; RUZ-ROMERO, M.; CUMMINS, E. Nanotechnologies in the food industry e Recent developments, risks and regulation. **Trends in Food Science & Technology**, xxx, p.1-17, 2011.
- CURIEL, J.A.; MUÑOZ, R.; FELIPE, F.L. pH and dose-dependent effects of quercetin on the fermentation capacity of *Lactobacillus plantarum*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, p. 926–933, 2010.
- DAMIANI, C.; BOAS, E.V.B.V.; JUNIOR, M.S.S.; CALIARI, M.; PAULA, M.L.; PEREIRA, D.E.P.; SILVA, A.G.M. Análise física, sensorial e microbiológica de geléias de manga formuladas com diferentes níveis de cascas em substituição à polpa. **Ciência Rural**, v.38, n.5, p.1418-1423, 2008.
- DANHIER, F.; ANSORENA, E.; SILVA, J.M.; COCO, R.; BRETON, A.L.; PRÉAT, V. PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications. **Journal of Controlled released**, v. 161, p.505-562, 2012.
- DANIEL, S.C.G.K.; VINOTHINI, G.; SUBRAMANIAN, N.; NEHRU, K.; SIVAKUMAR, N. Biosynthesis of Cu, ZVI, and Ag nanoparticles using *Dodonaea viscosa* extract for antibacterial activity against human pathogens. **Journal od Nanoparticle Research**, v.15, p. 3-10, 2013.
- DAVID, J.M.P.; DAVID, J.P.; SANTOS, V.L.C.S.; SANTOS, M.L.S.; MOTA, M.D. Resveratrol: ações e benefícios à saúde humana. **Diálogos & Ciência**, n.10, p. 1-11, 2007.
- DEBIB, A.; TIR-TOUIL, A.; MOTHANA, R.A.; MEDDAH, B.; SONNET, P. Phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of two fruit varieties of algerian ficuscarical. **Journal of Food Biochemistry**, p.1-9, 2013.
- DEGÁSPARI, C.H.; NINA, W. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.
- DELANOUIS, B.; CORDELIER, S.; CONREUX, A.; CLÉMENT, C.; JEANDET, P. Molecular engineering of resveratrol in plants. **Plant Biotechnology Journal**, v.7, p. 2–12, 2009.
- DENG, S.; WEST, B.J.; JENSEN, C.J. A quantitative comparison of phytochemical components in global noni fruits and their commercial products. **Food Chemistry**, v. 122, p. 267–270, 2010.
- DIAS, M.G.; CAMÕES, M.F.G.F.C.; OLIVEIRA, L. Carotenoids in traditional Portuguese fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 113, n. 3, p. 808–815, 2009.
- DOCHERTY, J.J.; FU, M.M.; TSAI, M. Resveratrol selectively inhibits *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.47, p. 239-246, 2001.
- DONSI, F.; ANNUNZIATA, M.; SESSA, M.; FERRARI, G. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p.1908- 1914, 2011.

- DU, W.X.; OLSEN, C.W.; ALVENA-BUSTILLOS, R.J.; FRIEDMAN, M.; McHUGH, T.H. Physical and Antibacterial Properties of Edible Films Formulated with Apple Skin Polyphenols. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 2, p. 149-155, 2011.
- DUDLEY, J.; DAS, S.; MUKHERJEE, S.; DAS, K.D. Resveratrol, a unique phytoalexin present in red wine, delivers either survival signal or death signal to the ischemic myocardium depending on dose. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 20, p. 443–452, 2009.
- DUSSOSSOY, E.; BRAT, P.; BONY, E.; BOUDARD, F.; POUCHERET, P.; MERTZ, C.; GIAIMIS, J.; MICHEL, A. Characterization, anti-oxidative and anti-inflammatory effects of Costa Rican noni juice (*Morinda citrifolia* L.). **J Ethnopharmacol.** v. 133, n.1, p.108-15, 2011.
- DUZZIONI, A.G.; FRANCO, A.G.; DUZZIONI, M.; SYLOS, C.M. Determinação da atividade antioxidante e de constituintes bioativos em frutas cítricas. **Alim. Nutr.**, v. 21, n. 4, p. 643-649, 2010.
- EKSTROM, A.M.; SERAFINI, M.; NYRÉN, O.; WOLK, A.; BOSETTI, C.; BELLOCCO, R. Dietary quercetin intake and risk of gastric cancer: results from a population-based study in Sweden. **Annals of Oncology** v.22, p. 438–443, 2011.
- ESPINA, L.; SOMOLINOS, M.; LORÁN, S.; CONCHELLO, P.; GARCÍA, D.; PAGÁN, R. Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. **Food Control**, v. 22, p. 896-902, 2011.
- FALLER, A.L.K.; FIALHO, E. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. **Rev Saúde Pública**, v.43, n.2, p.211-218, 2009.
- FARIA, M.; OLIVEIRA, L.B.D.; COSTA, F.E.C. Determinação da qualidade microbiológica de polpas de açaí congeladas comercializadas na cidade de Pouso Alegre- MG. **Alimentos e Nutrição**, v.23, n.2, p. 243-249, 2012.
- FATHI, M.; MOZAFARI, M.R.; MOHEBBI, M. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. **Trends in Food Science & Technology**, v. 23, p.13-27, 2012.
- FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v. 18, n.1, p.23-36, 2006.
- FERREIRA, M.M.M.; OLIVEIRA, A.H.C.; SANTOS, N.S. Flavonas e flavonóis: novas descobertas sobre sua estrutura química e função biológica. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 2, n. 2, p. 57-60, 2008.
- FERREIRA, D.S.; ROSSO, V.V.; MERCADANTE, A.Z. Compostos bioativos presentes em amora-preta (*Rubus* spp.). **Rev. Bras. Frutic.**, v. 32, n. 3, p. 664-674, 2010.
- FERNANDES, T.N.; RESENDE, J.V.; CRUVINEL, S.R.S.;RENO, M.J. Relação entre o comportamento reológico e a dinâmica do congelamento e descongelamento de polpa de

morango adicionada de sacarose e pectina. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 188-204, 2010.

FIANCO, A.L.B.; FALCÃO, M.A.; CASSEL, E.; MILÃO, D. Determinação da atividade antimicrobiana e teor de polifenóis totais de extratos etanólicos de própolis das abelhas sem ferrão *Tetragonisca angustula* (Jataí) e *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna). **Revista Liberato**, v. 14, n. 21, p. 01-112, 2013.

FILIP, V.; PLOCKOVÁ, M.; SMIDRKAL, J.; SPICKOVÁ, Z.; MELZOCH, K.; SCHMIDT, S. Resveratrol and its antioxidant and antimicrobial effectiveness. **Food Chemistry**, v. 83, p.585–593, 2003.

FIORENTINO, A.; D'ABROSKA, B.; PACIFICO, S.; MASTELLONE, C.; SCOGNAMIGLIO, M.; MONACO, P. Identification and assessment of antioxidant capacity of phytochemicals from kiwi fruits. **J Agric Food Chem.** v. 57, n.10, p.4148-55, 2009.

FISCHER, U.A.; CARLE, R.; KAMMERER, D.R. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by CLAE-DAD–ESI/MSn. **Food Chemistry**, v. 127, p. 807–821, 2011.

FOGED, C.; BRODIN, B.; FROKJAER, S.; SUNDBLAD, A. Particle size and surface charge affect particle uptake by human dendritic cells in an in vitro model, **Int. J. Pharm.**298, p.315-322, 2005.

**FOOD INGREDIENTS BRASIL.** Agentes antimicrobianos químicos e naturais, n.15, 2010. Disponível em: < <http://www.revista-fi.com/materias/155.pdf>>. Acesso em: 03agos2011.

FOSTER, T.; VASAVADA, P. C. **Beverage Quality and Safety.** Institute of Food Technologists. [S.I.]: CRC Press, 2003. 248p.

FOURNIER, B.; HOOPER, D.C. Effects of Mutations in GrlA of Topoisomerase IV from *Staphylococcus aureus* on Quinolone and Coumarin Activity. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v.42, n.8, p. 2109–2112, 1998.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P.(Ed). Anthocyanins as food colors. **Academic Press**, New York, p. 181-207., 1982.

FREITAS, A.A.; DETONI, A.M.; CLEMENTE, E.; OLIVEIRA, C.C. Determinação de resveratrol e características químicas em sucos de uvas produzidas em sistemas orgânico e convencional. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 57, n.1, p. 001-005, 2010.

FROJDO, S.; COZZONE, D.; VIDAL, H.; PIROLA, L. Resveratrol is a class IA phosphoinositide 3-kinase inhibitor. **The Biochemical Journal**, v. 406, p. 511-518, 2007.

FU, L.; XU, B.T.; XU, X.R.; GAN, R.Y.; ZHANG, Y.; XIA, E.Q.; LI, H.B. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry**, v. 129, 345–350, 2011.

GALVAO, K.C.S.; SATOS, S.S.F. ; LEAO, M.V.P. ; SILVA, C.R.G. Análise da atividade inibitória de *Passiflora edulis Sims f. flavicarpa* sobre *Candida albicans*. **Revista Biociências**, UNITAU. v. 16, n. 2, p. 80-85, 2010.

GANEVA, M.G.; FAKAYODE, S.O.; LOSSO, J.N.; NOSTRUM, C.F.; SABLIOV, C.M.; WARNER, I.M. Delivery of phytochemical thymoquinone using molecular micelle modified poly(D, L lactide-co-glycolide) (PLGA) nanoparticles. **Nanotechnology**, v.21, p.1-10, 2010.

GARCIA, D.; GARCIA-CELA, E.; RAMOS, A.J.; SANCHIS, V.; MARÍN, S. Mould growth and mycotoxin production as affected by *Equisetum arvense* and *Stevia rebaudiana* extracts. **Food Control**, v. 22, p. 1378-1384, 2011.

GARCÍA-RUIZ, A.; BARTOLOMÉ, B.; MARTÍNEZ- RODRIGUES, A.J.; PUEYO, E.; ALVAREZ, P.J.M.; MORENO-ARRIBAS. Nuevas perspectivas de la aplicación de los polifenoles como antimicrobianos en enología, **ACE: Revista de enología**, n. 83, 2007.

GENOVESE, M.I.; PINTO, M.S.; GONÇALVES, A.E.S.S.; LAJOLO, F.M. Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Exotic Fruits and Commercial Frozen Pulp from Brazil. **Food Science and Technology International**, v.14, n.3, p. 207-214, 2008.

GIADA, M. L. R.; MANCINI FILHO, J. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. **Publicatio UEPG Ciencias Biologicas e da Saude**, v. 12, n. 4, p. 7-15, 2006.

GIWELI, A.A.; DŽAMIĆ, A.M.; SOKOVIĆ, M.; RISTIĆ, M.S.; JANAČKOVIĆ, P.; MARIN, P.D. The chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Salvia fruticosa* growing wild in libya. **Archives of Biological Sciences**, v.65, n. 1, v. 321-329, 2013.

GOMES, C.; MOREIRA, R.G.; CASTELL-PEREZ, E. Poly (DL-lactide-co-glycolide) (PLGA) Nanoparticles with Entrapped trans-Cinnamaldehyde and Eugenol for Antimicrobial Delivery Applications. **Journal of Food Science**, v. 00, n.00, 2011.

GORGUS, E.; LOHR, C.; RAQUET, N.; GUTH, S.; SCHRENK, D. Limettin and furocoumarins in beverages containing citrus juices or extracts. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 93–98, 2010.

GRAIKOU, K.; KAPETA, S.; ALIGIANNIS, N.; SOTIROUDIS, G.; CHONDROGIANNI, N.; GONOS, E.; CHINOI, I. Chemical analysis of Greek pollen - Antioxidant, antimicrobial and proteasome activation properties. **Chemistry Central Journal**, v. 5, p.33-41, 2011.

GRESELE, P.; CERLETTI, C.; GUGLIELMINI, G.; PIGNATELLI, P.; GAETANO, G.; VIOLI, F. Effects of resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: an update. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 22, p. 201–211, 2011.

GUARDA, A.; RUBILAR, J.F.; MILTZ, J.; GALOTTO, M.J. The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol. **International Journal of Food Microbiology**, v. 146, p. 144–150, 2011.

GUNCI, I. Antioxidant properties of resveratrol: A structure–activity insight. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 210–218, 2010.

GUNDUZ, G.T. Antimicrobial activity of sloe berry purees on *Salmonella* spp. **Food Control**, v. 32, p. 354-358, 2013.

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

HAQUE, A.; SIDDIQI, M.M.A.; RAHMAN, A.F.M.M.; CHOWDHURY, A.M.S.; HASAN, C.M. Antimicrobial and cytotoxic activities of the crude extracts of *Callistemon linearis*. **International Journal of Biosciences**, v. 3, n. 3, p. 129-133, 2013.

HASSIMOTTO, N.M.A.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Antioxidant capacity of Brazilian fruit, vegetables and commercially-frozen fruit pulps. **J. Food Compos. Anal.** v. 22, p. 394–396, 2009.

HEIM, K.E.; TAGLIAFERRO, A.R.; BOBILYA, D.J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity Relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13 p. 572–584, 2002.

HILL, L.E.; TAYLOR, M.; GOMES, C. Antimicrobial Efficacy of Poly (DL-lactide-co-glycolide) (PLGA) Nanoparticles with Entrapped Cinnamon Bark Extract against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium*. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 4, p. 626-632, 2013.

HOFFMANN-RIBANI, R.; RODRIGUES-AMAYA, D.B. Otimização de método para determinação de flavonóis e flavonas em frutas por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando delineamento estatístico e análise de superfície de resposta. **Quim. Nova**, v. 31, n. 6, p. 1378-1384, 2008.

HOFFMANN RIBANI, R. **Compostos fenólicos em erva mate e frutas**. 2006. 138f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

HOSSEINI, S.F.; ZANDI, M.; REZAEI, M.; FARAHMANDGHAVI, F. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, p. 50– 56, 2013.

HORST, M. A. ; LAJOLO, F. M. . **Biodisponibilidade de compostos bioativos de alimentos**. In: Silvia Maria Franciscato Cozzolino. (Org. ). Biodisponibilidade de Nutrientes. 2 ed. São Paulo: Manole, v. 1, p. 697-731, 2007.

HU, Q.; FANG, Y.; YANG, Y.; MA, N.; ZHAO, L. Effect of nanocomposite-based packaging on postharvest quality of ethylene-treated kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) during cold storage. **Food Research International**, v. 44, p. 1589–1596, 2011.

HUBER, L.S.; RODRIGUES-AMAYA, D.B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alim. Nutr.**, v.19, n.1, p. 97-108, 2008.

HUSSAIN, A.I.; ANWAR, F.; NIGAM, P.S.; SARKER, S.D.; MOORE, J.E.; RAO, J.R.; MAZUMDAR, A. Antibacterial activity of some Lamiaceae essential oils using resazurin as an indicator of cell growth. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 1199-1206, 2011.

HUS IN'T VELD. Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. **International Journal of Food Microbiology**, v.33, n.1, p. 1–18, 1996.

IAL- Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 6. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.1020p.

IANNITELLI A, GRANDE R, STEFANO AD, GIULIO MD, SOZIO P, BESSA LJ, LASERRA S, PAOLINI C, PROTASI F, CELLINI L. Potential antibacterial activity of carvacrol-loaded poly (DL-lactide-co-glycolide) (PLGA) nanoparticles against microbial biofilm. **Intl J Mol Sci**, v. 12, n.8, p. 5039-51, 2011.

**IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. POF 2008-2009: mais de 90% da população comem poucas frutas, legumes e verduras, 2011. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia\\_visualiza.php?id\\_noticia=1937&id\\_pagina=1](http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1937&id_pagina=1)>. Acesso em: 09 dez 2011.

**IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Produção agrícola municipal, 2010. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2010/PAM2010\\_Publicacao\\_completa.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2010/PAM2010_Publicacao_completa.pdf)>. Acesso em: 09 dez 2011.

**IBRAF – Instituto Brasileiro de Frutas**. Frutas frescas. 2011. Disponível em: <[http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est\\_frutas.asp](http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est_frutas.asp)>. Acesso em: 09 dez 2011.

**ICMSF Micro Organisms in Foods 6 - Microbial Ecology of Food Commodities** - Blackie Academic & Professional 1998, 615p. 10. **ICMSF Micro Organisms in Foods v. 7** Microbiological testing in food safety management. Kluwer Academic/Plenum Publishers 2002, 362.p.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V.I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1821–1835, 2011.

IKEDA, R.; WADA, M.; NISHIGAKI, T.; NAKASHIMA, K. Quantification of coumarin derivatives in Noni (*Morinda citrifolia*) and their contribution of quenching effect on reactive oxygen species. **Food Chemistry**, v. 113, p. 1169–1172, 2009.

INFANTE, J.; SELANI, M.M.; TOLEDO, N.M.V.; SILVEIRA-DINIZ, M.F.; ALENCAR, S.V.; SPOTO, M.H.F. Atividade antioxidante de resíduos agroindustriais de frutas tropicais. **Alimentos e Nutrição**, v. 24, n.1, p.87-91, 2013.

JACQUES, A.C.; PERTUZATTI, P.B.; BARCIA, M.T.; ZAMBIAZI, R.C.; CHIM, C.F. Estabilidade de compostos bioativos em polpa congelada de amora-preta (*Rubus fruticosus*) cv.tupy. **Química Nova**, v.. 33, n. 8, p. 1720-1725, 2010.

JAGTAP, U.B.; BAPAT, V.A. Green synthesis of silver nanoparticles using *Artocarpus heterophyllus* Lam. Seed extract and its antibacterial activity. **Industrial Crops and Products**, v. 46, p. 132–137, 2013.

JÁUREGUI, A.M.M.; RAMOS-ESCUADERO, F.; URETA, C.A.O.; CASTAÑEDA, B.C.; CAPARÓ, F.L. Evaluación de compuestos con actividad biológica em casca de camu camu (*Myrciaria dubia*), guinda (*Prunus serotina*), tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) y carambola (*Averrhoa carambola*, L.) cultivadas em Perú. **Rev Soc Quím Perú**, v. 75, n.4, p. 431-438, 2009.

JÁUREGUI, A.M.M.; RAMOS-ESCUADERO, F.; URETA, C.A.O.; CASTAÑEDA, B.C.; CAPARÓ, F.L. evaluación de compuestos con actividad biológica en cáscara de camu camu (*Myrciaria dubia*), guinda (*Prunus serotina*), tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) y carambola (*Averrhoa carambola*, L.) cultivadas en Perú. **Rev Soc Quím Perú.**, v. 75, n. 4, p. 431-438, 2009.

JERKOVIC, V.; BROHAN, M.; MONNART, E.; NGUYEN, F.; NIZET, S.; COLLIN, S. Stilbenic Profile of Cocoa Liquors from Different Origins Determined by RP-CLAE-APCI( $\beta$ )-MS/MS. Detection of a New Resveratrol Hexoside. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 7067–7074, 2010.

JOE, M.M.; BRADEEBA, K.; PARTHASARATHI, R.; SIVAKUMAAR, P.K.; CHAUHAN, P.S.; TIPAYNO, S.; BENSON, A.; SA, T. Development of surfactin based nanoemulsion formulation from selected cooking oils: Evaluation for antimicrobial activity against selected food associated microorganisms. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. xxx, xxx–xxx, 2011.

KAHKONEN, M.P.; HOPIA, A.I.; HENONEN, M. Berry Phenolics and Their Antioxidant Activity. **J. Agric. Food Chem.**, v. 49, n. 8, p 4076–4082, 2001.

KAJDZANOSKA, M.; PETRESKA, J.; STEFOVA, M. Comparison of Different Extraction Solvent Mixtures for Characterization of Phenolic Compounds in Strawberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 5272–5278, 2011.

KATALINIC, V.; MOZINA, S.S.; SKROZA, D.; GENERALIC, I.; ABRAMOVIC, H.; MILOS, M.; LJUBENKOV, I.; PISKERNIK, S.; PEZO, I.; TERPINC, P.; BOBAN, M. Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). **Food Chemistry**, v. 119, p.715–723, 2010.

KHAN, M.I.; AHMAD, A.; KHAN, S.A.; YUSUF, M.; SHAHID, M.; MANZOOR, N.; MOHAMMAD, F. Assessment of antimicrobial activity of Catechu and its dyed substrate. **Journal of Cleaner Production**, v. 19, p. 1385-1394, 2011.

KLEEMANN, R.; VERSCHUREN, L.; MORRISON, M.; ZADELAAAR, S.; ERK, M.J.; WIELINGAP.Y.;KOOISTRA, T. Anti-inflammatory, anti-proliferativeandanti-atherosclerotic effectsof quercetin inhuman in vitro and in vivo models. **Atherosclerosis** xxx (2011) xxx–xxx

- KIM, H.; MOON, J.Y.; KIM, H.; LEE, D.S.; CHO, M.; CHOI, H.K.; KIM, H.S.; MOSADIK, A.; CHO, S.K. Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. **Food Chemistry**, v. 121, p. 429–436, 2010.
- KIM, J.M.; MARSCHAL, M.R.; CORNELL, J.A.; PRESTON, J.F.; WEI, C.I. Antibacterial Activity of Carvacrol, Citral, and Geraniol against *Salmonella typhimurium* in Culture Medium and on Fish Cubes. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 6, p. 1364–1368, 1995.
- KISELEV, K.V. Perspectives for production and application of resveratrol. **Appl Microbiology Biotechnology**, v. 90, p. 417–425, 2011.
- KUBOLA, J.; SIRIAMORNUN, S. Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). **Food Chemistry**, v. 127, p. 1138–1145, 2011.
- KUMAR, P.S.; GOHSH, G.; ROUT, S.K.; PAUL, D. Synthesis and antimicrobial evaluation of some novel 4-hydroxy coumarin derivatives bearing azo moiety. **Rasayan Journal of Chemistry**, v. 6, n.2, p.147-152, 2013.
- KUMARI, A.; YADAV, S.K.; YADAV, S.C. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems, **Colloids Surf. B Biointerfaces**, v. 75, p. 1-18, 2010.
- LACY, A.; O’KENNEDY, R. Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer. **Curr Pharm Des.**, v. 10, n.30, p. 3797-811, 2004.
- LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 1390-1393, 1997.
- LAUGHTON, J. M.; EVANS, P. J.; MORONEY, M. A.; HOULT, J. R. S. Inhibition of mammalian lipoxygenase and cyclooxygenase by flavonoid and phenolic dietary additives. **Biochem. Pharmacol.**, v.18, p.1673-1681, 1991.
- LEE, C.J.; CHEN, L.G.; CHANG, T.L.; KE, W.E.; LO, Y.F.; WANG, C.C. The correlation between skin-care effects and phytochemical contents in *Lamiaceae* plants. **Food Chemistry**, v. 124, n. 3, p. 833–841, 2011.
- LEMOS, D.M.; SILVA, S.F.; LIMA, J.C.B.; SILVA, F.B.; SOUSA, E.P. Parâmetros químicos, físicos e físico-químicos de resíduos da manga. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.8, n.2, p.01-03, 2013.
- LI, Y.; LI, C.; SUN, Y.; NIU, Y.; LIU, L.; MEI, Q. Are the ingredients extracted from fruits and vegetables superior to fruits and vegetables in cancer prevention? **Medical Hypotheses**, v. 75, p.77–78, 2010.
- LIANG, Z.; OWENS, C.L.; ZHONG, G.Y.; CHENG, L. Polyphenolic profiles detected in the ripe berries of *Vitis vinifera* germplasm. **Food Chemistry**, v. 129, p. 940–950, 2011.

LLORES, A.; LLORET, E.; PICOUET, P.A.; TRBOJEVICH, R.; FERNANDEZ, A. Metallic-based micro and nanocomposites in food contact materials and active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. xx, p. 1-11, 2011.

LUO, Y.; TENG, Z.; WANG, X.; WANG, Q. Development of carboxymethyl chitosan hydrogel beads in alcohol-aqueous binary solvent for nutrient delivery applications. **Food Hydrocolloids**, v. 31, p. 332-339, 2013.

MACHADO, T.F.; PEREIRA, R.C.A.; BATISTA, V.C.V.. Seasonal variability of the antimicrobial activity of the essential oil of *Lippia alba*. **Rev. Ciênc. Agron.** v.45, n.3, p. 515 – 519, 2014.

MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M.; LIMA, A.S.; CARVALHO, J.M.; FIGUEIREDO, R.W. **Processamento de Frutas Tropicais: nutrição, produtos e controle de qualidade**. Fortaleza: Editora UFC, 2009. 277p.

MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M.; LIMA, A.S.L. **Processamento de Frutas Tropicais**. Fortaleza, Edições UFC, 2007. 320p.

MAHATTANADUL, S.; RIDTITID, W.; NIMA, S.; PHDOONGSOMBUT, N.; RATANASUWON, P.; KASIWONG, S. Effects of *Morinda citrifolia* aqueous fruit extract and its biomarker scopoletin on reflux esophagitis and gastric ulcer in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.134, p. 243–250, 2011.

MAMUHD, S.; SALEEM, M.; SIDDIQUE, S.; AHMED, R.; KHANUM, R.; PERVEEN, Z. Volatile components, antioxidant and antimicrobial activity of *Citrus acida* var. sour lime peel oil. **Journal of Saudi Chemical Society**, v.13, p. 195–198, 2009.

MANTHEY, J.A. CLAE-MS analysis of coumarins and furanocoumarin dimers in immature grapefruit. **Proc. Fla. State Hort. Soc.** v.118, p.429-436, 2005.

MARTÍNEZ, A.L.; GONZÁLEZ-TRUJANO, M.A.; AGUIRRE-HERNANDEZ, E.A.; LÓPEZ-MUÑOZ, F, J. Antinociceptive activity of *Tilia americana* var. *mexicana* inflorescences and quercetin in the formalin test and in an arthritic pain model in rats. **Neuropharmacology**, v.56 p. 564–571, 2009.

MATILLA, P.H.; HELLSTROM, J.; McDOUGALL, G.; DOBSON, G.; PIHLAVA, J.M.; TIIRIKKA, T.; STEWART, D.; KARJALAINEN, R. Polyphenol and vitamin C contents in European commercial blackcurrant juice products. **Food Chemistry**, v. 127, p.1216–1223, 2011.

MEDINA-BOLÍVAR, F.; CONDORI, J.; RIMANDO, A.M.; HUBSTENBERGUER, J.; O'KEEFE, S.F.; BENNET, S.; DOLAN, M.C. Production and secretion of resveratrol in hairy root cultures of peanut. **Phytochemistry**, v. 68, p. 1992–2003, 2007.

MEDINA, A.L.; HAAS, L.I.R.; CHAVES, F.C.; SALVADOR, M.; ZAMBIAZI, R.C.; SILVA, W.P.; NORA, L.; ROMBALDI, C.V. Araca (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v. 128, p. 916–922, 2011.

- MEHRABANI, L.V.; DADPOUR, M.R.; DELAZAR, A.; MOVAFEGHI, A.; HASSANPOURAGHDAM, M.B. Quantification of Phenolic Compounds in Peel and Pulp of 'Zonouz' Apple Cultivar from Iran. **Romanian Biotechnological Letters**, v. 16, n.4, p. 6390-6395, 2011.
- MEHRAVAR, R.; JAHANSHAH, M.; SAGHATOLESLAMI, N. Production of biological nanoparticles from  $\alpha$ -lactalbumin for drug delivery and food science application. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n.24, p. 6822-6827, 2009.
- MELLEGARD, H.; STRAND, S.P.; CHRISTENSEN, B.E.; GRANUM, P.E.; HARDY, S.P. Antibacterial activity of chemically defined chitosans: Influence of molecular weight, degree of acetylation and test organism. **International Journal of Food Microbiology**, v. 148, p. 48–54, 2011.
- MELO, E.A.; ANDRADE, R.A.M.S. Compostos bioativos e potencial antioxidante de frutos do umbuzeiro. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 3, p. 453-457, 2010.
- MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; ARAÚJO, C.R. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante de polpas congeladas de frutas. **Alimentos e Nutrição**, v.19, n.1, p. 67-72, 2008.
- MÍDIO, A.F.; MARTINS, D.I. **Toxicologia de Alimentos**. São Paulo, Varela, 295p, 2000.
- MIEAN, K.H.; MOHAMED, S. Flavonoid (Myricetin, Quercetin, Kaempferol, Luteolin, and Apigenin) Content of Edible Tropical Plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p. 3106-3112, 2001.
- MIGUEL, A.C.A.; ALBERTINI, S.; BEGIATO, G.F.; DIAS, J.R.P.S.; SPOTO, M.H.F. Aproveitamento agroindustrial de subprodutos sólidos provenientes do melão minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n.3, p. 733-737, 2008.
- MIKSTACKA, R.; RIMANDO, A.M.; IGNATOWICZ, E. Antioxidant Effect of trans-Resveratrol, Pterostilbene, Quercetin and Their Combinations in Human Erythrocytes *In Vitro*. **Plant Foods for Human Nutrition**, V. 63, p. 65-57, 2010.
- MILLER, G.L. Use of dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Biochemistry**, New York, v.31, p.426-428, 1959.
- MISRA, L.N.; WOUATSA, V.; KUMAR, S.; KUMAR, R.V.; TCHOUMBOUGNANG, F. Antibacterial, cytotoxic activities and chemical composition of fruits of two *Cameroonian Zanthoxylum* species. **Journal of Ethnopharmacology**, v.148, p. 74–80, 2013.
- MOHANLALL, V.; ODHAV, B. Biocontrol of aflatoxins B1, B2, G1, G2, and fumonisin B1 with 6,7-dimethoxycoumarin, a phytoalexin from *Citrus sinensis*. **Journal of Food Protection**, v. 69, n.9, p.2224-2229, 2006.
- MORENO, C.S. **Estudo do efeito radioprotetor do resveratrol**. 2009. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Tecnologia nuclear) – Instituto de Pesquisas energéticas e nucleares (IPEN), São Paulo.

MORRIS, V.J. Emerging roles of engineered nanomaterials in the food industry. **Trends in Biotechnology**, v.29, n. 10, p. 509-516, 2011.

MORGADO, C.M.A.; DURIGAN, J.F.; LOPES, V.G.; SANTOS, L.O. Conservação pós-colheita de goiabas ‘kumagai’: efeito do estágio de maturação e da temperatura de armazenamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1001-1008, 2010.

MOUSAVI, S.R.; REZAEI, M. Nanotechnology in Agriculture and Food Production. **J. Appl. Environ. Biol. Sci.**, v.1, n.10, p. 414-419, 2011.

MU L, FENG SS. PLGA/TPGS nanoparticles for controlled release of paclitaxel: effects of the emulsifier and drug loading ratio. **Pharm Res**, v. 20, n. 11, p.1864-72, 2003.

MURAKAMI, A.; ASHIDA, H.; TERAOKA, J. Multitargeted cancer prevention by quercetin. **Cancer Letters**, v. 269, p. 315–325, 2008.

MUSA, M.A.; COOPERWOOD, J.S.; KHAN, M.O.F. A Review of Coumarin Derivatives in Pharmacotherapy of Breast Cancer. **Current Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 26, p. 2664-2679, 2008.

NACKZ, M.; TOWSEND, M.; ZADERNOWSKI, R.; SHAHIDI, F. Protein-binding and antioxidant potential of phenolics of mangosteen fruit (*Garcinia mangostana*). **Food Chemistry**, v. 128, p. 292–298, 2011.

NAGATA, M.; YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. **Journal of Japanese Society of Food Science and Technology**, v.39, p.925-928, 1992.

NAPOLITANO, H.B.; SILVA, M.; ELLENA, J.; RODRIGUES, B.D.G.; ALMEIDA, A.L.C.; VIEIRA, P.C.; OLIVA, G.; THIEMANN, O.H. Auraptin, a coumarin with growth inhibition against *Leishmania* major promastigotes. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, p. 1847-1852, 2004.

NEETHIRAJAN, S.; JAYAS, D.S. Nanotechnology for the Food and Bioprocessing Industries. **Food Bioprocess Technol**, v. 4, p.39–47, 2011.

NORATTO, G.D.; BERTOLDI, M.C.; KRENEK, K.; TALCOTT, S.T.; STRINGUETA, P.C.; MERTENS-TALCOTT, S.U. Anticarcinogenic Effects of Polyphenolics from Mango (*Mangifera indica*) Varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p. 4104–4112, 2010.

OLDONI, T.L.C. **Prospecção e identificação de compostos bioativos de subprodutos agroindustriais**. 2010. 165f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

OLIVEIRA, J.; CASTELUCCI, A.C.L.; SILVA, P.P.M.; SILVA, G.M.; SPOTO, M.H.F. Polpa de camu-camu (*Myrciaria dubia*) submetida à radiação gama. **Acta Agronômica**, v.62, n.1, p.7-12, 2013.

- OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F.; SILVA, C.A.; BECHARA, E.J.H.; TREVISAN, M.T.S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Quimica Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.
- OLIVEIRA, M.E.B.; FEITOSA, T.; BASTOS, M.S.R.; FREITAS, M.L.; MORAIS, A.S. Qualidade de polpas congeladas de frutas comercializadas nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte. **Bolítim CEPPA**, v. 16, n. 1, p. 13-22, 1998.
- OLIVEIRA, I.; SOUSA, A.; FERREIRA, I.C.F.R.; BENTO, A.; ESTEVINHO, L.; PEREIRA, J.A. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 2326–2331, 2008.
- ORAK, H.H.; DEMIRCI, A.S.; GUMUS, T. Antibacterial and antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel. **EJEAFChe**, v.10, n.3, p.1958-1969, 2011.
- ORAZEM, P.; STAMPAR, F.; HUDINA, M. Fruit Quality of Redhaven and Royal Glory Peach Cultivars on Seven Different Rootstocks. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 9394–9401, 2011.
- ORTUNÕ, A.; DÍAS, L.; ALVARÉZ, N.; PORRAS, I.; GARCÍA-LIDÓN, A.; DEL RÍO, J.A. Comparative study of flavonoid and scoparone accumulation in different Citrus species and their susceptibility to *Penicillium digitatum*. **Food Chemistry**, v. 125, p. 232–239, 2011.
- PACKER, J.F.; LUZ, M.M.S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 102-107, 2007.
- PACHECO, M.A.S.R.; FONSECA, Y.S.K.; DIAS, H.G.G.; CÂNDIDO, V.L.P.; GOMES, A.H.S.; ARMELIN, I.M.; BERNARDES, R. Condições higiênico- sanitárias de verduras e legumes comercializados no Ceagesp de Sorocaba- SP. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 101, p. 50-55, 2002.
- PANYAM J, DALI MM, SAHOO SK, MA W, CHAKRAVARTHI SS, AMIDON GL, LEVY RJ, LABHASETWAR V. Polymer degradation and in vitro release of a model protein from poly(D,L-lactide-co-glycolide) nano- and microparticles. **Journal of Controlled Release** v.92, p.173-87, 2003.
- PAOLILLO, R.; CARRATELLI, C.R.; RIZZO, A. Effect of resveratrol and quercetin in experimental infection by *Salmonella* entérica serovar *Typhimurium*. **International Immunopharmacology**, v. 11, p. 149–156, 2011.
- PAUL, S.; DUBEY, R.C.; MAHESWARI, D.K.; KANG, S.C. Trachyspermum ammi (L.) fruit essential oil influencing on membrane permeability and surface characteristics in inhibiting food-borne pathogens. **Food Control**, v. 22, p. 725-731, 2011.
- PAUL, S.; BHATTACHARYYA, S.S.; BOUJEDAINI, N.; KHUDA-BUKHSH, A.R. Anticancer Potentials of Root Extract of Polygala senega and Its PLGA Nanoparticles-Encapsulated Form. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-14, 2011.

PARASHAR, A.; BADAL, S. Pomegranate Juice Is Potentially Better Than Orange Juice in Improving Antioxidant Function in Elderly Subjects. **Internatonal Journal of Biochemistry Research & Review**, v. 1, n.1, p. 14-23, 2011.

PEREIRA, A.C.S. **Qualidade, compostos bioativos e atividade antioxidante total de frutas tropicais e cítricas produzidas no Ceará**. 2009. 120f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Ceará.

PEREIRA, G.I.S.; PEREIRA, R.G.F.A.; BARCELOS, M.F.P.; MORAIS, A.R. Avaliação química da folha de cenoura visando ao seu aproveitamento na alimentação humana. **Ciência e agrotecnologia**, v.27, n.4, p.852-857, 2003.

PERELSHTEIN, I.; RUDERMAN, E.; PERKAS, N.; TZANOV. T.; BEDDOW, J.; JOYCE, E.; MASON, T.J.; BLANES, M.; MOLLÁ, K.; PATLOLLA, A.; FRENKEL, A.I.; GEDANKEN, A. Chitosan and chitosan–ZnO-based complex nanoparticles: formation, characterization, and antibacterial activity. **Journal of Materials Chemistry B**, v.1., p. 1968-1976, 2013.

PERUMALLA, A.V.S.; HETTIARACHCHY, N.S. Green tea and grape seed extracts — Potential applications in food safety and quality. **Food Research International**, v. 44, p. 827–839, 2011.

PETRO, T.M. Regulatory role of resveratrol on Th17 in autoimmune disease. **International Immunopharmacology**, v. 11, p. 310–318, 2011.

PROKOP, A.; DAVIDSON, J.M. Nanovehicular intracellular delivery systems, **J. Pharm. Sci.**, v. 97, p.3518-3590, 2008.

QUINTANAR-GUERRERO, D.; ALLÉMANN, E.; FESSI, H.; DOELKER, E. Preparation Techniques and Mechanisms of Formation of Biodegradable Nanoparticles from Preformed Polymers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 24, n.12, p. 1113-1128, 1998.

RAHIM, A.A.; SAAD, B.; OSMAN, H.; HASHIM, N.; YAHYA, S.; TALIB, K.M. Simultaneous determination of diethylene glycol, diethylene glycol monoethyl ether, coumarin and caffeine in food items by gas chromatography. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1412–1416, 2011.

RAHMAN, A.; BAJAI, V.K.; DUNG, N.T.; KANG, S.C. Antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of *Bidens frondosa* Linn. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p.1238–1244, 2011.

RAMADAN-HASSANIEN, M.F. Total antioxidant potential of juices, beverages and hot drinks consumed in Egypt screened by DPPH in vitro assay. **Grasas y aceites**, v.59, n.3, p. 254-259, 2008.

RAMOS, R.S.; SARMENTO, P.A.; LINS, T.H.; LÚCIO, I.M.L.; CONSERVA, L.M.; BASTOS, M.L.A. Atividade antimicrobiana in vitro dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *zeyheria tuberculosa*. **Revista da rede de enfermagem do nordeste**, v. 13, n. 5, p. 1015-24, 2012.

RAYBAUDI-MASSILA, R.M.; MOSQUEDA-MELGAR, J.; SOLLVA-FORTUNY, R.; MATIN-BELOZO, O. Control of pathogenic and spoilage microorganisms in fresh-cut fruits and fruit juices by traditional and alternative natural antimicrobials. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v.8, p. 157-180, 2009.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, C.S.F.; MELO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v.27, n.5, p.771-780, 2004.

RITGER, P.L.; PEPPAS, N.A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. **Journal of Controlled Release**, v. 5, n. 1, p. 37–42, 1987.

ROBSON, A.A. Food nanotechnology: water is the key to lowering the energy density of processed foods. **Nutrition and Health**, v. 20, p. 231–236, 2011.

ROCKENBACH, II.; RODRIGUES, E.; GONZAGA, L.V.; CALIARI, V.; GENOVEZE, M.I.; GONÇALVES, A.E.S.S.; FETT, R. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**, v. 127, p. 174–179, 2011.

RODRIGUES, M. G. V. **Produção e mercado de frutas desidratadas**. Portal TODAFRUTA. 2004. Disponível em: <[http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra\\_conteudo.asp?conteudo=6687](http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=6687)>. Acesso em: 16/07/2011.

RODRIGUES, A.F.R., ZAMBIASSI, R.C. Aceitabilidade de geléias convencional e light de abacaxi obtidas de subprodutos da agroindústria. **Boletim CEPPA**, v. 26, n. 1, p. 1-8, 2008.

RODRIGUÉZ, D.J.; GARCÍA, R.R.; CASTILLO, F.D.H.; GONZÁLEZ, C.N.A.; GALINDO, A.S.; QUINTANILLA, J.A.V.; ZUCCOLOTTO, L.E.M. In vitro antifungal activity of extracts of Mexican Chihuahuan Desert plants against postharvest fruit fungi. **Industrial Crops and Products**, v. 34, p. 960– 966, 2011.

RODRIGUEZ SAUCEDA, E.N. Uso de agentes antimicrobianos naturales em La conservacion de frutas y hortalizas. **Ra Ximhai**, v. 7, n. 1, p.153-170, 2011.

ROLDÁN, A.; PALACIOS, V.; CARO, I.; PÉREZ, L. Resveratrol content of Palomino fino grapes: influence of vitage and fungal infection. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 1464–1468, 2003.

ROSA, O.O.; CARVALHO, E.P. Características microbiológicas de frutos e hortaliças minimamente processados. **Boletim da SBCTA**. v. 34, n. 2, p. 84- 92, 2000.

RUDOLF, J.L.; RESURRECCION, A.V.A.; SAALIA, F.K.; PHILLIPS, R.D. Development of a reverse-phase high-performance liquid chromatography method for analyzing trans-resveratrol in peanut kernels. **Food Chemistry**, v. 89, p. 623-638, 2005.

- RUFINO, M. S. M. ; ALVES, R. E.; ARAGÃO, F. A. S.; VASCONCELOS, L. F.L.; CORRÊA, M. P. F.; SOARES, E. B. Análise multivariada de genótipos em áreas nativas da região Meio-Norte do Brasil. **Proceedings of the Tropical Region - American Society for Horticultural Science**, v. 52, p. 140-143, 2008.
- RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; PÉREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, n.4, p. 996-1002, 2010.
- SAGDIC, O.; OZTURK, I.; OZKAN, G.; YETIM, H.; EKICI, L.; YLMAZ, M.T. RP-CLAE-DAD analysis of phenolic compounds in pomace extracts from five grape cultivars: Evaluation of their antioxidant, antiradical and antifungal activities in orange and apple juices. **Food Chemistry**, v. 126, p.1749–1758, 2011.
- SAIKIA, A.K.; CHETIA, D.; DÁRRIGO, M.; SMERIGLIO, A.; STRANO, T.; RUBERTO, G. Screening of fruit and leaf essential oils of *Litsea cubeba* Pers. from north-east India – chemical composition and antimicrobial activity. **Journal of Essential Oil Research**, v.25, n. 4, p.330-338, 2013.
- SAUTTER, C.K.; STORCK, L.; RIZZATTI, M.R.; MALLMANN, C.A.; BRACKMANN, A. Síntese de trans-resveratrol e controle de podridão em maçãs com uso de elicitores em pós-colheita. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.43, n.9, p.1097-1103, 2008.
- SAUTTER, C.K.; DENARDIN, S.; ALVES, A.O.; MALLMANN, C.A.; PENNA, N.G.; HECKTHEUER, L.H. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.3, p.437-442, 2005.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; CHÁFER, M.; HERNÁNDEZ, M.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Antimicrobial activity of polysaccharide films containing essential oils. **Food Control**, v. 22, p. 1302-1310, 2011.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; CHÁFER, M. Physical and antimicrobial properties of chitosan–tea tree essential oil composite films. **Journal of Food Engineering**, v.98, p. 443–452, 2010.
- SANDERS, T.H.; MCMICHAEL, R.W., HENDRIX, K.W. Occurrence of resveratrol in edible peanuts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 1243–1246, 2000.
- SANTIAGO, A.V.C. Fenoles contra patógenos intestinales como *Helicobacter pylori*. **ACE: Revista de enología**, nº. 82, 2007.
- SANTOS, G.M.; MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M.; COSTA, J.M.C.; FIGUEIREDO, R.W.; PRADO, G.M. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). **Archivos latinoamericanos de nutrición**, v.8, n.2, 187-192, 2008.
- SANTOS, C.A.A.; COELHO, A.F.S.; CARREIRO, S.C. Avaliação microbiológica de polpa de frutas congeladas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 28(4): 913-915, 2008.

SCHMITZER, V.; SLATNAR, A.; MIKULIC-PETKOVSEK, M.; VEBERIC, R.; KRŠKA, B.; STAMPAR, F. Comparative study of primary and secondary metabolites in apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars. **Journal of Sci Food Agric**, v. 91, p. 860–866, 2011.

SEGANTINI, D.M., LEONEL, S.; LIMA, G.P.P.; COSTA, S.M., RAMOS, A.R.P.. Characterization of peach pulp produced in Sao Manuel-SP. **Ciencia Rural**, v. 42, n.1, p. 52–57, 2012.

SERGEANT, T.; PIRONT, N.; MEURICE, J.; TOUSSAINT, O.; SCHEINDER, Y-J. Anti-inflammatory effects of dietary phenolic compounds in an in vitro model of inflamed human intestinal epithelium. **Chemico-Biological Interactions**, v. 188, p. 659–667, 2010.

SGARIGLIA, M.A.; SOBERÓN, J.R.; SAMPIETRO, D.A.; QUIROGA, E.N.; VATTUONE, M.A. Isolation of antibacterial components from infusion of *Caesalpinia paraguariensis* bark. A bio-guided phytochemical study. **Food Chemistry**, v. 126, p. 395–404, 2011.

SHEN, X.; SUN, X.; XIE, Q.; LIU, H.; ZHAO, Y.; PAN, Y.; HWANG, C.; WU, V. Antimicrobial effect of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) extracts against the growth of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis*. **Food Control**, v. 35, p.159-165, 2014.

SHEIKH, S.A.; SHAHNAWAZ, M.; NIZAMANI, S.M.; BHANGER, M.I.; AHMED, E. Phenolic Contents and Antioxidants Activities in Jamman Fruit (*Eugenia jambolana*) Products. **Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences**, v. 1, p. 41-47, 2011.

SILVA, M.L.S.; MENEZES, C.C.; PORTELA, J.V.F.; ALENCAR, P.E.B.S.; CARNEIRO, T.B. Teor de carotenóides em polpas de acerola congeladas. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.8, n.1, p.170-173, 2013.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 2a ed. Livraria Varela. São Paulo, 2001. 229p.

SILVA, L.M.R.; MAIA, G.A.; GONZAGA, M.L.C.; SOUSA, P.H.M.; FIGUEIREDO, E.A.T. Effect of heat treatment on microbiological properties of mixed tropical fruits nectars. **Journal of Food Technology**, v.9, n.4, p. 124-128, 2011.

SILVA, L.M.R.; MAIA, G.A.; FIGUEIREDO, R.W.F.; SOUSA, P.H.M.; GONZAGA, M.L.C.; FIGUEIREDO, E.A.T. Estudo do comportamento reológico de polpas de caju (*Anacardium occidentale*, L.), acerola (*Malpighia emarginata*, D.C.) e manga (*Mangifera indica*, L.). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 237-248, 2012.

SILVA, L.M.R. **Caracterização reológica, química, físico-química e sensorial de néctares mistos de caju, manga e acerola**. 2011. 151f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Ceará.

SILVEIRA, M.L.R.; BERTAGNOLLI, S.M.M. Avaliação microbiológica e das condições higiênico-sanitárias de comercialização de sucos de laranja in natura. **Alimentos e nutrição**, v.23, n.3, p.461-466, 2012.

SILVEIRA, J.GALESKAS, H. TAPETTI, R. LOURENCINI, I. Quem é o consumidor brasileiro de frutas e hortaliças, 2011. **Hortifruti Brasil. Disponível em** <[http://www.cepea.esalq.usp.br/hfbrasil/edicoes/103/mat\\_capa.pdf](http://www.cepea.esalq.usp.br/hfbrasil/edicoes/103/mat_capa.pdf)>. Acesso em 09 dez 2011.

SZKUDELSKA, K.; SZKUDELSKI, T. Resveratrol, obesity and diabetes. **European Journal of Pharmacology**, 635, p. 1-8, 2010.

SLATNAR, A.; KLANCAR, U.; STAMPAR, F.; VEBERIC, R. Effect of Drying of Figs (*Ficus carica* L.) on the Contents of Sugars, Organic Acids, and Phenolic Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 11696–11702, 2011.

SZKUDELSKA, K.; SZKUDELSKI, T. Resveratrol, obesity and diabetes. **European Journal of Pharmacology**, V. 635, P. 1–8, 2010.

SPROLL, C.; RUGE, H.; ANDLAUER, C.; GODELMANN, R.; LACHENMEIER, D.W. CLAE analysis and safety assessment of coumarin in foods. **Food Chemistry**, v. 109, p. 462–469, 2008.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev. Nutr**, v.15, n. 1, p.71-81, 2002.

SOBOLEV, V.S.; KHAN, S.I.; TABANCA, N.; WEDGE, D.E.; MANLY, S.P.; CUTLER, S.J.; COY, M.R.; BECNEL, J.J.; NEFF, S.A.; GLOER, J.B. Biological Activity of Peanut (*Arachis hypogaea*) Phytoalexins and Selected Natural and Synthetic Stilbenoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 1673–1682, 2011.

SOUSA, M.S.B.; VIEIRA, L.M.; SILVA, M.J.M.; LIMA, A. Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em subprodutos de polpas de frutas tropicais. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, n. 3, p. 554-559, 2011.

SOUSA, J.B.A.S.P. **Atividade biológica de derivados do ácido cafeico: efeito antioxidante e anti-inflamatório**. 2008. 78f. Dissertação (Mestrado em Controle de Qualidade) Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Lisboa.

SU-CHEN HOA, KU-SHANG CHANGA, CHIH-CHENG LINB. Anti-neuroinflammatory capacity of fresh ginger is attributed mainly to gingerol. **Food Chemistry**, v.141(3), p. 3183–3191, 2013.

SUPPAKUL, P.; SONNEVELD, K.; BIGGER, S.W.; MILTZ, J. Diffusion of linalool and methylchavicol from polyethylene-based antimicrobial packaging films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 1888-1893, 2011.

SWEENEY, M. J.; DOBSON, A. D. W. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. **International Journal of Food Microbiology**, v.43, p. 414-158, 1998.

THÉ, P. M. P.; NUNES, R. P. de.; MOREIRA da SILVA, L. I.; ARAÚJO, B. M. de. Características físicas, físico-químicas, químicas e atividade enzimática de abacaxi cv. Smooth cayenne recém colhido. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, p. 273-28, 2010.

- THITILERTDECHA, N.; RAKARIYATHAM, N. Phenolic content and free radical scavenging activities in rambutan during fruit Maturation. **Scientia Horticulturae**, v. 129, p. 247–252, 2011.
- TLILI, I.; HDIDER, C.; LENUCCI, M.S.; ILAHY, R.; JEBARI, H.; DALESSANDRO, G. Bioactive compounds and antioxidant activities during fruit ripening of watermelon cultivars. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 923–928, 2011.
- TOKUSOGLU, O.; UNAL, M.K.; YEMIS, F. Determination of the phytoalexin resveratrol (3,5,4'- trihidroxystilbene) in peanuts and pistachios by high-performance liquid chromatographic diode array (HPLC-DAD) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Journal of Food Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.5003-5009, 2005.
- TORNUK, F.; CANKURT, H.; OZTURK, I.; SAGDIC, O.; BAYRAM, O.; YETIM, H. Efficacy of various plant hydrosols as natural food sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella Typhimurium* on fresh cut carrots and apples. **International Journal of Food Microbiology**, v. 148, p. 30–35, 2011.
- TYAGI, A.K.; MALIK, A. Antimicrobial potential and chemical composition of Mentha piperita oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. **Food Control**, v. 22, p. 1707-1714, 2011.
- UCHOA, A.M.A.; COSTA, J.M.C.; MAIA, G.A.; SILVA, E.M.C.; CARVALHO, A.F.F.U.; MEIRA, T.R. Parâmetros físico-químicos, teor de fibra bruta e alimentar de pós alimentícios obtidos de subprodutos de frutas tropicais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v.15, n.2, p.58-65, 2008.
- VADIVEL, V.; BIESALSKI, H.K. Contribution of phenolic compounds to the antioxidant potential and type II diabetes related enzyme inhibition properties of Pongamia pinnata L. Pierre seeds. **Process Biochemistry**, v. 46, p. 1973–1980, 2011.
- VALLEJO, F.; MARÍN, J.G.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A. Phenolic compound content of fresh and dried figs (*Ficus carica* L.). **Food Chemistry**, v. 130, p. 485–492, 2012.
- VARONA, S.; ROJO, S.R.; MARTÍN, A.; COCERO, M.J.; SERRA, A.T.; CRESPO, T.; DUARTE, C.M.M. Antimicrobial activity of lavandin essential oil formulations against three pathogenic food-borne bacteria. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 243– 250, 2013.
- VASCO, C., RUALES, J., & KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, p. 816–823, 2008.
- VASIR, J.K.; LABHASETWAR, V. Quantification of the force of nanoparticle cell membrane interactions and its influence on intracellular trafficking of nanoparticles. **Biomaterials**, v. 29, p. 4244–4252, 2008.
- VEIOGLU, Y.S.; MAZZA, G.; GAO, L.; OOHMA, B.D. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 4113–4117, 2008.

- VELIOGLU, Y.S; MAZZA, G.; Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. **J. Agric. Food Chem.**, v. 46, n. 10, p 4113–4117, 1998.
- VERT, M.; MAUDUIT, J.; LI, S. Biodegradation of PLA/GA polymers: increasing complexity, **Biomaterials**, v. 15, p. 1209-1213, 1994.
- VIEIRA, F.G.K.; BORGES, G.S.C.; COPETTI, C.; PIETRO, P.F.; NUNES, E.C.; FETT, R. Phenolic compounds and antioxidant activity of the apple flesh and peel of eleven cultivars grown in Brazil. **Scientia Horticulturae** , v.128, p. 261–266, 2011.
- VINÃS, P.; CAMPILLO, N.; HÉRNANDEZ-PÉREZ, M.; HÉRNANDEZ-CÓRDOBA, M. A comparison of solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction coupled to liquid chromatography for the rapid analysis of resveratrol isomers in wines, musts and fruit juices. **Analytica Chimica Acta**, v. 6, n.2, p. 119–125, 2008.
- WACH, A.; PYRZYNSKA, H.; BIESAGA, M. Quercetin content in some food and herbal samples. **Food Chemistry**, v. 100, p. 699–704, 2007.
- WASHINGTON, C. **Drug release from microparticulate systems**. In: Benita S, editor. Microencapsulation: methods and industrial application. New York: Marcel Dekker. p. 155-81. 1996.
- WANG, H.C.; HU, Z.Q.; WANG, Y.; CHEN, H.B.; HUANG, X.M. Phenolic compounds and the antioxidant activities in litchi pericarp: Difference among cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 129, p. 784–789, 2011.
- WATANABE, T.; ROZANE, D.E.; NATALE, W.; FURLAN, C.M. Avaliação da influência de substâncias fenólicas e carotenoides na anomalia do epicarpo da goiaba, “anelamento”. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 8-13, 2011.
- WINKEL-SHIRLEY, B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. **Plant Physiol.**, v.126, p.485-493, 2001.
- WISCHKE C, SCHWENDEMAN SP. Principles of encapsulating hydrophobic drugs in PLGA/PLGA microparticles. **Intl J Pharm**, v.364, n.2, p.298-327, 2008
- WU, X.; BEECHER, G.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; GEGHARDT, S.E.; PRIOR, R.L. Concentrations of Anthocyanins in Common Foods in the United States and Estimation of Normal Consumption. **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, n.11, p 4069–4075, 2006.
- XIAO, D.; DAVIDSON, P.M.; ZHONG, Q. Spray-Dried Zein Capsules with Coencapsulated Nisin and Thymol as Antimicrobial Delivery System for Enhanced Antilisterial Properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p.7393–7404, 2011.
- YANG, Z.; DONG, F.; SHIMIZU, K.; KINOSHITA, T.; KANAMORI, M.; MORITA, A.; WATANABE, N. Identification of coumarin-enriched Japanese green teas and their particular flavor using electronic nose. **Journal of Food Engineering**, v. 92, p. 312–316, 2009.

YENG, C.C.; SHEN, C.J.; HSU, W.H.; CHANG, Y.H.; LIN, H.T.; CHEN, H.L.; CHEN, C.M. Lactoferrin: an iron-binding antimicrobial protein against *Escherichia coli* infection. **Biomaterials**, v. 24, p.585–594, 2011.

ZHAO, B.; HALL, C.A. Composition and antioxidant activity of raisin extracts obtained from various solvents. **Food Chemistry**, v.108, n.2, p. 511–518, 2008.

ZARDO, D.M.; ALBERTI, A.; DANTAS, A.P.C.; GUYOT, S.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Efeito do processamento no teor de compostos fenólicos e na atividade antioxidante em fermentados de maçã. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 4, p. 829-838, 2008.

ZIGONEANU IG, ASTETE CE, SABLIOV CM. Nanoparticles with entrapped alpha-tocopherol: synthesis, characterization, and controlled release. **Nanotechnology** v. 19, p.1-8, 2008.