



Universidade Federal de Uberlândia
Faculdade de Engenharia Química
Graduação em Engenharia de Alimentos



Antioxidantes naturais para aplicação em alimentos

Patos de Minas - MG

2019



Universidade Federal de Uberlândia
Faculdade de Engenharia Química
Graduação em Engenharia de Alimentos



Antioxidantes naturais para aplicação em alimentos

Lucas de Almeida Fernandes

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Uberlândia - Campus de Patos de Minas como parte dos requisitos para conclusão do curso.
Orientadora: Prof. Dr^a. Liliane Maciel de Oliveira
Coorientadora: Prof^a. Dr^a Líbia Diniz Santos

Patos de Minas - MG

2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Faculdade de Engenharia Química

Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 1K - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902

Telefone: (34) 3239-4285 - secdireq@feq.ufu.br - www.feq.ufu.br



HOMOLOGAÇÃO

LUCAS DE ALMEIDA FERNANDES

Antioxidantes naturais para aplicação em alimentos

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado nesta data para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) - *campus* Patos de Minas (MG) pela banca examinadora constituída por:

Prof.ª Dr.ª Liliane Maciel de Oliveira
Orientador(a) - UFU

Prof.ª Dr.ª Letícia Rocha Guidi
UFU

Prof.ª Dr.ª Milla Gabriela dos Santos
UFU

Patos de Minas, 20 de dezembro de 2019.



Documento assinado eletronicamente por **Liliane Maciel de Oliveira, Presidente**, em 20/12/2019, às 11:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Letícia Rocha Guidi, Membro de Comissão**, em 20/12/2019, às 11:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Milla Gabriela dos Santos, Membro de Comissão**, em 20/12/2019, às 11:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1707149** e o código CRC **252EAF83**.

Agradecimentos

Agradeço a minha família que me ofereceu todo suporte necessário para vencer mais uma etapa de minha vida, sendo de fundamental importância até a minha chegada aqui. Meus pais, Nélcio e Edna, que apesar de todas as dificuldades não abriu mão de oferecer suporte para que eu tivesse uma educação de qualidade.

Meu irmão Fernando e minha cunhada Natália que cuidou de mim como filho e me presenteando como minha sobrinha e afilhada Helena e minha irmã Priscilla pelo apoio durante essa jornada. Apesar da distância eles me mostraram que isso tudo iria valer a pena.

Aos meus amigos de Ipatinga, principalmente a Lorena, Regiane e Vítor pelo apoio e força que me deram nesses anos. Minha amigas de Patos de Minas Gabriella e Priscilla pelas ajudas nas disciplinas e principalmente pela paciência para comigo.

A minha orientadora professora Dr^a Liliane Maciel de Oliveira, pela ajuda fundamental no trabalho e pelos conhecimentos compartilhados comigo durante o curso. A minha professora, corientadora e orientadora das minhas iniciações científicas Dr^a Líbia Diniz Santos por ter me dado à oportunidade de aumentar meus conhecimentos com nossas pesquisas de iniciação científica e agora por me auxiliar no meu trabalho e não ter desistido de mim mesmo nos momentos mais difíceis que passei na minha graduação. Agradeço ainda as professoras Dr^a Milla Gabriela Santos e Dr^a Letícia Rocha Guidi por aceitarem o convite de ser minha banca e compartilhar seus conhecimentos comigo. Obrigado a todos.

Resumo

O crescente interesse na substituição de antioxidantes sintéticos por naturais em alimentos tem impulsionado várias pesquisas sobre fontes vegetais, caracterização de matérias primas e identificação de novos compostos antioxidantes. Para tornar esta substituição viável, é importante conhecer a estabilidade desses compostos em alimentos diante dos processamentos que eles podem ser submetidos antes da ingestão e saber de que forma esses compostos podem ser afetados da sua obtenção até a mesa do consumidor. Os antioxidantes são utilizados para evitar a oxidação em alimentos e não são uma preocupação apenas para o setor alimentício, mas também para o consumidor que demanda aditivos que não promovam efeitos indesejáveis na saúde. Neste trabalho, foi feita uma revisão bibliográfica de estudos que avaliaram fontes e formas de obtenção de antioxidantes naturais e como se comportavam durante o processamento e armazenamento quando aplicados em alimentos. A grande maioria dos estudos encontrados na literatura avaliou fontes de antioxidante de origem vegetal, sendo os compostos fenólicos a classe mais relevante com atividade antioxidante. A concentração de substâncias identificadas com atividade antioxidante variou de acordo com o vegetal utilizado, forma de obtenção e preparo dos seus extratos, métodos de avaliação da capacidade antioxidante, métodos de extração dos compostos bem como suas variáveis como tempo, temperatura e solvente. Dentre os métodos de extração de antioxidantes, estão a extração convencional com solventes orgânicos e a extração supercrítica. A extração com solventes orgânicos pode ser eficiente em alguns casos, porém se torna um problema ambiental devido aos resíduos que são gerados durante o uso de substâncias tóxicas. Já a extração supercrítica propicia bom rendimento de extração e preserva as propriedades antioxidantes, porém é um método com alto custo de operação. Os estudos mostraram que a substituição dos antioxidantes sintéticos pelos naturais apresenta resultados satisfatórios, apesar de, em alguns casos, os antioxidantes sintéticos ainda apresentarem resultados melhores que os naturais. Neste caso, pode ser adotada a associação de antioxidantes naturais com os antioxidantes sintéticos a fim de diminuir a concentração dos sintéticos nos alimentos, atendendo à busca popular por alimentos o mais natural possível. Por fim, é possível a substituição total ou parcial em alguns casos, mas estudos ainda devem ser realizados para melhorar a padronização das preparações das amostras, extração e aplicação nos alimentos, melhorando assim a comparação entre os compostos antioxidantes obtidos nas pesquisas.

Abstract

The growing interest in replacing synthetic antioxidants with natural antioxidants in foods has spurred research on plant sources, characterization of raw materials and identification of new antioxidant compounds. To make this substitution viable, it is important to know the stability of these compounds in foods in the face of the processing they can undergo before ingestion and to know how these compounds can be affected from obtaining them to the consumer's table. These compounds are used to prevent oxidation in food and are not only a concern for the food industry, but also for consumers who demand additives that do not cause undesirable health effects. In this study, a bibliographic review of studies that evaluated sources and ways of obtaining natural antioxidants and how they behaved during processing and storage when applied to foods was made. Most studies found in the literature evaluated sources of antioxidant of plant origin, with phenolic compounds being the most relevant class with antioxidant activity. Concentration and substances identified with antioxidant activity varied according to the plant used, the form of preparation and preparation of its extracts, methods for evaluating antioxidant capacity, methods of extracting the compounds as well as their variables such as time, temperature and solvent. Extraction methods may be by conventional extraction with organic solvents and supercritical extraction. In the first case it may be efficient in some cases, but it becomes an environmental problem due to the waste that is generated during the use of toxic substances. Already supercritical extraction provides good extraction yield and preserves antioxidant properties, but is a method with high cost of operation. Studies have shown that the replacement of synthetic antioxidants with natural ones presents satisfactory results, although in some cases synthetic antioxidants still showed better results than natural ones, in this case, association of natural antioxidants with synthetic antioxidants can be adopted in order to decrease the concentration of synthetics in food, meeting the popular search for foods as natural as possible. Finally, total or partial substitution is possible in some cases, but studies have yet to be performed to improve the standardization of sample preparation, extraction and food application, thus improving the comparison between the antioxidant compounds obtained in the research.

Sumário

1	INTRODUÇÃO	7
1.1	Objetivos	8
2	METODOLOGIA	9
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	9
3.1	Oxidação de lipídeos.....	9
3.2	Oxidação de pigmentos.....	11
3.3	Oxidação de Proteínas	12
4	CONTROLE DA OXIDAÇÃO PELO USO DE ANTIOXIDANTES.....	12
5	OS ANTIOXIDANTES MAIS UTILIZADOS NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS	16
5.1	Butilhidroxianisol (BHA)	16
5.2	Butilhidroxitolueno (BHT)	17
5.3	Terc-butilhidroquinona (TBHQ).....	18
5.4	Ácido ascórbico	19
5.5	Ácido cítrico	19
5.6	Ácido fosfórico	20
5.7	Ácido eritórbico	20
5.8	Lecitinas.....	20
5.9	Tocoferóis	21
6	FONTES DE ANTIOXIDANTES NATURAIS.....	21
7	EXTRAÇÃO DE ANTIOXIDANTES NATURAIS	30
7.1	Extração com solventes orgânicos	31
7.1.1	Influência do solvente	31
7.1.2	Influência do tempo	33
7.1.3	Influência da temperatura.....	34

7.2	Extração supercrítica.....	34
8	APLICAÇÃO DE ANTIOXIDANTES NATURAIS EM ALIMENTOS.....	36
9	CONCLUSÃO	42
	REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

Uns dos principais e mais conhecidos agentes que causam deterioração em alimentos são os microrganismos. Porém, não menos importante que eles, existe o processo de oxidação, que consiste em um fator que limita a vida útil dos alimentos, diminuindo a sua qualidade. Os consumidores reconhecem facilmente a oxidação nos alimentos, pois ela altera significativamente os componentes do alimento, sejam eles os microconstituintes ou os macroconstituintes. Fazem parte dos microconstituintes os componentes de cor, *flavor* (sabor, odor, cheiro, textura e aparência visual) além de vitaminas e minerais. Os macroconstituintes, como carboidratos, lipídeos e proteínas, são também sensíveis à oxidação. Grande parte dos atributos de qualidade é alterada, como propriedades sensoriais (*flavor*), propriedades nutricionais, tempo de vida útil do alimento e segurança. Perda da cor dos pigmentos, perda de vitaminas, formação de *flavor* ruim e textura são também resultados da oxidação em alimentos (ARAÚJO, 2015).

As reações de oxirredução são comuns em alimentos. No caso de óleos e gorduras, por exemplo, existem poucos sítios reativos na molécula, de modo que as ocorrências de reações durante o processamento e armazenamento do alimento sofrem menos variação que a de componentes solúveis em água. Em alguns casos essas reações são desejáveis como, por exemplo, na carne. AMbNO (mioglobina óxido nítrico) é vermelha, brilhante e instável, e ao passar por aquecimento, forma-se a mio-hemocromogena óxido nítrico (nitrosil-hemocromo), que é mais estável e que confere a coloração rosa desejável das carnes curadas. Contudo, os processos oxidativos, em sua grande maioria, trazem efeitos indesejáveis, como por exemplo, o escurecimento de frutas que sofrem injúrias mecânicas e têm seu tecido interno exposto ao oxigênio (KOBELITZ, 2008).

O escurecimento de frutas e de certos vegetais é iniciado por meio da oxidação enzimática de compostos fenólicos pelas polifenoloxidasas (PPO's). O produto inicial é a quinona, que condensa rapidamente, formando pigmentos escuros insolúveis, denominados melanina, ou então reagem não enzimaticamente com outros compostos fenólicos, aminoácidos e proteínas, formando melanina também (ARAÚJO, 2015).

Os alimentos possuem diferentes tipos de lipídeos, como os triacilglicerídeos, que são ácidos graxos esterificados a uma molécula de glicerol, lipoproteínas, esfingolipídeos, fosfolipídeos e glicolipídeos. Os ácidos graxos naturais presentes nos alimentos estão na forma de cadeia linear e números pares de carbonos, os quais podem ser saturados ou

insaturados com até seis duplas ligações. As insaturações são responsáveis pela alta susceptibilidade à oxidação destas moléculas (ARAÚJO, 2015).

A oxidação ocorre quando elétrons são retirados de um átomo ou de um grupo de átomos. Subsequentemente, ocorre uma reação de redução correspondente que envolve a incorporação de elétrons a um átomo ou um grupo de átomos diferentes. O componente que ganha elétrons é reduzido é chamado de agente oxidante. O agente mais comum em alimentos é o oxigênio. Tais reações de oxidação podem ou não envolver adição de átomos de oxigênio ou a retirada de átomos de hidrogênio da substância que está sendo oxidada (DAMODARAN et al., 2008).

O controle da oxidação não desejada nos alimentos é efetivo quando são empregadas técnicas de processamento adequadas ao produto, como ambientes ou máquinas que possuem controle de oxigênio, embalagens adequadas ou adição de compostos que evitem a ocorrência das oxidações indesejáveis, os conhecidos antioxidantes (DAMODARAN et al., 2008).

Os antioxidantes são muito usados em sorvetes, leite em pó, produtos de cacau, conservas de carne, cerveja, margarina, refrigerantes, farinhas e óleos e gorduras em geral. A grande maioria dos antioxidantes utilizados hoje pelas indústrias de alimentos são os sintéticos, por apresentarem grande estabilidade em diferentes alimentos, serem mais econômicos e não afetarem os alimentos quanto às suas características de *flavor*. Porém, estudos apontam riscos à saúde quanto ao consumo desses antioxidantes sintéticos. O Centro de Pesquisa em Alimentos (FoRC – FoodResearch Center) e da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP mostra que os antioxidantes sintéticos são potencialmente carcinogênicos quando consumidos em doses elevadas. Por esta razão, estudos têm sido realizados na busca de substituir os antioxidantes sintéticos pelos naturais (Centro de Pesquisa em Alimentos e da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, 2019).

Os antioxidantes naturais são compostos naturalmente presentes nos alimentos. Alguns deles já são aplicados em alimentos, como no caso da vitamina E (tocoferóis), o ácido ascórbico, os carotenoides, e estudos têm demonstrado que tais antioxidantes naturais têm potencial para substituição dos antioxidantes sintéticos, que hoje são ainda mais utilizados pela indústria de alimentos.

1.1 Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre os antioxidantes naturais, as fontes e as formas de obtenção, a utilização destes compostos pela indústria de alimentos e a possível substituição de antioxidantes sintéticos por naturais.

2 METODOLOGIA

O trabalho consistiu em um levantamento bibliográfico de artigos, dissertações, teses e livros sobre os antioxidantes naturais e suas aplicações em alimentos.

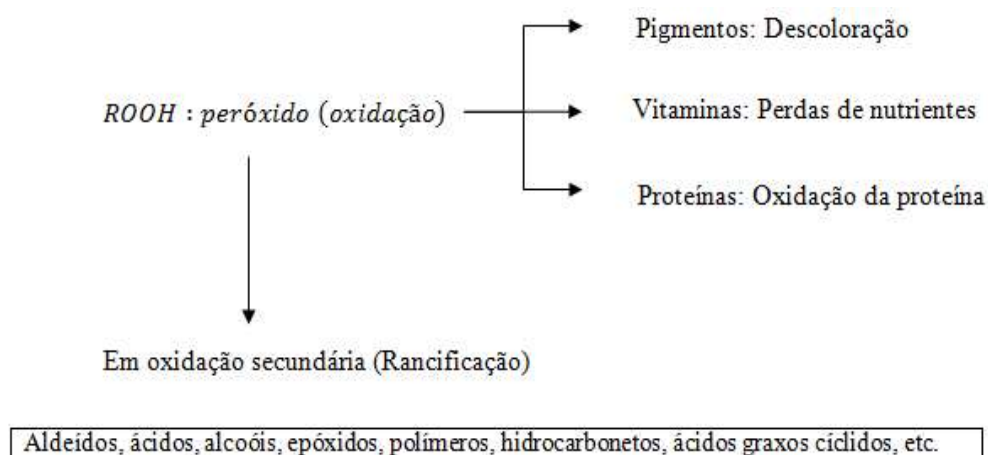
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A oxidação causa alterações sensoriais e físico-químicas indesejáveis em alimentos, como o sabor oxidado, conhecido como ranço, perda de cor e textura nos alimentos. Essas alterações são importantes na indústria de alimentos, pois influenciam diretamente na escolha do consumidor em comprar ou não aquele alimento, além de levarem a perdas nutricionais. A complexidade do processamento dos alimentos, associada à necessidade de aumentar o período de armazenamento, torna o produto vulnerável à deterioração oxidativa. Portanto, a utilização de substâncias químicas capazes de oferecer proteção contra oxidação é necessária (ARAÚJO, 2015), mas para utilização de tais substâncias, que retardam ou evitam esses problemas, é necessário conhecer a causa das reações indesejadas nos alimentos. As principais reações de oxidação nos alimentos serão abordadas nos tópicos a seguir.

3.1 Oxidação de lipídeos

Na oxidação lipídica ocorre uma série complexa de alterações químicas resultantes da reação dos lipídeos com o oxigênio presente no ar, conforme a Figura 1.

Figura 1: Alterações químicas no alimento, provocadas pela oxidação de lipídeos.



Fonte: Próprio Autor.

Durante as reações de oxidação, os ácidos graxos esterificados em triacilgliceróis e fosfolipídios se decompõem, formando moléculas pequenas e voláteis (como os aldeídos, álcoois e ácidos) que produzem os aromas indesejáveis, processo conhecido como rancidez oxidativa. De forma geral, estes compostos voláteis trazem problemas quanto à qualidade dos

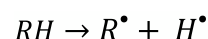
alimentos, embora para alguns produtos, tais como alimentos fritos, cereais desidratados e queijo, pequenas quantidades de produtos da oxidação de lipídeos são desejáveis e conferem positivamente sabor aos alimentos (ESKIN; SHAHIDI, 2013). A oxidação lipídica pode se iniciar por uma reação enzimática, por ação da enzima lipoxigenases, ou por reações puramente químicas.

A auto-oxidação em lipídeos está associada à reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados e ocorre em três etapas, conforme mostra a Figura 2 (RAMALHO; JORGE, 2006).

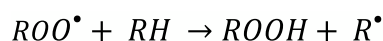
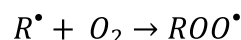
- **Iniciação:** ocorre a formação dos radicais livres do ácido graxo devido à retirada de um hidrogênio do carbono alílico na molécula do ácido graxo, em condições favorecidas por luz e calor.
- **Propagação:** os radicais livres, que são prontamente susceptíveis ao ataque do oxigênio atmosférico, são convertidos em outros radicais, aparecendo os produtos primários de oxidação (peróxidos e hidroperóxidos) cujas estruturas dependem da natureza dos ácidos graxos presentes. Os radicais livres formados atuam como propagadores da reação, resultando em um processo auto catalítico.
- **Término:** dois radicais combinam-se, com a formação de produtos estáveis (produtos secundários de oxidação) obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (epóxidos, compostos voláteis e não voláteis).

Figura 2: Esquema geral do mecanismo de oxidação lipídica.

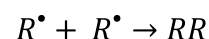
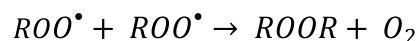
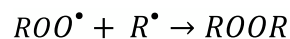
Iniciação



Propagação



Término



Fonte: (RAMALHO; JORGE, 2006).

Onde: RH- Ácido graxo insaturado; $R^{\bullet}$ - Radical livre; $ROO^{\bullet}$ - Radical peróxido e Hidroperóxido (RAMALHO; JORGE, 2006).

Os radicais livres são moléculas altamente reativas e que podem reagir com outros componentes dos alimentos, causando sua degradação, como apresentado no esquema da

Figura 1. Apesar dos hidroperóxidos serem voláteis e inodoros, são compostos relativamente instáveis, e se decompõem, espontaneamente ou em reações catalisadas, para formar compostos aromáticos voláteis formados na fase inicial da auto-oxidação são moléculas instáveis, como mostrado na Figura 1, e se decompõem facilmente em radicais livres que reagem com pigmentos, causando a descoloração, com vitaminas e proteínas, diminuindo o valor nutricional e alterando a textura (ARAÚJO, 2015).

Na reação de íons metálicos de transição eles são eficientes promotores das reações de formação de radicais livres, por conta da transferência de elétrons que ocorre durante a alteração do seu estado de oxidação. Eles podem atuar de duas formas: na redução da energia de ativação da reação inicial da oxidação e na decomposição de peróxidos, com isso, há o rompimento homolítico da ligação fraca entre oxigênio/oxigênio dos peróxidos resultando na formação de radicais livres, que são responsáveis pela reação em cadeia. A ruptura homolítica espontânea em alimentos é insignificante, salvo quando estes são aquecidos durante algum processo térmico. Na presença de metais, a decomposição catalítica de peróxidos é a principal fonte de radical livre (ARAÚJO, 2015).

3.2 Oxidação de pigmentos

Pigmentos são substâncias que conferem cor e podem ser de origem natural ou artificial. Cor e a aparência são importantes para os alimentos, pois são diante deles que os consumidores vão escolher o alimento para consumo. A cor influencia também na percepção de sabor. Por exemplo, ao ver uma bebida vermelha, o consumidor espera que ela tenha um sabor de morango, framboesa ou cereja.

Muitos pigmentos alimentares são instáveis durante o processamento e o armazenamento. Dependendo do pigmento, sua estabilidade pode ser afetada por fatores como presença ou não de luz, de metais, do oxigênio e da temperatura que é submetido. No caso das carnes, por exemplo, a responsável pela sua cor vermelha característica é a mioglobina. Quando ocorre a oxidação da mioglobina (MbO), o átomo de ferro é convertido do estado ferroso (+2) para o estado férrico (+3), formando metamioglobina (MMb). Quando a mioglobina reage com o oxigênio, há alteração do estado do ferro de ferroso para férrico, levando à mudança na cor do tecido (DAMODARAN et al., 2008).

As clorofilas são relativamente instáveis e sensíveis à luz, ao aquecimento, ao oxigênio e à degradação química. A degradação da clorofila nos tecidos das plantas, ligada à proteína, é bem mais lenta em seu estado natural que isolada. As clorofilas podem ser

quimicamente modificadas antes de serem incorporadas aos alimentos, substituindo-se o Mg^{+2} pelo íon Cu^{+2} . Essa instabilidade da clorofila pode alterar a sua cor e suas qualidades nutritivas e, assim, o seu valor comercial, acarretando numa impressão negativa do produto. A perda da cor verde vívida da clorofila para uma cor marrom azeitona, durante o armazenamento sob congelamento, é atribuída à formação da feofitina (SCHIOZER; BARATA, 2007).

3.3 Oxidação de proteínas

A oxidação de proteínas é um grave problema quanto à qualidade da carne. Isso porque o tecido muscular contém grandes quantidades de proteínas, que desempenham um papel fundamental na qualidade da carne em relação às propriedades nutricionais e físico-químicas e qualquer alteração causa mudanças significativas no alimento.

Por definição, uma oxidação proteica é definida como um processo de reações em cadeia mediadas por radicais livres. No entanto, os motores desta reação são bastante complexos e existe uma quantidade considerável de compostos que podem ser formados nas reações. Assim como ocorre com os lipídeos, os mecanismos químicos envolvidos nas reações de oxidação das proteínas podem ser divididos em três etapas: iniciação, propagação e terminação (PESSOA; VALQUIRIA, 2016).

A oxidação de proteínas começa com os processos de iniciação dos átomos de hidrogênio da proteína via geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) para formar uma proteína radical central no carbono ($P \bullet$) que é consequentemente convertido no radical anquilproxil ($POO \bullet$) na presença de oxigênio e a um peróxido de alquil ($POOH$) ligando ao hidrogênio átomos de outra molécula suscetível. Reações subsequentes com ROS, como HO_2 ou com formas reduzidas de metais de transição (Mn^{+}), como Fe^{2+} ou Cu^{+1} levam à produção de radical alcóxila ($PO \bullet$) e seu derivado hidroxila (POH) (FALOWO et al., 2017).

4 CONTROLE DA OXIDAÇÃO PELO USO DE ANTIOXIDANTES

Existem várias maneiras de retardar a degradação oxidativa em alimentos. Muitos dos problemas de oxidação podem ser resolvidos ou, pelo menos, mantidos sob controle, por meio de intervenções tecnológicas adequadas (OETTERER et al., 2006). Os inibidores da oxidação incluem a adição de agentes complexantes, os quais reduzem a concentração de metais livres; agentes redutores (doadores de elétrons); agentes que removem ou reduzem a concentração de oxigênio; e, os removedores de radicais livres, aprofundados no presente trabalho.

Substâncias capazes de inibir ou impedir a oxidação dos alimentos são chamados de antioxidantes. A utilização de antioxidantes retarda a rancidez oxidativa e protege pigmentos, carotenoides, vitaminas e outros compostos insaturados em alimentos (DAMODARAN et al., 2008).

Antigamente, o controle de oxidação era realizado de forma arbitrária, sem conhecimento da causa da oxidação e, conseqüentemente, da ação dos antioxidantes. Um caso comum era a utilização pelas donas de casa de suco de laranja na salada de frutas. Mesmo sem saber das possíveis reações químicas que poderiam ocorrer na salada de frutas, as donas de casa sabiam que a adição do suco de laranja evitava o escurecimento das frutas e aumentava, assim, o tempo de conservação da salada. Este escurecimento era evitado pela ação do ácido cítrico presente na laranja e considerado um antioxidante natural. Da mesma forma, o ácido ascórbico, também presente em frutas cítricas, reage rapidamente com o oxigênio, deixando-o indisponível para reagir com outros componentes do alimento, assim, como os sulfitos são oxidados facilmente em sistemas alimentares a sulfonatos e sulfatos, agindo como antioxidante em alimentos, como em frutas secas (DAMODARAN et al., 2008).

Os antioxidantes apresentam graus variáveis de eficiência na proteção de sistemas alimentares, sendo que as combinações costumam fornecer maior proteção em relação à adição de um único composto. Assim, os antioxidantes mistos por vezes têm ação sinérgica, embora tal efeito ainda não seja compreendido por completo. Um exemplo é o emprego do ácido ascórbico em conjunto com compostos fenólicos. O ácido ascórbico pode regenerar antioxidantes fenólicos por fornecimento de átomos de hidrogênio para interromper a reação em cadeia da oxidação de lipídeos (ARAÚJO, 2015).

Os antioxidantes utilizados em alimentos são de origem natural ou sintética, e podem ser classificados como primários, sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos (RAMALHO; JORGE, 2006).

Os antioxidantes primários atuam removendo ou inativando os radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação. Eles doam um átomo de hidrogênio ao radical livre, gerando moléculas estáveis e, desta forma, interrompem a reação em cadeia (Figura3) (RAMALHO; JORGE, 2006). Os antioxidantes primários mais conhecidos são o BHA, BHT e o TBHQ, que são polifenóis sintéticos, e os tocoferóis, que são naturais.

Os compostos sinergistas apresentam pouca ou nenhuma atividade antioxidante, mas quando combinados em proporções adequadas com outros antioxidantes podem ter a atividade aumentada. Um exemplo é o ácido ascórbico, que pode atuar como sinergista da regeneração de antioxidantes primários (RAMALHO; JORGE, 2006).

Os removedores de oxigênio são compostos que reagem com o oxigênio presente no meio, formando moléculas estáveis. Desta forma, o oxigênio fica indisponível para as reações de autoxidação. O ácido ascórbico e seus isômeros são exemplos desta classe de antioxidantes (RAMALHO; JORGE, 2006).

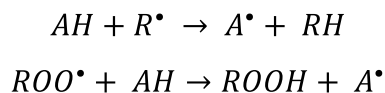
Os antioxidantes biológicos são enzimas presentes naturalmente nos tecidos vegetal ou animal, como a catalase, glicose oxidase e superóxido dismutase. Elas atuam como removedores de oxigênio ou de compostos altamente reativos presentes no alimento (RAMALHO; JORGE, 2006).

Os agentes quelantes/sequestrantes são utilizados para complexar íons metálicos, que normalmente atuam como catalisadores da oxidação lipídica, sobretudo o cobre e o ferro. A complexação ocorre devido a presença de um par de elétrons não compartilhado na estrutura molecular destes compostos. Como exemplos podem ser citados o ácido cítrico, fosfatos e sais de ácido etileno diamino tetra acético (EDTA) (RAMALHO; JORGE, 2006).

Os antioxidantes mistos são extratos constituídos por uma mistura de compostos obtidos de plantas e animais, destacando-se proteínas hidrolisadas, flavonoides e derivados de ácido cinâmico. Estes compostos têm sido bastante estudados como antioxidantes para adição em alimentos (RAMALHO; JORGE, 2006).

O antioxidante (AH) funciona removendo os radicais livres ($R^\bullet$ ou $ROO^\bullet$) tão logo estes sejam formados e são eficientes apenas quando a concentração do $ROO^\bullet$ é baixa, ou seja, na fase inicial da oxidação. Logo que os radicais peroxil ($ROO^\bullet$) estejam presentes em concentrações elevadas, o antioxidante é rapidamente decomposto. A reação direta do antioxidante com o substrato $R^\bullet$ parece ser menos importante que a reação com o radical peroxil ($ROO^\bullet$) (DAMODARAN et al., 2008), como mostra a Figura 3:

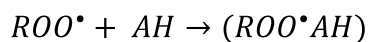
Figura 3: Ação dos Antioxidantes



Fonte: (DAMODARAN et al., 2008).

Outro mecanismo é a formação do complexo entre o radical peroxil e os antioxidantes, como na Figura 4:

Figura 4: Ação dos Antioxidantes



Fonte: (DAMODARAN et al., 2008).

Para serem efetivos, os antioxidantes têm que competir com o substrato, normalmente presente em concentrações elevadas. A sua eficiência depende da capacidade em doar hidrogênio para o radical livre, podendo ser prevista com a ajuda de potencial padrão de redução (ARAÚJO, 2015). Os antioxidantes permitidos pela legislação brasileira estão na Tabela 1:

Tabela 1: Antioxidantes permitidos pela legislação brasileira

ANTIOXIDANTES	CÓDIGO INS	IDA*
Ácido ascórbico	300	Não especificada
Ácido cítrico	330	Não limitada
Ácido fosfórico	338	70 (como P)
Ácido eritórlico	315	Não especificada
Butil-hidroxianisol (BHA)	320	0-0,5 (1988)
Butil-hidroxitolueno (BHT)	321	0,03 (1995)
Citrato de monoglicerídeos	-	-
Citrato de monoisopropila	384	0-14 (1973)
Cloreto de estanho	512	14 (2000)
EDTA ácido dissódico	386	0-2,5 (1973)
EDTA cálcico dissódico	385	0-2,5 (1973)
Galato de propila ou	310	0-1,4 (1996)
De dodecila ou	312	Não especificada
De octila	311	Não especificada
Lecitinas	322	Não limitada
Palmitato de ascorbila	304	0-1,25 (1973)
Estearato de ascorbila	305	0-1,25 (1973)
Terc-butilhidroquinona (TBHQ)	319	0-0,7 (1997)
Tocoferóis	307	0,15-2 (1986)

*IDA: Ingestão Diária Aceitável.
Fonte: BRASIL; ANVISA.

O código INS (International Numbering System) é a aplicação do Sistema Internacional de Numeração de Aditivos Alimentares, elaborado pelo Comitê do Codex sobre Aditivos Alimentares e Contaminantes de Alimentos para estabelecer um sistema numérico

internacional de identificação dos aditivos alimentares nas listas de ingredientes, assim os aditivos como antioxidantes tem os mesmos números em todo o mundo para facilitar sua identificação. Já o IDA (é medida em miligramas de antioxidantes por quilo de peso corpóreo da pessoa que o ingere (mg/kg)) é considerada uma ingestão segura para um adulto saudável de peso normal que consome uma quantidade média diária da substância em questão. A IDA não leva em conta reações alérgicas, que são respostas individuais e não fenômenos dependentes da dosagem, mas serve como recomendação de consumo de cada um dos antioxidantes citados de acordo com a ANVISA.

5 OS ANTIOXIDANTES MAIS UTILIZADOS NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

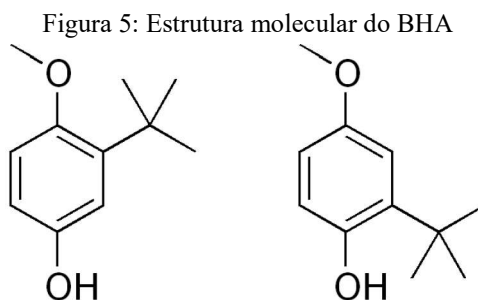
Os antioxidantes sintéticos são os mais utilizados pela indústria de alimentos. São substâncias que tiveram seu uso aprovado em alimentos após investigações que comprovaram sua segurança dentro de um limite de ingestão diária. Dessa forma, estão sujeitos às legislações específicas de cada país ou normas internacionais. Dentre esses antioxidantes, os mais utilizados são o BHA (butilhidroxianisol), o BHT (butilhidroxitolueno), e o TBHQ (terc-butilhidroquinona).

Apesar de serem muito efetivos e estáveis, os antioxidantes sintéticos apresentam uso restrito em muitos países devido à possibilidade de causarem efeitos indesejáveis em enzimas de vários órgãos humanos e serem prejudiciais à saúde (TIVERON, 2010). Dessa forma, há um grande interesse em encontrar novos antioxidantes que sejam seguros e obtidos de fontes naturais. A seguir, são apresentadas as principais características dos antioxidantes mais utilizados.

5.1 Butilhidroxianisol (BHA)

Para o BHA, o limite máximo permitido para carnes, por exemplo, é de 0,01 g para 100 g. O BHA possui grande estabilidade térmica, mas em temperaturas elevadas confere aos alimentos odor desagradável. Muito aplicado e de muita eficiência para gordura animal e de pouca eficiência em óleos e vegetais. Comercialmente, o BHA é uma mistura de dois isômeros, 2-BHA E 3-BHA. É altamente solúvel em óleos e gorduras e insolúvel em água. Tem habilidade de resistir a processos tecnológicos, principalmente aquecimento, e transferir a atividade estabilizante para o produto final frito ou assado, como biscoitos, batata frita, amendoim torrado dentre outros. Em alimentos com baixo teor de gorduras, como produtos à

base de cereais, purê de batatas e misturas para bolos, o BHA é muito utilizado (ARAÚJO, 2015).



Fonte: (ARAÚJO, 2015)

5.2 Butilhidroxitolueno (BHT)

Para o BHT, o limite máximo permitido para carnes, por exemplo, é de 0,01 g para 100 g, assim como o BHA. Sua estabilidade térmica não é tão eficaz quanto o BHA, sendo considerada razoável, com odor desagradável em temperatura elevada. Sua aplicação é predominantemente em gordura animal e de pouca eficiência em óleos vegetais (ARAÚJO, 2015).

O BHT é muito utilizado e possui propriedades similares às do BHA. Porém, não é tão efetivo como o BHA, em decorrência da presença de dois grupos butil, os quais conferem maior impedimento estérico que o BHA, além de ser vaporizado mais facilmente durante aquecimento.

O BHA e BHT têm uma volatilidade muito vantajosa em alimentos que contêm baixo teor de gordura. A adição de pequenas quantidades do BHA ou do BHT ao produto antes do cozimento ou secagem provoca a dispersão pela volatilização, resultando na proteção do produto durante o processamento e o armazenamento. Esses produtos podem também ser estabilizados pela adição de elevadas concentrações do antioxidante na parede interna das embalagens. O antioxidante entra em contato com a porção gordurosa do produto mais eficientemente por volatilização. A Tabela 2 apresenta as quantidades comumente adicionadas em alguns alimentos.

Tabela 2: Níveis de BHA e BHT utilizados em produtos alimentícios

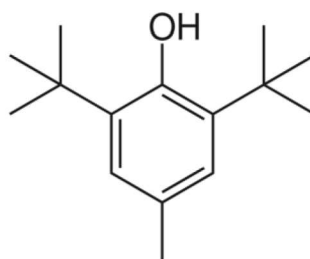
Produtos	Níveis para BHA (%)	Níveis para BHT (%)
Gordura animal	0,001-0,01	0,001-0,01
Óleos vegetais	0,002-0,02	0,002-0,02
Produtos assados	0,01-0,04	0,01-0,04
Cereais	0,005-0,02	0,005-0,02
Purê de batata desidratada	0,001	0,001
Óleos essenciais	0,01-0,1	0,01-0,1
Embalagens	0,02-0,1	0,02-0,1

*Combinação com BHT/BHA, galatos e ácidos cítrico são frequentemente utilizadas.

Fonte: (ARAÚJO, 2015)

Na Tabela 2: Níveis de BHA e BHT utilizados em produtos alimentícios. Tanto o BHA quanto o BHT apresentam pouca eficiência em óleos vegetais, sendo o BHT mais efetivo que o BHA na estabilização de gorduras animais (ARAÚJO, 2015).

Figura 6: Estrutura molecular do BHT



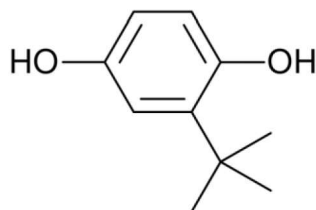
Fonte: (ARAÚJO, 2015)

5.3 Terc-butilhidroquinona (TBHQ)

O uso de óleos vegetais poli-insaturados altamente sensíveis à oxidação no processamento de alimentos e na dieta humana trouxe a necessidade de antioxidantes mais potentes. Testes longos foram feitos por Thompson e Sherwin em 1966 e 1967, que resultaram na aprovação de TBHQ para uso em alimentos em 1972, nos Estados Unidos. O TBHQ tem melhor resposta à oxidação do que os anteriores. A estrutura de polihidroxilas é responsável pela relativa solubilidade em água, que pode, por outro lado, comprometer sua eficiência em emulsões. É um sólido cristalino branco com moderada solubilidade em óleo e muito baixa em água (COPPEN, 1994; SHERWIN, 1985).

O TBHQ é o mais eficiente dos antioxidantes primários, em especial para óleos vegetais; resiste a altas temperaturas, é menos volátil do que o BHA e o BHT e, se comparado ao BHA, ele é razoável em produtos assados e excelente em frituras (OETTERER et al., 2006).

Figura 7: Estrutura molecular do TBHQ



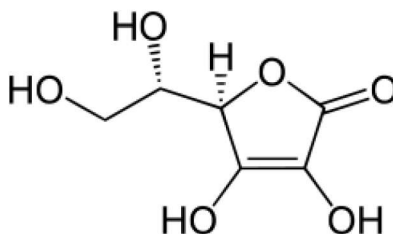
Fonte: (ARAÚJO, 2015).

5.4 Ácido ascórbico

O ácido ascórbico, ou vitamina C, é uma cetolactona de seis carbonos, estruturalmente relacionada à glucose e a outras hexoses e recebeu o nome, do grego, significando “sem escorbuto”. O ácido L-ascórbico, além de formar complexos com íons metálicos, por ter a estrutura de um diol, pode ser facilmente oxidado a ácido L-deidroascórbico, que também apresenta atividade vitamínica.

O seu uso é permitido em cogumelos (0,20% ou 2.000 ppm), alimentos infantis (0,05%), cervejas (0,03%), vinhos (0,01%) e refrescos e refrigerantes (qsp), entre outros alimentos/bebidas (GAVA et al., 2009).

Figura 8: Estrutura molecular do ácido ascórbico

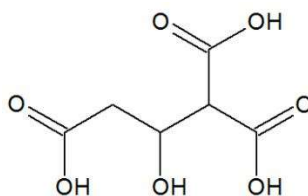


Fonte: (GAVA et al., 2009)

5.5 Ácido cítrico

De acordo com Gava et al. (2009) o ácido cítrico é um ácido orgânico fraco, tricarboxílico (2-hidroxi-1, 2,3-propanotricarboxílico), presente na maioria das frutas, principalmente nas cítricas. Trata-se também de um acidulante, mas é considerado um antioxidante por quelar íons metálicos. Alimentos que permitem seu uso incluem o coco ralado, o leite de coco, óleos e gorduras e produtos de frutas, todos em quantidades qsp (quantidade suficiente para obter o efeito desejado).

Figura 9: Estrutura molecular do ácido cítrico

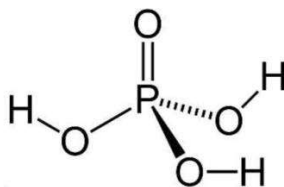


Fonte: (GAVA et al., 2009)

5.6 Ácido fosfórico

O ácido fosfórico (H_3PO_4) é um ácido fraco a medianamente forte e também é usado como acidulante. É incluído como antioxidante por atuar como sequestrante de metais. O uso é permitido em gorduras e margarinas, num máximo de 0,01% (GAVA et al., 2009).

Figura 10: Estrutura molecular do ácido fosfórico

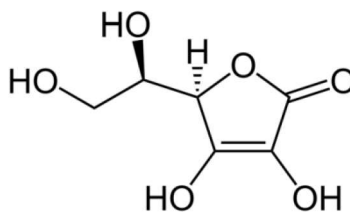


Fonte: (GAVA et al., 2009)

5.7 Ácido eritórbito

O ácido eritórbito ou isoascórbico é um isômero sintético da vitamina C, mas com apenas 1/20 da atividade desta vitamina. O seu uso é permitido em cervejas (0,01%), creme vegetal (0,2%), cogumelos (0,03%), vinhos (qsp), refrescos e refrigerantes (0,01%), óleos e gorduras (0,03%), entre outros alimentos (GAVA et al., 2009).

Figura 11: Estrutura molecular do ácido eritórbito



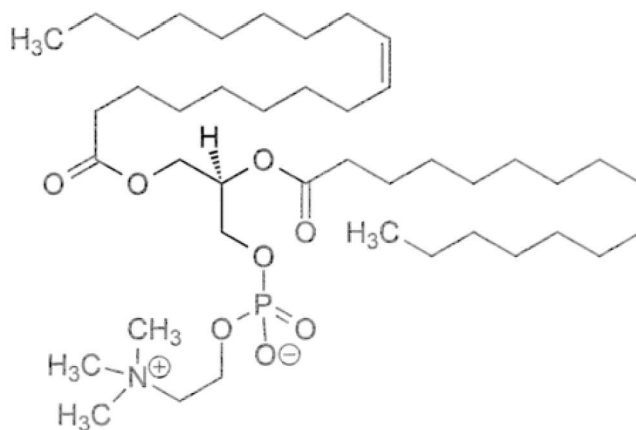
Fonte: (GAVA et al., 2009)

5.8 Lecitinas

As lecitinas têm sido muito usadas por suas propriedades funcionais e nutricionais, sendo de origem natural e possuindo bom custo/benefício. São fosfolipídios e com balanço hidrofílico/lipofílico por terem uma fração não polar (radicais de ácidos graxos) e outra polar

(fosfodiéster). Possuem várias funções, incluindo a de antioxidantes. A legislação permite o uso em biscoitos (0,2%), gelados comestíveis (0,1%), leite de coco (0,2%), óleos e gorduras (0,2%) e margarina (0,6%). A sua IDA não é limitada (GAVA et al., 2009).

Figura 12: Estrutura molecular do Ácido lecitinas

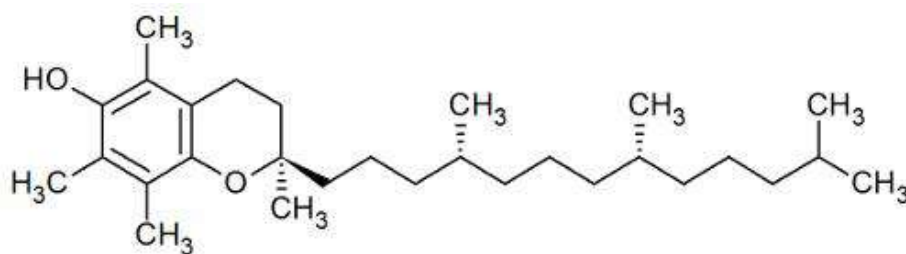


Fonte: (GAVA et al., 2009).

5.9 Tocoferóis

Para os tocoferóis o limite máximo de acordo com a ANVISA, permitido para bebidas, por exemplo, é de 0,003 g para 100 g ou 100 mL. O alfa-tocoferol é um antioxidante natural encontrado no reino vegetal e faz parte da família da vitamina E. Além deste, há outros três tocoferóis (beta, gama e delta) e quatro tocotrienóis, que apresentam uma cadeia lateral insaturada. Podem ser utilizados em vários alimentos, como, por exemplo, em alimentos e bebidas para fins especiais, como fórmulas infantis para lactentes destinadas a necessidades dietoterápicas específicas.

Figura 13: Estrutura molecular do alfa-tocoferóis



Fonte: (GAVA et al., 2009)

6 FONTES DE ANTIOXIDANTES NATURAIS

A grande maioria dos antioxidantes naturais é encontrada em fontes de origem vegetal. Os polifenóis podem ser considerados como o principal grupo de compostos responsáveis

pela atividade antioxidante de vegetais. Existem diferentes classes de compostos polifenólicos, divididas em quatro famílias: flavonóides (flavonas, flavanonas, catequinas e antocianinas), ácidos fenólicos, lignanas e estilbenos (resveratrol), sendo que cada uma apresenta efeito antioxidante diferenciado. A distribuição e a quantidade destes compostos não ocorrem da mesma maneira nos vegetais, o que influencia a capacidade antioxidante de cada um dos tipos de antioxidantes (GIADA, 2006; TIVERON, 2010).

Além dos vegetais, alguns antioxidantes podem ser produzidos por processos biotecnológicos, por fermentação ou hidrólise enzimática (DAMODARAN et al., 2008). Mais recentemente, alguns estudos têm mostrado a aplicação de outros compostos com capacidades antioxidantes obtidos por fermentação ou por hidrólise enzimática como peptídeos bioativos e exopolissacarídeos (são macromoléculas naturais encontradas em todos organismos vivos).

Os trabalhos de literatura que investigam o teor de antioxidantes nas amostras em estudo utilizam diferentes métodos de determinação de atividade antioxidante. O mais simples é a determinação de fenólicos totais, que quantifica todos os fenólicos presentes na amostra. Neste tipo de análise, a curva padrão é feita com um fenólico conhecido, normalmente o ácido gálico. Por esta razão, o resultado é expresso em termos do composto fenólico utilizado, por exemplo, em ácido gálico equivalente (EAG). Há também os métodos de determinação de antocianinas totais, flavonóides totais (SILVA et al., 2016). A identificação e a quantificação de compostos específicos são feitas por métodos cromatográficos.

Para determinação da atividade antioxidante do extrato ou do composto isolado, existem várias metodologias de análise utilizadas, sendo que cada uma se baseia em uma reação de oxirredução diferente. Desta forma, os resultados de diferentes metodologias de determinação de atividade antioxidantes não podem ser comparados.

As mais usuais em artigos científicos são os métodos *in vitro*, sequestrador de radicais livres, como os métodos FRAP, ABTS, ORAC, DPPH, beta-caroteno/ácido linoleico, TBARS e Rancimat (TIVERON, 2010).

Pelo método *in vitro*, os ensaios determinam a habilidade dos antioxidantes para sequestrar radicais livres gerados no meio de reação, ou medem a capacidade de sequestrar espécies radicalares estáveis gerados pelos antioxidantes ou a eficiência dos antioxidantes em remover radical oxigênio gerado por sistemas enzimáticos (GIADA, 2006; TIVERON, 2010).

O método de FRAP baseia-se na medida direta da habilidade dos antioxidantes reduzirem, em condições de pH, o complexo Fe^{+3} /tripiridiltriazina (TPTZ). O método ORAC baseia-se na detecção do dano químico às beta ou R-Picoeritrina, proteínas que funcionam como componentes armazenadores de luz. A perda da fluorescência na presença de radicais

livres pelos antioxidantes é tomada como índice de dano oxidativo da proteína (GIADA, 2006; TIVERON, 2010).

O método DPPH baseia-se no sequestro do radical estável DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazil) do meio da amostra. Assim, o radical DPPH serve como radical oxidável a ser reduzido pelo antioxidante bem como indicador para a reação, de modo que ele é um radical estável de coloração violeta, recebendo um elétron ou um hidrogênio radical para tornar-se uma molécula estável, sendo então reduzido e muda para a coloração amarela. No método beta-caroteno/ácido linoleico, os produtos da degradação do ácido linoleico pela oxidação, devido a diferentes indutores (seja ele oxigênio, luz ou calor), são medidos indiretamente pela taxa de destruição oxidativa do beta caroteno (GIADA, 2006; TIVERON, 2010).

O método TBARS baseia-se na reação do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) com os produtos da decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos insaturados, resultantes da oxidação de um substrato lipídico. O método Rancimat são testes de estabilidade em óleos e gorduras recorrem às condições padronizadas de oxidação acelerada e permitem estimar de forma rápida a estabilidade oxidativa de uma matéria graxa ou a eficácia teórica de um antioxidante isolado ou em associação (GIADA, 2006; TIVERON, 2010).

O método do ABTS (2,2-azinobis (ethylbenzo-thiazoline6-sulfonic acid) diammonium salt) está baseado na habilidade dos antioxidantes em capturar o cátion $ABTS^{\bullet+}$. Esta captura provoca um decréscimo na absorbância, que é lida a partir da mistura do radical com o antioxidante em diferentes tempos. Neste método, a curva padrão é feita com o antioxidante Trolox, por isso o resultado é expresso como Trolox equivalente (TIVERON, 2010).

O método do ácido linoleico está fundamentado em medidas espectrofotométricas da descoloração (oxidação) do β -caroteno induzida pelos produtos de degradação oxidativa do ácido linoleico. Um dos fatores que podem influenciar nesta análise é o meio onde ocorre a reação, que se caracteriza por ser uma emulsão, apresentando regiões polares e apolares ao mesmo tempo e, dependendo da polaridade da amostra, pode interagir mais ou menos com a emulsão (TIVERON, 2010).

No estudo de Ji-Eun Jina, Chang-Bum Ahn, Jae-Young Jea (2018), foram analisados peptídeos bioativos derivados da concha do molusco *Scapharca subcrenata* hidrolisada por pepsina e os hidrolisados apresentaram atividade antioxidante determinada pelos métodos DPPH, ORAC e ABTS.

Na Tabela 3 e 4, serão detalhadas fontes de antioxidantes naturais, vegetais ou outras. Foram incluídos nesta revisão trabalhos que determinam o teor de fenólicos totais, estudos

mais específicos que identificam e quantificam os fenólicos e estudos de determinação da atividade antioxidante.

Tabela 3: Fontes de Antioxidantes Naturais

Fontes	Compostos antioxidantes	Referência
Bearberry	57,4 g EAG (concentração de fenólicos totais)/ 100g	(LORENZO et al., 2018)
Amora silvestre	118 mg por 100 g base seca (BS) de Antocianinas 3,4 mg por 100 g base seca (BS) de flavonóides 5,0 mg EAG g de frutas de ácido gálico 155 mg por 100 g base seca (BS) de fenólicos totais 5,0 mg de fenólicos totais / g de matéria seca 16,2 mg EAG / g de matéria seca	(LORENZO et al., 2018)
Groselha preta	106 mg por 100 g base seca (BS) de Antocianinas 10 mg por 100 g base seca (BS) de flavonóides 9,2 mg por 100 g base úmida (BU) de ácido gálico 410 mg por 100 g base seca (BS) de fenólicos totais	(LORENZO et al., 2018)
Morango	34 mg por 100 g base seca (BS) de Antocianinas; 3 mg por 100 g base seca (BS) de flavonóides; 4,3 mg por 100 g sabe úmida (BU) de ácido gálico 460 mg de fenólicos totais 4,3 mg de EAG / g de fruta	(LORENZO et al., 2018)
Uva de urso	57,4 g de EAG/100 g frutas de ácido gálico	(LORENZO et al., 2018)

Bambu	Varia de 191,37 mg/100 g a 630,0 mg/100g de fenólicos totais	(NIRMALA et al., 2018)
Alho	Compostos fenólicos $6,99 \pm 0,39 \mu\text{g}$ de EAG (concentração de fenóis totais) mg^{-1}	(FERREIRA, 2018)
Rúcula orgânica	$126,84 \pm 4,46 \text{ mg EAG/100 g}$	(ARBOS et al., 2010)
Alface orgânica	$108,72 \pm 2,34 \text{ mg EAG/100 g}$	(ARBOS et al., 2010)
Almeirão orgânico	$92,15 \pm 1,09 \text{ mg EAG/100 g}$	(ARBOS et al., 2010)
Alface convencional	$91,22 \pm 0,91 \text{ mg EAG/100 g}$	(ARBOS et al., 2010)
Rúcula convencional	$90,78 \pm 2,23 \text{ mg EAG/100 g}$	(ARBOS et al., 2010)
Almeirão convencional	$81,04 \pm 3,64 \text{ mg EAG/100 g}$	(ARBOS et al., 2010)
Chia	Teor de antocianina foi de 8,69 mg.100 g^{-1}	(FURTADO et al., 2018)
Alecrim	128,19 mg (EAG) de compostos fenólicos/g de ervas	(SANTOS, 2017)
Manjerição	134,91 mg (EAG) de compostos fenólicos/g de ervas	(SANTOS, 2017)
Orégano	156,08 mg (EAG) de compostos fenólicos/g de ervas	(SANTOS, 2017)

Fonte: Próprio autor.

Tabela 4: Atividade Antioxidante de produtos naturais pelo método ABTS.

Fontes	Compostos fenólicos	Referência
Açafrão	$111,8 \pm 5,03 \mu\text{M trolox} / \text{g}$ concentração de compostos fenólicos	(TIVERON, 2010)
Alface	$96,5 \pm 0,87 \mu\text{M trolox} / \text{g}$ concentração de compostos fenólicos	(TIVERON, 2010)
Agrião	$79,9 \pm 0,10 \mu\text{M trolox} / \text{g}$ concentração de compostos fenólicos	(TIVERON, 2010)
Cenoura	$8,1 \pm 0,14 \mu\text{M trolox} / \text{g}$ concentração de compostos fenólicos	(TIVERON, 2010)
Alho-poró	$6,9 \pm 1,19 \mu\text{M trolox} / \text{g}$ concentração de compostos fenólicos	(TIVERON, 2010)
Aipo	$6,2 \pm 1,77 \mu\text{M trolox} / \text{g}$ concentração de compostos fenólicos	(TIVERON, 2010)
Vagem	$6,1 \pm 1,65 \mu\text{M trolox} / \text{g}$ concentração de compostos fenólicos	(TIVERON, 2010)
Chia	Capacidade antioxidante foi de $1,004 \mu\text{MTrolox.g}^{-1}$	(FURTADO et al., 2018)

Fonte: Próprio autor.

De acordo com Manganaris et al. (2014), as frutas vermelhas são uma boa fonte de compostos fenólicos, especialmente antocianinas, que podem ser usadas como alternativa de antioxidante natural. A maioria das frutas vermelhas são ricas em ácido ascórbico, carotenoides, vitamina E e compostos fenólicos. Carotenoides comuns, como luteína e β -caroteno, licopeno, α -caroteno, β -criptoxantina, neoxantina, cis e trans- violaxantina, 5,6-epoxiluteína e zeaxantina também foram identificadas em frutas vermelhas.

A uva de urso (*Arctostaphylos* sp.) possui grande potencial para uso como antioxidante natural devido a seu alto conteúdo polifenólico de 57,4 g de EAG (concentrações de compostos fenólicos totais) /100 g. Para as uvas (*Vitis* sp.), existem muitas espécies e variedades de bagas de uva em todo o mundo e, portanto, a composição química é altamente afetada por esses fatores. De maneira geral, as variedades de uva roxa / vermelha contêm uma grande variedade de compostos fenólicos, incluindo ácidos fenólicos, flavonóides, antocianinas e estilbenoides (LORENZO et al., 2018).

O mirtilo (*Vaccinium* sp.) contém uma variedade de compostos fenólicos (flavanóides, taninos e antocianinas), além de um alto teor de vitaminas C e E, todos contribuindo para sua alta capacidade antioxidante (LORENZO et al., 2018).

A amora-preta (*Rubus* sp.) possui numerosos compostos capazes de contribuir para a atividade antioxidante, como ácidos ascórbicos, compostos fenólicos, antocianinas, flavonóides, ácidos clorogênicos e procianidinas. A amora silvestre (*Rubus chamaemorus*) possui cerca de 16,2 mg EAG / g de matéria seca e pode ser usada como antioxidante natural (LORENZO et al., 2018).

A groselha-preta (*Ribes nigrum*) apresenta quantidade de antocianinas de 106 mg por 100 g base seca (BS), de flavonóides 10 mg por 100 g base seca (BS), de ácido gálico 9,2 mg por 100 g base úmida (BU) e 410 mg por 100 g base seca (BS) de fenólicos totais. Em comparação com controles, a adição de 5, 10 e 20 g / kg de extratos de groselha reduziu os valores de TBARs em 74, 90 e 92%, respectivamente, resultando em valores de TBARs abaixo do limite sensorial aceitável para sabor rançoso (1 mg / kg) (LORENZO et al., 2018).

Estudo realizado com arando (*Vaccinium* sp.) encontrou várias classes de polifenóis, incluindo ácidos fenólicos, flavonóis glicosídeos, antocianinas e proantocianinas, e concluiu que o suco concentrado de arando em pó possui alto teor de atividade antioxidante, mostrando potencial de retardo de TBAR's (LORENZO et al., 2018).

Na polpa do morango (*Fragaria ananassa*), além do ácido ascórbico, é comum encontrar mais de 40 compostos fenólicos, principalmente em suas formas glicosiladas, incluindo glicosídeos de quercetina, kaempferol, cianidina, pelargonidina, ácido elágico,

derivados do ácido *p*-carmarico ácido e elagitaninos, que são principalmente responsáveis pela atividade antioxidante da fruta.

Várias espécies de bambu foram analisadas quanto às suas atividades antioxidantes, como *Dendrocalamus asper*, *D. hamiltonii*, *Bambusa tulda*, *B. vulgaris*, *B. balcooa*, *B. pallida* e Espécies de *Phyllostachys*, (PARK; JHON, 2010; NEMENYI et al., 2015). Essa propriedade foi atribuída à presença de fenólicos e ácido ascórbico nos extratos de broto de bambu. O sistema antioxidante de brotos de bambu também é considerado crucial na resistência ao estresse de refrigeração. Reng et al. (2015) realizaram um estudo sobre brotações de *Phyllostachys Praecox f. prevernalis* e determinaram que o tratamento com UV-C alivia as lesões causadas pelo frio ao fortalecer a competência antioxidante e promover a biossíntese de prolina. No estudo, o conteúdo fenólico de brotos de diferentes espécies de bambu variou de 191,37 mg/100 g a 630,0 mg/100 g. O maior valor do conteúdo fenólico total foi medido nos brotos de *P. aureosulcata* (1.321,95 µg EAG/ml). O teor de vitamina C nos brotos de várias espécies de bambu variaram de 1,00 mg a 4,80 mg/100 g, sendo que a espécie *Dendrocalamus Sikkimensis* (2,43 mg / 100g, peso fresco) apresentou maior teor de vitamina C seguido de *D. latiflorus* (2,38 mg / 100g, peso fresco) e *D. giganteus* (2,21 mg / 100, peso fresco) (NIRMALA et al., 2018).

Os teores de compostos fenólicos totais encontrados para o alho pelos pesquisadores foram de $6,99 \pm 0,39$ µg de EAG (concentração de fenólicos totais) mg^{-1} de matéria seca no início do estudo, $7,23 \pm 0,33$ µg de EAG mg^{-1} de matéria seca aos 30 dias e de $8,70 \pm 1,83$ µg de EAG mg^{-1} de matéria seca aos 60 dias. Com relação à atividade antioxidante, a mesma foi medida pelo sistema beta caroteno/ácido linoleico e houve redução significativa durante o período de armazenamento nos tempos de 0 a 15 dias (FERREIRA, 2018). Outro estudo como extrato de alho cozido evidenciou uma atividade antioxidante superior, com um IC 50 de 23,4 µg / ml capacidade antioxidante do extrato de cascas de alho, tendo a reduzir um valor de IC 50 de 79,07 µg / mL em comparação com vitamina C, que apresentou um valor de 4,09 µg / mL (SILVA; MORETTI; MATTOS, 2010).

Ferreira (2018) determinou a atividade antioxidante. O extrato de alho cozido apresentou maior atividade, tanto pelo método do radical DPPH, como pelo método FRAP. Por isso, deverá ser preferencialmente consumido o alho cozido comparativamente ao alho fresco. Quanto às cascas de alho, foi concluído que estas são uma fonte promissora de compostos antioxidantes naturais e de fácil acesso, apesar de não fazerem parte da dieta humana. Nos dois casos estudados acima a quantidade de atividade antioxidante foi menor comparado ao alho fresco.

Um estudo realizado por Tiveron (2010) determinou os compostos fenólicos mais abundantes em amostras de 23 hortaliças, tais como, açafrão, alface, agrião, vagem, alho-poró, cebolinha, dentre outras. Os melhores resultados encontrados neste trabalho para a metodologia do ABTS foram para as amostras de açafrão ($111,8 \pm 5,03 \mu\text{M trolox / g}$), alface ($96,5 \pm 0,87 \mu\text{M trolox / g}$) e agrião ($79,9 \pm 0,10 \mu\text{M trolox / g}$). Foram encontrados os seguintes resultados em cenoura ($8,1 \pm 0,14 \mu\text{M trolox / g}$), alho-poró ($6,9 \pm 1,19 \mu\text{M trolox / g}$), aipo ($6,2 \pm 1,77 \mu\text{M trolox / g}$) e vagem ($6,1 \pm 1,65 \mu\text{M trolox / g}$).

Utilizando o método de radical livre DPPH, os resultados mostraram que alface, alcachofra, açafrão e espinafre apresentaram maiores atividades antioxidantes (54,9%), (53,2%), (36,2%), (32,1%), respectivamente. Com fator de diluição menor (1:5), as hortaliças que apresentaram melhores atividades antioxidantes foram rúcula (86%), beterraba (85,1%) e salsa (78,4%) com maior fator de diluição (1:50), uma superfície ($54,9 \pm 0,66\%$) e alcachofra ($53,2 \pm 4,23\%$) não diferiram significativamente da atividade antioxidante pelo método do DPPH, porém apresentaram diferença em relação ao açafrão ($36,2 \pm 2,00\%$) e espinafre ($32,1 \pm 0,25\%$). O açafrão e a alcachofra não diferiram estatisticamente entre si. (TIVERON, 2010).

Morais et al. (2009) avaliaram uma ação antioxidante de chás e condimentos largamente consumidos no Brasil, tais como o boldo, a camomila, o capim santo, o chá preto, o chá verde, dentre outros. Os resultados variaram em função do tipo de chá e do condimento. Os chás analisados foram das plantas: *Pneumus boldus* Mold., *Matricaria becutita* L., *Cymbopogon bitratus* (DC) Stapf, *Baccharis trimera* (Menos.) DC, *Camelia sinensis* (L) O. Kuntze (fermentado), *Camelia sinensis* (não fermentada), *Lippia alba* NE Brown, *Mentha arvensis* L. e *Pyrusmalus*. Dentre as amostras analisadas, as que se mostraram mais eficientes frente aos radicais livres foram: chá verde (*Camelia Sinensis* (não-fermentada)) com IC50 de 0,14 mg/mL, canela (*Cinnamonum Zeylanicum*) com CI50 de 0,37 mg/mL, cravo (*Eugenia aromatica*) com IC50 de 0,46 mg/mL, louro (*Laurus Nobilis*) com IC50 de 0,76 mg/mL e chá preto (*Camelia Sinensis* (fermentada)) com IC50 de 0,96 mg/mL. Vale lembrar que IC 50 se refere a uma curva de dose-reposta que representa a concentração para qual 50% da população exibe uma resposta, ou seja, neste caso é uma média da inibição de um composto (com 50% de inibição da oxidação) (MORAIS et al., 2009).

Roesler et al. (2007) mostraram com os estudos que os extratos que contêm maiores conteúdos de fenólicos totais nos frutos do cerrado estudados, em ordem decrescente, foram: extratos etanólico e aquoso de casca de pequi (209,37 e 208,42 g EAG.kg⁻¹, respectivamente), extrato etanólico de semente de araticum (136,99 g EAG.kg⁻¹), extrato etanólico de semente de cagaita (136,96 g EAG.kg⁻¹), extrato etanólico de casca de banha de

galinha (99,18 g EAG.kg⁻¹) e extrato etanólico de casca de araticum (90,72 g EAG.kg⁻¹). Com exceção do extrato aquoso de casca de pequi, a extração etanólica foi a mais eficiente para remoção dos compostos fenólicos das diferentes frações das diversas frutas estudadas. Considerando o alto conteúdo de fenólicos totais dos extratos de algumas frações das frutas do cerrado, comparado com estudos de extratos de frutas já publicados, em que a atividade antioxidante foi correlacionada, principalmente, com alto conteúdo de fenólicos totais, como, por exemplo, extratos obtidos de romã com 18% de fenólicos totais como ácido tânico equivalente (massa seca), extrato de maçã com 2866 mg.100 g⁻¹, extrato de ameixa com 2643 mg.100 g⁻¹, extrato de pera com 1194 mg.100 g⁻¹ de fenólicos totais como catequina equivalente (massa seca), extrato de casca e polpa de goiaba com 58,7 e 26,3 g.kg⁻¹, respectivamente, de fenólicos totais como ácido gálico equivalente (massa seca) e "berries" diversas com valores entre 177,5 e 690,2 mg.100 g⁻¹ de fenólicos totais como ácido gálico equivalente (frutos frescos), a capacidade de sequestrar radicais livres dos extratos produzidos por diferentes frações de frutas do cerrado foi determinada utilizando-se o modelo "in vitro" 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH).

Arbos et al. (2010) avaliaram a atividade antioxidantes de hortaliças convencionais e orgânicas. Os resultados do estudo mostraram que a alface orgânica apresenta ação antioxidante mais efetiva que a convencional nas concentrações de 0,1 e 1 mg.mL⁻¹, reduzindo 23,1 ± 0,35% e 72,3 ± 0,93% o DPPH. Essas concentrações foram também as mais efetivas nos extratos de rúcula orgânica, quando comparado à convencional, reduzindo 23 ± 0,85% o DPPH na concentração 0,1 mg.mL⁻¹ e 77,3 ± 0,74% na concentração 1 mg.mL⁻¹. Em relação aos extratos de almeirão orgânico, a atividade antioxidante foi superior nos extratos menos concentrados, 0,01 e 0,1 mg.mL⁻¹, reduzindo o DPPH em 5,3 ± 0,20% e 13,1 ± 0,20%, respectivamente. Dentre as hortaliças analisadas, a efetividade na capacidade antioxidante foi, em ordem decrescente, obtida pela rúcula orgânica (IC 50 de 0,60 mg.mL⁻¹), almeirão orgânico (IC 50 de 0,62 mg.mL⁻¹), alface orgânica (IC 50 de 0,64 mg.mL⁻¹), rúcula convencional (IC 50 de 0,68 mg.mL⁻¹), almeirão convencional (IC 50 de 0,71 mg.mL⁻¹) e alface convencional (IC 50 de 0,77 mg.mL⁻¹), hortaliça esta com a menor ação antioxidante. O teor de compostos fenólicos dos extratos das hortaliças, em ordem decrescente, foi: rúcula orgânica (126,84 ± 4,46 mg EAG.100 g⁻¹), alface orgânica (108,72 ± 2,34 mg EAG.100 g⁻¹), almeirão orgânico (92,15 ± 1,09 mg EAG.100 g⁻¹), alface convencional (91,22 ± 0,91 mg EAG.100 g⁻¹), rúcula convencional (90,78 ± 2,23 mg EAG.100 g⁻¹) e almeirão convencional (81,04 ± 3,64 mg EAG.100 g⁻¹).

Furtado, Martins e Bortolini (2018) analisaram farinha de chia e determinaram o teor de antocianinas totais e a atividade antioxidante, que foi avaliada pelo método DPPHO. Os resultados da pesquisa foram: o teor de antocianina foi de $8,69 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$ e a capacidade antioxidante avaliada pela metodologia DPPH foi de $1,004 \text{ } \mu\text{M Trolox.g}^{-1}$. As sementes de chia (*Salvia hispânica* L.) são promissoras como fontes de antioxidantes, devido à presença de polifenóis. Del Ré (2012) utilizou para as pesquisas especiarias tais como alecrim, manjerição, orégano, sálvia, dentre outros e concluiu que, de acordo com o teste DPPH, as maiores atividade antioxidante foram obtidas para os extratos de manjerição (82,01%), orégano (81,32%) e canela (77,82%), enquanto os demais condimentos apresentaram atividade abaixo de 15% (pimenta e gengibre 13,49% e 12,59%, respectivamente). No teste FRAP, o maior nível férrico poder redutor foi observado para os extratos de manjerição ($321,12 \text{ uM ET / g de extrato seco}$) e orégano ($315,11 \text{ uM ET / g extrato seco}$) e a menor atividade foi observada para o extrato de gengibre ($9,08 \text{ uM ET / g extrato seco}$). Para o teste da atividade quelante de ferro, todos os extratos avaliados apresentaram atividade antioxidante: gengibre ($88,57 \pm 2,98$), manjerição ($94,18 \pm 9,17$), orégano ($81,16 \pm 5,80$) e pimenta ($78,92 \pm 8,34$) não mostrou diferença significativa quando em comparação com o controle positivo (EDTA = $90,34 \pm 3,43$). No teste TBARS, as especiarias canela ($18,52 \pm 4,65$), gengibre ($25,33 \pm 5,16$), manjerição ($33,14 \pm 8,94$) e orégano ($21,11 \pm 1,67$) a uma concentração de 250 mg / mL maior atividade inibitória quando comparada à controle positivo Trolox ($47,03 \pm 1,17$).

O estudo de Richheimer (1996) teve como objetivo analisar os principais diterpenos fenólicos antioxidantes presentes em extratos de alecrim e alecrim comercial para determinar as atividades antioxidantes relativas desses compostos e como eles se comparam aos antioxidantes sintéticos BHT, BHA e TBHQ. Foram utilizados aproximadamente 10 g de folhas inteiras de alecrim extraídas com aproximadamente 75 mL de álcool reagente em um soxhlet Buchi Modelo 810 Paratus e analisadas em HPLC. Os dados indicam que o ácido carnósico apresentou aproximadamente sete vezes a atividade antioxidante do BHT e BHA ($0,14 \text{ vs. } 1,0$) e pouco menos da metade da atividade de TBHQ ($2,26 \text{ vs. } 1,0$). Com isso, o estudo concluiu que ácido carnósico possui atividade antioxidante e se encontra em abundância nesta planta e que esses extratos de alecrim podem ser comercializados como alternativas naturais aos antioxidantes sintéticos, mas que futuros estudos devem ser destinados aos compostos adicionais obtidos na extração como o como rosmanol e epirosmanol.

Alves, Pacheco e Reis (2017) utilizaram as folhas do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) para identificação de atividade antioxidante o método DPPH. Foi verificado que a amostra analisada apresenta um percentual significativo de sequestro de radicais livres nas amostras testadas. A concentração de 100 µg/mL apresenta um percentual de atividade antioxidante aparentemente superior à concentração de 1000 µg / mL, porém observa-se que o desvio padrão é alto, o que indica que a atividade antioxidante sofreu uma variação considerável. O autor concluiu que a o manjeriço da espécie *Ocimum basilicum* L. possui representativa composição química, bem como ação antioxidante, atividade que pode ser de grande utilidade na indústria de alimentos como um antioxidante natural.

7 EXTRAÇÃO DE ANTIOXIDANTES NATURAIS

A extração é uma operação unitária em que são envolvidas transferências de massa e tem como objetivo básico a separação de compostos de interesse de uma substância, seja ela sólida ou líquida através de processos químicos, físicos e/ou mecânicos. Os processos podem ser realizados em meio sólido-líquido, líquido-líquido ou gás-líquido (MEREGALLI, 2017).

Os métodos de extração, especificamente para compostos vegetais, devem ser escolhidos de acordo com a estrutura a ser utilizada (raiz, caule, folhas, frutos, sementes) e também em relação ao composto que se deseja extrair. A escolha do método de extração está vinculada à estrutura e à composição do material, por isso é fundamental o conhecimento das propriedades dos compostos de interesse e seu comportamento frente aos diferentes solventes, quando estes são empregados (MEREGALLI, 2017).

Para a identificação e isolamento de compostos que possuem função antioxidante em fontes naturais (como frutas, sementes e especiarias) é necessária a realização a extração destes compostos. Assim, a extração tem como objetivo remover estes compostos desejados e comparar seus resultados, encontrando a melhor alternativa para sua aplicação em alimentos, de modo que os tipos de extração de matrizes vegetais possa ser tipo sólido-líquido, sendo as mais comuns a extração por solventes orgânicos, por água e por extração supercrítica.

Para isolar e determinar os compostos bioativos em fontes naturais como em frutas, sementes e especiarias, é preciso realizar a extração com solventes de polaridades diferentes. Entretanto, antes de começar o processo de extração, são necessárias algumas etapas preliminares para facilitar a extração e conservar os compostos antioxidantes, que são muito sensíveis à ação da luz, oxigênio e calor (DAMODARAN et al., 2008).

No caso dos vegetais, normalmente eles são desidratados, liofilizados ou congelados, e alguns casos peneirados ou moídos antes do processo de extração. Este procedimento é

realizado para que substratos atinjam maior superfície de contato com o solvente de extração e para inativação das enzimas lipoxigenases bem como a polifenoloxidasas, que oxidam compostos fenólicos. Tais enzimas, naturalmente presentes em vegetais, são responsáveis pela rancidez oxidativa enzimática (ANDREO; JORGE, 2006; GÁMEZ-MEZA et al., 1999; JUNTACHOTE; BERGHOFER, 2005).

7.1 Extração com solventes orgânicos

A extração com solvente orgânico é o método mais tradicional para o isolamento dos compostos bioativos, como os antioxidantes naturais. O rendimento da extração e a atividade antioxidante dos extratos dependem do tipo de solvente, devido às diferenças nos potenciais antioxidantes e à polaridade dos compostos, do pH, do tempo e da temperatura de extração (JULKUNEM-TIITO, 1985; MARINOVA; YANISHLIEVA, 1997).

Toyohara et al. (2015) compararam 3 métodos de extração de antioxidantes em farinha de folhas de mandioca (FFM): a) refluxo com metanol/água (50:50, v/v); b) maceração com etanol/água (50:50, v/v) seguido de refluxo com acetona/água (70:30, v/v); c) maceração com metanol PA. Os estudos mostraram que a extração usando o solvente metanol/água (50:50, v/v) foi a mais eficaz para a obtenção dos compostos fenólicos da farinha de folhas de mandioca, apresentando também a maior atividade antioxidante. Foram identificados os seguintes compostos fenólicos na FFM: catequina, ácido gálico, ácido clorogênico e galocatequina. Entre esses, a catequina foi a majoritária.

7.1.1 Influência do solvente

Devido a diversos fatores, não existe sistema de extração com solventes que seja satisfatório para o isolamento de todos ou de classe específica de antioxidantes naturais, o que se torna um problema, já que para cada extração é necessário utilizar um solvente compatível para tal operação.

Além disso, a estrutura química desses compostos é bem diversificada, variando os compostos e quantidades presentes nos vegetais (como os ácidos fenólicos, antocianinas e taninos). Há também a possibilidade de interação dos antioxidantes com carboidratos, proteínas e outros componentes dos vegetais, o que os torna mais ou menos disponíveis para extração. Desta forma, deve-se avaliar o melhor solvente para cada fonte e cada tipo de antioxidante que se deseja extrair, optando por escolher aquele que apresentar maior recuperação da maioria dos compostos de interesse.

Etanol e água são os solventes mais empregados para a extração de antioxidantes por razões de toxicidade e de abundância (ANDREO; JORGE, 2006). Outros solventes utilizados são o metanol, acetona, acetato de etila, clorofórmio, dentre outros (MOURE et al., 2001; TOYOHARA et al., 2015).

Toyohara et al. (2015) estudou a influência do solvente na extração de antioxidantes da mistura da casca e da polpa da fruta Saraguají, e também de suas sementes. Foram realizadas extrações com o emprego de solventes com diferentes polaridades: metanol/H₂O (80:20, v/v), metanol/H₂O acidificada pH 3 (80:20, v/v), etanol/H₂O (80:20, v/v) e acetato de etila. O solvente que proporcionou maiores atividades antioxidantes dos extratos, medidas pelos métodos ABTS, FRAP e DPPH, foi o etanol/H₂O, exceto para o extrato obtido com o solvente metanol/H₂O acidificada pH 3 a partir da mistura casca/polpa, em que a atividade antioxidante medida pelo método ABTS foi maior. Neste trabalho, a polaridade do solvente influenciou na quantidade de compostos extraídos, mostrando então a importância da escolha correta do solvente para extração dos compostos.

Azizah, Ruslawatti e Tee (1999) avaliaram a extração de antioxidantes de subprodutos de cacau (pó, grãos e cascas). Como solventes, os autores utilizaram o metanol, mistura de clorofórmio, éter e dicloroetano ou mistura de clorofórmio, metanol e dicloroetano para a extração. O melhor resultado foi o metanol para a extração dos compostos antioxidantes.

Para a extração em avelãs, Moure et al. (2001) obtiveram melhores resultados usando solvente com maior polaridade para a extração de polifenóis. As maiores atividades antioxidantes dos extratos, medidas pelo método DPPH, foram obtidas nas extrações com etanol ou água acidificada (pH 4,3), sendo menores na extração com acetato de etila e nula na extração com acetona.

Anagnostopoulou (2006) pesquisou sete tipos de extratos com cascas de laranja doce. Os extratos foram obtidos sucessivamente com tolueno, diclorometano e metanol de acordo com o aumento da polaridade do solvente. O extrato metanólico seco foi dissolvido em água aquecida e a solução com éter dietílico, acetato de etila e butanol. O extrato obtido com o acetato de etila resultou na maior capacidade antioxidante (método DPPH).

Sabe-se que a água extrai com eficiência os compostos fenólicos com atividade antioxidante devido à sua polaridade. Em estudo realizado com cogumelos “LingChih” (*Ganoderma tsugae*), o extrato metanólico apresentou maior atividade antioxidante, porém baixa concentração de compostos fenólicos (24,0 a 35,5 mg/g) (MAU et al., 2005a). Já no extrato aquoso, a concentração de fenólicos totais obtida foi de 40,86 a 42,34 mg/g (MAU et al., 2005b).

Um estudo realizado por Soares et al. (2008) teve como objetivo avaliar o conteúdo de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante *in vitro* de extratos e frações obtidos a partir do resíduo da maçã. As extrações foram realizadas com os seguintes solventes em soluções aquosas: etanol, metanol e acetona. O sistema acetona em água 75% (v/v) foi mais eficaz na extração de compostos fenólicos totais. Uma atividade antioxidante neste extrato foi de 4,83 e 25,46 μmol (capacidade antioxidante) TEAC.g⁻¹ de amostra com o método ABTS e de 7,43 e 39,15 μmol TEAC.g⁻¹ pelo método DPPH, expresso em base úmida e seca, respectivamente. O teor de flavanóides foi de 11,05 e 58,20 mg.100 g⁻¹ na base úmida e seca, respectivamente.

7.1.2 Influência do tempo

O tempo de extração deve ser levado em conta, pois é um fator que influencia consideravelmente a recuperação dos polifenóis. Esse tempo de extração pode variar de 1 minuto a 24 horas. Porém, longos períodos de extração aumentam a possibilidade de oxidação dos fenólicos exigindo que agentes redutores sejam adicionados ao solvente do sistema (SHAIDI; NACZK, 1995).

Em um estudo realizado por Lapornik, Prosek e Wondra (2005) com resíduos de frutas vermelhas, os extratos foram preparados com etanol, metanol e água e tempos de extração variando entre 1, 12 e 24 horas. Comparando-se os resultados, com o passar do tempo o conteúdo de polifenóis foi diminuindo no extrato aquoso com maior tempo de extração, enquanto nos extratos metanólicos e etanólicos houve acréscimo no conteúdo de fenólicos com o aumento do tempo.

Souza, Recart e Badiale-Furlong, (2009) verificaram que quanto maior o tempo de extração, maior a quantidade de fenólicos totais no extrato de cebola. Entretanto, foi verificado que houve interação de efeito negativo entre a agitação do sistema de extração e o tempo de extração. Na otimização, os autores chegaram ao valor ótimo de 2372 microgramas de fenólicos totais/g cebola em 120 min e agitação de 200 rpm, utilizando o metanol como solvente. Para a temperatura foram analisados rotação e tempo com e sem interrupções de agitação e utilizaram-se os pontos centrais para obtenção do ponto ótimo de extração dos compostos fenólicos. Foram feitos 11 ensaios variando o tempo de descanso de 0, 15 e 30 minutos, com rotação de 100, 150 e 200 rpm e tempos de experimento de 120, 150 e 180 minutos. Os resultados de compostos fenólicos variaram de 1556,6 μg de compostos fenólicos/ g de cebola para o tempo de 120 minutos com rpm de 100 e tempo de descanso de

zero, até 2134,3 µg de compostos fenólicos/ g de cebola para o tempo de 150 minutos com RPM de 150 e tempo de descanso de 15 minutos.

7.1.3 Influência da temperatura

Um dos maiores problemas relacionados à extração de compostos polifenólicos é a sua degradação, que sofre forte influência da temperatura. Tais compostos são afetados por degradação química e enzimática e pela volatilização dos compostos. Na decomposição térmica, os fenóis podem reagir com outros componentes e impedir sua extração (MOURE et al., 2001).

Os compostos bioativos são afetados de diferentes maneiras quando submetidos a altas temperaturas durante a extração. Com o aumento de temperatura há uma diminuição no conteúdo total de fenólicos, bem como de proantocianidina. Para extração do ácido carnósico presente no alecrim, por exemplo, é desejável que se utilize temperaturas mais baixas. Por essa razão usa-se a extração com fluido supercrítico que preserva a ação antioxidante dos extratos (IBÁÑEZ et al., 1999).

HERRERO et al. (2005), na extração dos compostos antioxidantes da microalga *Spirulina platensis*, utilizaram hexano, éter de petróleo, etanol e água para a extração, assim como temperaturas e tempos distintos. Altas temperaturas de extração apresentaram grande influência em todos os resultados, e a temperatura ideal para a extração foi de 170°C. Já a influência do tempo foi quase insignificante.

7.2 Extração supercrítica

A extração com fluido supercrítico consiste em uma forma de extração onde o solvente líquido usual é substituído pelo fluido supercrítico, que recebe esse nome por estar em condições de temperatura e pressão acima do ponto crítico. Assim, acima de certa temperatura e pressão representada pelo ponto crítico, os gases não mais podem ser liquefeitos e em função do aumento da densidade passam para o estado de supercrítico e podem então agir em parte como solventes (MEREGALLI, 1996).

Várias propriedades dos fluidos são alteradas no estado supercrítico, tornando-se parecidas com as de alguns gases e líquidos. A densidade do fluido supercrítico é similar a dos líquidos, sua viscosidade assemelha-se a dos gases e sua capacidade de difusão é intermediária entre os dois estados. Portanto, o estado supercrítico de fluidos pode ser

definido como o estado no qual líquido e gás são indistinguíveis entre si (HERRERO; CIFUENTES; IBANEZ, 2006).

Devido à sua baixa viscosidade e alta capacidade de difusão, os fluidos supercríticos apresentam propriedades de transporte melhores que os líquidos. Eles podem se difundir facilmente através de materiais sólidos e apresentam alta capacidade de solvatação (combinação de moléculas ou íons de uma substância dissolvida com moléculas do solvente), resultando em melhores rendimentos nas extrações. O dióxido de carbono (CO_2), o fluido mais utilizado devido a sua moderada temperatura (31,3 °C) e pressão crítica (72,9 atm), é gasoso em temperatura ambiente. Entretanto, o CO_2 supercrítico (pela baixa polaridade) é menos efetivo para a extração de compostos com maior polaridade em fontes naturais. Tal fato é superado com a adição de modificadores, também conhecidos como co-solventes, como o metanol e o etanol. O uso de co-solventes melhora o rendimento e a seletividade da extração (DEL VALLE; AGUILLERA, 1999; POKORNY; KORCZAK, 2001; RAVENTÓS; DUARTE; ALARCÓN, 2002).

A extração supercrítica tem interesse grande das indústrias alimentícias, cosméticas e farmacêuticas, pois substituem os processos de extração convencionais (como a extração com solventes orgânicos e a hidrodestilação) para obtenção de óleos essenciais. A extração supercrítica produz extratos livres de resíduos e pode ser conduzida em baixas temperaturas, preservando a qualidade de compostos termossensíveis (ZANCAN et al., 2002). Além disso, o processo é considerado limpo, pois não libera resíduos tóxicos de solventes no ambiente (HUI, 1996).

A grande desvantagem da extração supercrítica é a alta pressão necessária para operação, o que requer um equipamento excessivamente caro, elevando o custo do produto final. Porém, as vantagens desse processo como, por exemplo, a alta pureza dos extratos e a grande eficiência, podem torná-la viável para aplicação em alimentos (HERRERO; CIFUENTES; IBANEZ, 2006). A extração supercrítica apresenta grandes vantagens sobre os métodos mais convencionais como, por exemplo, o solvente é facilmente removido do soluto, utiliza pouco ou nenhum solvente orgânico, possibilita uma rápida extração, e opera a baixas temperaturas sendo muito importante se os produtos são voláteis e termolábeis.

Escobedo-Flores et al. (2018) utilizaram a extração supercrítica de CO_2 com etanol como o solvente e mostrou-se eficiente para a extração de polifenóis de aveia (*Sativa L*). Os conteúdos de polifenóis totais variaram de 0,410 a 1,250 mg de GAE / g de aveia, e a maior capacidade de absorção dos radicais oxigenados, determinada pelo método ORAC foi de 117,878 m mol TE / g de aveia. Os autores, utilizando a otimização pelo método do TPC

(conteúdo de fenólicos totais) obtiveram como resultado 1,040 mg GAE / g a 37,18 MPa e 55,76 °C, e para o método de ORAC foi encontrado um rendimento de 101,26 m mol TE / g a 40,11 MPa e 53,94 °C.

Ahmadian-Kouchaksarai e Niazmand (2017) utilizaram para a extração supercrítica de dióxido de carbono, por ser uma tecnologia verde, para a extração de compostos do açafrão. Os resultados mostraram que o melhor ponto de extração, ou seja, em condições otimizadas, alcançou o melhor conteúdo fenólico total (1423 mg / 100 g), teor total de flavonóides (180 mg / 100 g), total teor de antocianina (103,4 mg / 100 g), e obteve uma eliminação de radicais livres (74,5%) e valor férrico redutor / poder antioxidante (3,9 mM).

Gelmez et al. (2009) estudaram a otimização da extração supercrítica com dióxido de carbono de antioxidantes do germe de trigo torrado, utilizando das pressões de 148–602 bar, temperatura de 40–60°C e tempo 10–60min no antioxidante (fenólicos e tocoferóis. Os autores fizeram a otimização da extração e obtiveram, como melhor resultado, pressão de 336 bar, temperatura de 58°C e tempo de 10min, obtendo 5,3% de rendimento, 6 mg de fenóis de EAG / g de extrato, 6,7 mg de tocoferol / g de extrato e 57,3 mg(extraído)pelo método DPPH.

Huang et al. (2019) pesquisaram a extração de licopeno e do β -caroteno como oleorresina de tomate industrial e seu subproduto usando CO₂ como fluido supercrítico. Os estudos foram conduzidos a temperaturas de 50–80°C, pressões de 300–500 bar e vazões de 3-6 g de CO₂ por minutos durante 105 minutos de extração e a capacidade antioxidante do extrato foi avaliada pelo método DPPH. Os autores compararam os extratos com o antioxidante sintético BHT para que ocorresse a diminuição de 50% a concentração inicial do radical DPPH (IC 50) foi igual 11,09 μ g / mL e a do licopeno foi de 40,54 μ g / mL (com IC 50 de oleorresina igual a 1,94 mg / ml), porém quando utilizado valores de licopeno menores que 2,5 mg / ml o antioxidante sintético BHT era mais eficiente comparado ao antioxidante natural pelo método DPPH, caso a concentração do antioxidante natural fosse superior a 2,5 mg / ml, nesse caso, ele apresentava superioridade ao antioxidante sintético BHT pelo método DPPH.

8 APLICAÇÃO DE ANTIOXIDANTES NATURAIS EM ALIMENTOS

Na indústria de alimentos, os antioxidantes sintéticos ainda são predominantes, mas alguns estudos têm demonstrado que a utilização de antioxidantes naturais apresenta efeitos positivos e sugerem que a substituição pode ser viável (REVISTA FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009).

Para a seleção dos antioxidantes naturais, é desejável que ele seja eficaz em baixas concentrações, não promova efeitos indesejáveis na cor, no aroma, no sabor e em outras características dos alimentos, tenha compatibilidade com o alimento, seja de fácil aplicação, tenha estabilidade nas condições de processo e armazenamento e não sejam tóxicos (REVISTA FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009).

A grande maioria dos trabalhos encontrados na literatura de aplicação de antioxidantes naturais em alimentos é referente a produtos cárneos e óleos vegetais, que serão os alimentos abordados nesta revisão. Na Tabela 4 são apresentados os estudos de fontes de antioxidantes naturais e suas respectivas aplicações.

Tabela 5: Aplicação de antioxidantes naturais em alimentos

Fontes	Aplicação	Resultados	Referências
Ácido caféico, Extrato de gergelim, Ácido clorogênico, Ácido gálico e Ácido protocatequínico.	Óleo de girassol	Mais efetividade que BHA e BHT e menor que o TBHQ	(RAMALHO; JORGE, 2006)
Palmitato ascorbil e Extrato de alecrim	Óleo de canola	Mais efetividade que BHA e BHT e menor que o TBHQ	(RAMALHO; JORGE, 2006)
Ácido caféico	Óleo de oliva	Mais efetividade que BHA e BHT e menor que o TBHQ	(RAMALHO; JORGE, 2006)
Extratos de orégano, alecrim e gergelim	Para óleo de soja	Mais efetividade que BHA e BHT e menor que o TBHQ	(RAMALHO; JORGE, 2006)
Extrato de Alecrim e orégano	Hambúrguer de carne de tilápia	Preveniu a oxidação de lipídeos por 120 dias a uma temperatura de -18°C	(ROSSATO, 2010)
Hibisco	Óleo de soja	Favoreceu maior estabilidade oxidativa,	(HIROMOTO, 2018)

		menor formação de peróxidos e da p-anisidina que o α -tocoferol	
Extrato de raiz de aspargos	Filmes comestíveis com bioativo <i>Asparagus Racemosus</i> em linguças	Redução da oxidação lipídica (TBARS)	(NOOR et al., 2018)
Melão	Óleo de soja	Efeito antioxidante: BHT>extrato de melão >controle	(MALACRIDA; ANGELO; ANDREO, 2007)
Jiló	Óleo de soja	Redução de cerca de 43% de formação de peróxido em relação ao controle	(SILVA et al., 2017)
Sal de ervas (Alecrim, manjerição e orégano)	Peixe Dourado Assado	Favoreceu preservação de ácidos graxos insaturados e menor oxidação lipídica (TBARS)	(SANTOS, 2017)

Fonte: Próprio autor

Para alimentos contendo gordura animal, o ácido cafêico e o extrato metanólico de alecrim são os antioxidantes mais estudados, apresentando efeito superior ao BHT e BHA. Para os óleos vegetais, pesquisas indicam o TBHQ como mais efetivo, inclusive sob altas temperaturas, mas antioxidantes naturais demonstraram melhor efetividade que BHA e BHT, como por exemplo, os extratos de orégano, alecrim e gergelim para óleo de soja; extrato de gergelim, ácido clorogênico, ácido gálico, ácido protocatequínico e ácido cafêico, para óleo de girassol; palmitato ascorbil e extrato de alecrim para óleo de canola e ácido cafêico para óleo de oliva (RAMALHO; JORGE, 2006).

Rossato (2010) estudou a atividade antioxidante de orégano e alecrim em hambúrguer de carne de tilápia. Os resultados mostraram que o orégano foi mais efetivo na prevenção da oxidação e, em relação às formulações, aquela com 0,20% de orégano (massa de orégano por massa de carne de tilápia) teve a maior inibição da oxidação desde o início do tempo de armazenamento e manteve a estabilidade da cor por mais tempo que as formulações com 0,10 e 0,15% de orégano. Os hambúrgueres com 0,20% de orégano e 0,20% de alecrim revelaram a menor contagem psicotrófica aos 120 dias, mostrando também um possível efeito antimicrobiano (ROSSATO, 2010).

Hiromoto (2018) avaliou o efeito da adição de extrato etanólico do hibisco em óleo de soja, comparando-o com o antioxidante normalmente utilizado, o α -tocoferol. Foram feitas quatro preparações diferentes (óleo de soja sem aditivo; óleo de soja + 300 mg / kg de α -tocoferol), óleo de soja + 300 mg / kg de extrato de hibisco e óleo de soja + 300 mg / kg de α -tocoferol + 300 mg / kg de extrato de hibisco, que foram estocagem acelerada em estufa a 60° C por 12 dias. Dentre os tratamentos, aqueles com o extrato de hibisco ou com a mistura de extrato e α -tocoferol promoveram maior eficiência na inibição da formação de compostos primários e secundários da oxidação lipídica, determinados como índice de peróxidos e índice de p-anisidina. Além disso, ofereceram maior estabilidade oxidativa e maior retenção de tocoferóis totais (96%) na estocagem. E ao final da estocagem, o extrato também se mostrou eficaz na redução das alterações físico-químicas ocorridas no óleo de soja, superando o antioxidante α -tocoferol.

Noor et al. (2018) estudaram filmes comestíveis adicionados de antioxidantes para aplicação em carnes. O *Asparagus Racemosus* (Família: Liliaceae) é um arbusto encontrado em regiões tropicais e subtropicais, usado na medicina Ayurvédica, sendo chamada de rasayana. Os filmes comestíveis foram preparados incorporando diferentes

concentrações de *A. racemosus* à massa de filme (% m/m): 0,0%, 1,0% e 2,0% e depois foram utilizados para embalar linguças. Os resultados mostraram que *Asparagus Racemosus* pode ser utilizado como um novo ingrediente bioativo para o desenvolvimento de filmes comestíveis de alginato de cálcio à base de maltodextrina com propriedades antioxidantes e antimicrobianas para produtos à base de carne. Foram observados menores valores de peroxidação lipídica, avaliadas pelo método TBARS, de ácidos graxos livres e melhor qualidade microbiana dos produtos embalados com filmes adicionados de *A. racemosus*. Os resultados mostraram o potencial deste arbusto para melhorar a estabilidade oxidativa lipídica durante o armazenamento da linguça sem afetar suas características sensoriais.

O extrato de melão também foi avaliado como antioxidante em óleo de soja, palmitato ascorbil. As sementes foram desidratadas, trituradas e extraídas com etanol: água (95:5) e aplicado no óleo de soja em três diferentes concentrações (500; 750 e 1.000mg kg⁻¹). Para o controle foi utilizado o BHT (butil-hidroxitolueno) a 100 mg kg⁻¹ e óleo de soja refinado, isento de antioxidantes. As preparações foram submetidas ao teste acelerado da estufa a 60 °C por 20 dias. Todos os procedimentos retardaram a oxidação lipídica do óleo de soja, entretanto, os extratos naturais não atingiram a eficiência do BHT após 10 dias de aquecimento. As atividades antioxidantes dos diversos procedimentos testados neste estudo estão descritas a seguir: BHT>extrato de melão 1.000 mg kg⁻¹ = extrato de melão 750 mg kg⁻¹ >extrato de melão 500 mg kg⁻¹ >controle (MALACRIDA; ANGELO; ANDREO, 2007).

Outro antioxidante natural avaliado em óleo de soja foi o extrato metanólico de jiló. Foram preparados quatro sistemas: óleo de soja adicionado de extrato nas concentrações de 1000 e 3000 ppm, BHT a 1000 ppm e o óleo de soja isento de antioxidantes. Ao óleo que foi adicionado o antioxidante sintético BHT houve um retardo da formação de peróxidos em 60%, enquanto os extratos de jiló foram equivalentes, reduzindo em torno de 43%, nas concentrações testadas (SILVA et al., 2017).

A atividade antioxidante do extrato de orégano, bem como do eritorbato de sódio, foi avaliada de acordo com os métodos DPPH e FRAP e estes antioxidantes foram incluídos em linguças ovinas. O extrato de orégano mostrou capacidade antioxidante de 97,92 ± 0,02 g Trolox equivalente (TE)/ 100 g (base seca - BS) e 5529,75 ± 94,75 µmol TE / g (BS) pelos respectivos ensaios DPPH e FRAP. A adição do extrato de orégano em 6630,98 e 8038,20mg / kg em a fabricação de linguça cozida

apresentou menor quantidade de lipídios e proteínas auto-oxidação (valores TBARS e teor de carbonilas) em comparação com eritorbato de sódio a 500mg / kg em um período de armazenamento de até 135 dias (FERNANDES et al., 2018).

Santos (2017) utilizou o sal de ervas que foi construído de orégano (*Origanum Vulgaris* L.), alecrim (*Rosmarinus Officinalis* L.), manjerição (*Ocinum Basilicum* L.) e sal refinado, aplicando a mistura de ervas e sal no peixe Dourado (*Salminus Maxillosus*) assado, e assim avaliando a oxidação lipídica do mesmo pelo método de TBARS. Os resultados mostraram que as especiarias sozinhas apresentaram os seguintes valores: para o alecrim 128,19 mg de compostos fenólicos/g de ervas, para o manjerição 134,91 mg de compostos fenólicos/g de ervas, para o orégano 156,08 mg de compostos fenólicos/g de ervas e para a mistura de sal e ervas apresentou 164,95 mg de compostos fenólicos/g de mistura de ervas. Os testes de TBARS demonstraram uma menor oxidação ($p < 0,05$) no dourado assado com sal de ervas, em comparação com ao assado com sal refinado.

9 CONCLUSÃO

O surgimento de compostos indesejáveis provenientes das reações de oxidação é um problema recorrente na indústria de alimentos e que deve ser minimizado ou excluído a fim de se obter um prolongamento da vida útil dos alimentos. Além disso, a crescente preocupação das pessoas nos dias de hoje quanto à saúde e a busca por alimentos o mais naturais possíveis faz com que a utilização de antioxidantes sintéticos sejam rejeitados pelo consumidor, já que podem causar efeitos ao organismo não muito conhecidos. Assim, torna-se necessário a substituição dos atuais antioxidantes sintéticos pelos naturais. Uma alternativa natural interessante são os extratos de especiarias, frutas, legumes e verduras, como fonte de antioxidantes naturais. A adição desses extratos, de diferentes formas e tipos, pode evitar a deterioração oxidativa em vários sistemas, além de ser possível a comercialização como suplemento alimentício e farmacêutico.

Os estudos têm mostrado que muitos alimentos possuem compostos antioxidantes, e que na sua grande maioria podem ser utilizados em escala industrial a fim de suprir a necessidade das indústrias, principalmente a alimentícia. Um exemplo são os compostos antioxidantes presentes em frutas vermelhas como amora, uva, morango, que apresentaram quantidades interessantes e variedades destes compostos.

Os processos de extração de antioxidantes naturais são mecanismos complexos e envolvem variadas técnicas, como por exemplo, extração convencional por solventes

orgânicos e a extração supercrítica. O uso de solventes orgânicos pode ser eficiente em alguns casos, porém se torna um problema ambiental devido aos resíduos que são gerados durante o uso de substâncias tóxicas. Devem ser realizados controles rigorosos de fatores como a escolha da polaridade do solvente utilizado, o tempo e a temperatura de extração, pois se os mesmos não forem bem controlados pode ocorrer extração ineficiente, perda ou destruição dos compostos antioxidantes. Já a extração supercrítica propicia bom rendimento de extração e preserva as propriedades antioxidantes, e neste processo devem ser otimizadas a pressão e a temperatura. Por outro lado, o método tem um custo operacional muito alto o que dificulta sua aplicação industrial. Assim, novos estudos nesta área devem ser realizados com a finalidade de minimizar os custos, tornando assim um método mais eficaz para produção em grande escala.

Os estudos mostraram que a substituição dos antioxidantes sintéticos pelos naturais apresenta resultados satisfatórios, porém, em alguns dos casos os antioxidantes sintéticos ainda apresentaram resultados melhores que os naturais. Neste último caso, devem ser adotadas medidas que busquem associar os antioxidantes naturais com os sintéticos quando não for possível a substituição total do sintético pelo natural, desta forma reduzindo a concentração dos sintéticos presentes nos alimentos.

Ainda, devem ser tomadas medidas para melhoramento da obtenção e aplicação dos antioxidantes naturais. Apesar da quantidade de estudos na área, não há uma padronização para preparação de amostra, extração e aplicação nos alimentos. Essa padronização facilitaria a comparação dos resultados dos compostos antioxidantes obtidos e seria mais fácil definir qual apresentou melhores resultados e assim aplicar em escala industrial.

REFERÊNCIAS

AHMADIAN, Z. K.; NIAZMAND, R. Supercritical carbon dioxide extraction of antioxidants from *Crocus sativus* petals of saffron industry residues: Optimization using response surface methodology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 121, p. 19–31, mar. 2017.

ALVES, H. V.; PACHECO, F. L.; REIS, N. C. Análise Físico-Química E Antioxidante De Manjerição (*Ocimum basilicum* L.) ORGÂNICO. **REINPEC**, v. 3, n. 2, p. 85–97, 20 dez. 2017.

ANAGNOSTOPOULOU, M. A. Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). **Food Chemistry**, London, v. 94, n.1, p. 19-25, 2006.

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes Naturais: Técnicas De Extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 24, n. 2, 31 dez. 2006.

ARAÚJO, J. Características dos Antioxidantes Primários. *In*: ARAÚJO, Júlio. **Química de Alimentos**. Viçosa-MG: UFV, 2015.

ARBOS, K. A. et al. Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 501–506, jun. 2010.

AZIZAH, A. H.; RUSLAWATTI, N, M.; TEE, T. S. Extraction and characterization of antioxidant from cocoa by-products. **Food Chemistry**, London, v. 64, n.2, p. 199-202, 1999.

BRASIL, ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação Brasileira para Antioxidantes. **Brasil, 2019**.

CATARINA F. Atividade antioxidante do alho (*Allium sativum L.*) quando submetido a diferentes processos tecnológicos. p. 59, 2018.

Centro de Pesquisa em Alimentos e da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. **FAPESP**. São Paulo: FoRC – Food Research Center. Disponível em: <http://www.usp.br/forc/pesquisa.php>. Acesso em: 2 de Dezembro de 2019.

COPPEN, P.P. "The biochemical genetics of lipoxygenase". *In*: Applewhite, T.H (ed) Proceedings of the world congress.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.; FENNEMA, O. **Química de Alimentos de Fennema**. Porto Alegre-RS: Artmed, 2008.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 389–399, 2012.

DEL VALLE, J. M.; AGUILLERA, J. M. Review: high pressure CO₂ extraction. Fundamentals and applications in the food industry. **Food Science and Technology International**, London, v.5, p. 1-24, 1999.

ESCOBEDO, F. Y. et al. Optimization of supercritical fluid extraction of polyphenols from oats (*Avena sativa L.*) and their antioxidant activities. **Journal of Cereal Science**, v. 80, p. 198–204, mar. 2018.

ESKIN, M.; SHAHIDI, F. **Bioquímica de Alimentos**. Rio de Janeiro-RJ: Elsevier, 2013.

FALOWO, A. B.; MUKUMBO, F. E.; IDAMOKORO, E. M.; LORENZO, J. M.; AFOLAYAN, A. J.; MUCHENJE, V. **Multi-functional application of *Moringa oleifera Lam.* in nutrition and animal food products: A review**. 2017. 17 p. Tese de doutorado (Faculty of Science and Agriculture, University of Fort Hare, Alice 5700, South Africa) - Department of Livestock and Pasture Science, África do Sul, 2017.

FERNANDES, R. P. P. et al. Assessment of the stability of sheep sausages with the addition of different concentrations of *Origanum vulgare* extract during storage. **Meat Science**, v. 137, p. 244–257, mar. 2018.

FERREIRA, C. **Atividade antioxidante do alho (*Allium sativum* L.) quando submetido a diferentes processos tecnológicos**. 2018. 59 f. Mestrado (Mestre em Ciências Farmacêuticas.) - Universidade Fernando Pessoa, Poro-PI, 2018.

FURTADO, F. D.; MARTINS, T. J.; BORTOLINI, V. M. S. Capacidade antioxidante da *Salvia hispanica* L. p. 4, 2018.

GÁMEZ-MEZA, N. et al. Antioxidant activity in soybean oil of extracts from Thompsons grape bagasse. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v.76, n. 12, p. 1445-1447, 1999.

GAVA, A.; SILVA, C.; FRIAS, J. 5.3-Antioxidantes. In: GAVA, Altanir; SILVA, Carlos; FRIAS, Jenifer. **Tecnologia de Alimentos**. São Paulo-SP: Nobel, 2009.

GELMEZ, N.; KINCAL, N. S.; YENER, M. E. Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of antioxidants from roasted wheat germ based on yield, total phenolic and tocopherol contents, and antioxidant activities of the extracts. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 48, n. 3, p. 217–224, abr. 2009.

GIADA, Maria de Lourdes Reis. **Avaliação da capacidade antioxidante dos compostos fenólicos do cotilédono da semente de girassol (*Helianthus annuus* L.) rajada**. 2006. 233 f. Tese de doutorado (Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Nutrição Experimental) - Universidade do Estado de São Paulo, São Paulo, 2006. DOI 10.11606/T.9.2017.tde-22082017-093259. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9132/tde-22082017-093259/pt-br.php>. Acesso em: 13 dez. 2019.

GORDON, M. H. **The mechanism of antioxidant action in vitro**. In: HUDSON, B. J. F. Food antioxidants. London: Elsevier.

HAMILTON, R. J. **The chemistry of rancidity in foods**. In: HAMILTON, R. J.; ALLEN, J. C. Rancidity in foods. 3th ed. London: Blackie Academic & Professional, 1994. p. 1-21.

HERRERO, M, et al. Optimization of accelerated solvent extraction of antioxidants from *Spirulina platensis* microalga. **Food Chemistry**, London, v.93, n.3, p. 417-423, 2005.

HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBANEZ, E. Sub and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food-by-products, algae and microalgae: a review. **Food Chemistry**, London, v.98, n.1, p. 136-148, 2006.

HIROMOTO, P. J. **Extrato de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) como antioxidante natural aplicado em óleo de soja**. p. 31, 2018.

HUANG, Z. et al. Benign recovery of carotenoids from *Physalis alkekengi* L.var. *francheti* through supercritical CO₂ extraction: Yield, antioxidant activity and economic evaluation. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 36, p. 9–17, fev. 2019.

HUI, Y. H. **Bailey's industrial oil & fat products**. 5th ed. New York: John Willey & Sons, 1996. v.3.

IBÁÑEZ, E. et al. Supercritical fluid extraction and fractionation of different preprocessed rosemary plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.47, n.4, p. 1400-1400, 1999.

INSTITUTE OF AGROINDUSTRIES, Technological University Of The Mixteca, Mexico et al. Natural antioxidant extracts as food preservatives. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, v. 16, n. 4, p. 361–370, 30 dez. 2017.

JIN, J. E.; AHN, C. B.; JE, J. Y. Purification and characterization of antioxidant peptides from enzymatically hydrolyzed ark shell (*Scapharca subcrenata*). **Process Biochemistry**, v. 72, p. 170–176, set. 2018.

JULKUNEM-TIITO, R. Phenolic constituents in the leaves of northern willows, methods for the analysis of certain phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.33, n.2, p. 213-217, 1985.

JUNTACHOTE, T.; BERGHOFER, E. Antioxidant properties and stability of ethanolic extracts of holy basil and Galangal. **Food Chemistry**, London, v.92, n.2, p. 193-202, 2005.

KEHILI, M. et al. Supercritical CO₂ extraction and antioxidant activity of lycopene and β -carotene-enriched oleoresin from tomato (*Lycopersicum esculentum* L.) peels by-product of a Tunisian industry. **Food and Bioproducts Processing**, v. 102, p. 340–349, mar. 2017.

KOBLITZ, M. Oxidorredutases. In: KOBLITZ, Maria. **Bioquímica de Alimentos**. Rio de Janeiro-RJ: Guanabara koogan, 2008.

LAPORNIK, B.; PROSEK, M.; WONDRA, A. G. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 71, n.2, p. 214-222, 2005.

LORENZO, J. M. et al. Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. **Food Research International**, v. 106, p. 1095–1104, abr. 2018.

MALACRIDA, C. R.; ANGELO, P. M.; ANDREO, D. Composição química e potencial antioxidante de extratos de sementes de melão amarelo em óleo de soja. **Rev. Ciênc. Agron.**, p. 5, 2007.

MANGANARIS, G. A. et al. Berry antioxidants: small fruits providing large benefits: Berry antioxidants: small fruits providing large benefits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 5, p. 825–833, 30 mar. 2014.

MARINOVA, E. M.; YANISHLIEVA, N. V. I. Antioxidant activity of extracts from selected species of the family *Lamiaceae* in sunflower oil. **Food Chemistry**, London, v. 58, n.3, p.245- 248, 1997.

MAU, J. L.; TSAI, S. Y.; TSENG, Y. H.; HUANG, S. J. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma tsugae*. **Food Chemistry**, London, v. 93, n. 4, p. 641-649, 2005a.

MAU, J. L.; TSAI, S. Y.; TSENG, Y. H.; HUANG, S. J. Antioxidant properties of hot water extracts from *Ganoderma tsugae* Murrill. **LWT – Food Science and Technology**, London, v.38, n. 6, p. 589-597, 2005b.

MEREGALLI, M. M. Estudo comparativo de diferentes métodos de extração de compostos bioativos da casca do araçá. p. 76, 2017.

MORAIS, S. M. et al. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1b, p. 315–320, mar. 2009.

MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, London, v. 72, n.2, p. 145-171, 2001.

NEMÉNYI, A. et al. Total antioxidant capacity and total phenolics content of *phyllostachys* taxa shoots. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici**, 43(1), 64-69, 2015.

NIRMALA, C. et al. Bamboo: A rich source of natural antioxidants and its applications in the food and pharmaceutical industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 77, p. 91–99, jul. 2018.

NOOR, S. et al. Preservative effect of *Asparagus racemosus*: A novel additive for bioactive edible films for improved lipid oxidative stability and storage quality of meat products. **Meat Science**, v. 139, p. 207–212, maio 2018.

NORMA, F. S. S. et al. Natural antioxidant extracts as food preservatives. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, v. 16, n. 4, p. 361–370, 30 dez. 2017.

OETTERER, M.; DÁRCE, M.; SPOTO, M. Antioxidantes. In: OETTERER, Marília ; DÁRCE, Marisa; SPOTO, Marta. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri-SP: Manole, 2006.

ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 33-49.

PARK, E. J., JHON, D. Y. The antioxidant, angiotensin converting enzyme inhibition activity, and phenolic compounds of bamboo shoot extracts. **Food Science and Technology**, 43(4), 655-659, 2010.

PESSOA, J.; VALQUIRIA, C. S. F. **Oxidação Lipídica E Proteica De Um Produto Emulsionado Tipo Hambúrguer De Frango**. p. 143, 2016.

POKORNY, J.; KORCZAK, J. Preparation of Natural antioxidants. In: POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. **Antioxidants in food: practical applications**. New York: CRC Press, p. 211-330, 2001.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, jul. 2006.

RAVENTÓS, M.; DUARTE, S.; ALARCÓN, R. Application and possibilities of supercritical CO₂ extraction in food processing industry: an overview. **Food Science and Technology International**, London, v.8. n.5, p. 269-284, 2002.

REN Z. Z., JIANG S. Z., ZENG Q. F., DING X. M., BAI S. P., WANG J. P., LUO Y. H., SU Z. W., XUAN Y., ZHANG K. Y. Effects of dietary canthaxanthin and 25-hydroxycholecalciferol supplementation on the antioxidant status and tibia quality of duck breeders and newly hatched ducklings. **Institute of Animal Nutrition, Key Laboratory for Animal Disease-Resistance Nutrition of China**, China, 2015.

RICHHEIMER, S. L. et al. Antioxidant activity of lipid-soluble phenolic diterpenes from rosemary. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 73, n. 4, p. 507–514, abr. 1996.

ROESLER, R. et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 53–60, mar. 2007.

ROSSATO, A. S. Uso de antioxidantes naturais em hambúrgueres preparados com carne mecanicamente separada de tilápia. p. 11, 2010. FALTOU A REVISTA

SANTOS, A. G. A. Capacidade antioxidantes do sal de ervas no perfil lipídico e aceitabilidade do peixe assado. **Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas**. Alagoas- Maceió, 2017.

SCHIOZER, A. L.; BARATA, L. E. S.; Estabilidade de Corantes e Pigmentos de Origem Vegetal. Disponível em <https://www.revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revistafitos/article/download/71/70> Acesso em agosto de 2018.

SHAIJI, F.; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. **Lancaster: Technomic Publishing**, 1995. P. 281-319.

SHERWIN, E.R. "Synthetic antioxidants for fats and oils". In: Min, D.B & SMOUSE, T.H (eds.) **Flavor chemistry of fats and oils**. Champaigns AOCS, 1985, p.155-74.

SILVA, C. F. G. et al. Optimization of the Extraction Process of Phenolic Antioxidant Compounds of Jelly (*Solanum gilo Radi*) and Application in the Oxidative Stability of Soybean Oil. **Revista Virtual de Química**, p. 729–739, 2017.

SILVA, E. Y. Y.; MORETTI, C. L.; MATTOS, L. M. Compostos funcionais presentes em bulbilhos de alhos armazenados sob refrigeração, provenientes de cultivos no Brasil e na China. **Ciência Rural**, v. 40, n. 12, p. 2580–2587, dez. 2010.

SILVA, J. B. et al. Quantificação de fenóis, flavonoides totais e atividades farmacológicas de geoprópolis de *Plebeia aff. Flavocincta* do Rio Grande do Norte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 9, p. 874–880, set. 2016.

SOARES, M. et al. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 727–732, set. 2008.

SOUZA, M. M.; RECARTE, V. M.; BADIALE-FURLONG, E. Study on the extracting conditions of phenolic compounds from onion (*Allium cepa* L.). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, p. 9, 2009.

TIVERON, A. P. **Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil**. Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos-Piracicaba: Universidade de São Paulo, 13 out. 2010.

TOYOHARA, M. O. et al. Otimização de métodos de extração de antioxidantes em frutas. p. 4, 2015).

ZANCAN, K. C.; MARQUES, M. O. M.; PETENATE, A. J.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) oleoresin with CO₂ and co-solvents: a study of the antioxidant action of the extracts. **The Journal of Supercritical Fluids**, New York, v. 24, n.1, p. 57-76, 2002.