



FACULDADE DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA EM ENGENHARIA QUÍMICA

Trabalho de Licenciatura

**Tema: Avaliação dos Compostos Bioactivos e da Actividade
Antioxidante do Caju (*Anacardium occidentale L.*)**

Autor:

Mate, Albino Virgílio

Supervisora: Prof^a. Doutora Eng^a. Isabel Guiamba

Co-Supervisora: Eng^a. Asmina Sulemane

Maputo, Agosto 2022

UNIVERSIDADE EDUARDO MODLANE
FACULDADE DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA EM ENGENHARIA QUÍMICA

Trabalho de Licenciatura

**Tema: Avaliação dos Compostos Bioactivos e da Actividade
Antioxidante do Caju (*Anacardium occidentale L.*)**

Autor:

Mate, Albino Virgílio

Supervisora:

Prof^a. Doutora Eng^a. Isabel Guiamba

Co-Supervisora:

Eng^a. Asmina Sulemane

Maputo, Agosto de 2022



FACULDADE DE ENGENHARIA

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

CURSO DE LICENCIATURA EM ENGENHARIA QUÍMICA

TERMO DE ENTREGA DE RELATÓRIO DO TRABALHO DE LICENCIATURA

Declaro que o estudante Albino Virgílio Mate entregou no dia ___/___/20___ as 5 cópias do relatório do seu Trabalho de Licenciatura intitulado: **Caracterização Físico-Química, Avaliação do Conteúdo de Compostos Fenólicos e da Actividade Antioxidante Presentes no Caju (*Anacardium occidentale L.*)**.

Maputo, ___ de _____ de 2022

O Chefe de Secretaria

Declaração de Honra

Declaro, sob a minha palavra de honra, que o presente Trabalho de Licenciatura foi realizado por mim, com base nos recursos disponíveis que ao longo do mesmo se faz referência.

Maputo, ____ de _____ de 2022

O autor

(Albino Virgílio Mate)

Dedicatória

Aos meus pais,

Virgílio Albino Mate & Artimisa Rubão Ngonhama

(in memoriam),

e

Ao meu tio,

Flávio Albino Mate

por tudo que eles representam na minha vida

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor meu Deus e Pai, aquele que Era, que É e que sempre Será, meus agradecimentos pelo dom da vida e pela saúde que me concede a cada novo amanhecer. Agradeço por me dar forças para concluir uma das etapas mais importantes da minha vida e por colocar pessoas especiais em meu caminho.

Agradeço a minha professora e supervisora, Prof^a. Doutora Eng^a. Isabel Guiamba e a minha co-supervisora Eng^a. Asmina Sulemane, pela orientação e experiência transmitida na elaboração deste trabalho.

Aos professores Maida Khan, Estevão Pondja, Borges Chambal, Maria Eduardo, Karina Motani, Afonso Macheca, António Cumbane, Alberto Tsamba, Clemêncio Nhantumbo, Miguel Uamusse, João Venâncio, Carlos Lucas, Louis Pelembe, Daniel Fumo, José da Cruz, Claudia Cardoso agradeço pelo ensino, dedicação e paciência na realização do curso.

Agradeço aos meus pais Virgílio Albino Mate e Artimisa Rubão Ngonhama (em memória) por me terem nascido e me trazido a existência.

Ao meu tio Flávio Albino Mate, a sua esposa Uília Raúl Inguane e a minha tia Irene Albino Mate, por terem sempre estado presentes na minha vida e em toda essa minha jornada, sem vocês na minha vida, eu nunca teria chegado aqui, e nem sonhado. Muito obrigado pelo vosso amor incondicional por mim, não existem palavras para descrever o impacto, influência e contributo de vocês para este efeito.

À minha tia Lúcia Piedade Mate Joaquim, ao seu esposo, Rui Fernando Joaquim e família, agradeço pelo acolhimento, apoio, pela paciência em momentos difíceis e por nunca terem desistido de mim. Não existem palavras para descrever a minha profunda gratidão por tudo que fizeram por mim nesses últimos 8 anos.

Agradeço aos meus pastores, Orlando Cavele e Rute Samuel, e a tia Sybil Baloi, pelas orações, apoio moral e espiritual, e por sempre se preocuparem com a minha pessoa interior.

Aos meus “*mazas*”, colegas, primos, entre outros familiares, amigos, irmãos na fé, e a todos que fizeram (e fazem) parte da minha vida, agradeço pelo vosso (in)directo e discreto apoio.

RESUMO

O estudo de compostos bioactivos e antioxidantes vem ganhando relevância no campo científico, visto que esses são, muitas vezes, relacionados com a prevenção de algumas doenças cardiovasculares e cancerígenas. Esses compostos são encontrados em grande quantidade em hortaliças e frutas, dos quais faz parte o caju. O caju é uma das frutas mais importantes de Moçambique, com múltiplos benefícios na economia familiar rural e na economia nacional, principalmente devido a comercialização da castanha de caju. O pedúnculo pode ser para consumo *in natura* ou processado como matéria-prima para sucos, doces, refrigerantes, entre outros subprodutos. Porém, visando ao aspecto qualidade do produto, para obtenção de valor mais alto de mercado, é importante estudar a caracterização físico-química do pedúnculo do cajueiro, seus compostos bioativos e atividade antioxidante, para garantir o conhecimento mais amplo do fruto, como em relação aos seus teores de açúcar na polpa, a acidez, a adstringência, a coloração, o formato, o peso e os seus componentes nutricionais e funcionais. Com este trabalho pretendeu-se determinar as características físico-químicas, como a massa, volume, densidade, humidade, actividade de água, acidez, vitamina C, a cor, e os sólidos solúveis totais; os compostos bioactivos como os flavonóides amarelos, antocianinas, carotenóides, taninos e compostos fenólicos totais de caju (*Anacardium occidentale L.*) e por fim avaliar a sua capacidade antioxidante. Os flavonóides amarelos, juntamente com as antocianinas totais, foram determinados pelo método de Etanol-HCl, e neste caso obteve-se 92.83 mg/100g para flavonóides e 43.65 mg/100g para antocianinas. Os carotenóides totais foram determinados usando a mistura de solventes: álcool isopropílico-hexano (3:1 v/v), tendo-se encontrado um valor de 8.14 mg/100g, e os taninos foram determinados pelo método de Vanilina/HCl, e neste caso obteve-se um valor de 292.21 mg/ 100g. Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, um dos métodos mais usados para a determinação de CFT, e obteve-se o valor de 1339.06 mg/100g. A actividade antioxidante foi determinada pelos métodos ABTS e DPPH que são os métodos mais comuns da actualidade para a determinação desta propriedade nos alimentos, obtendo-se valores de 756.92 e 562.44 µM Trolox/100g respectivamente.

Palavras-chave: Caju (*Anacardium occidentale L.*), Compostos Bioactivos, Actividade Antioxidante

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	ii
RESUMO	iii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Justificativa.....	2
1.2. Objectivos.....	3
1.3. Metodologia.....	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Cajueiro (<i>Anacardium occidentale</i> L.).....	4
2.2. Caju.....	5
2.3. Castanha de caju	7
2.4. Pedúnculo de caju.....	7
2.5. Propriedades físico-químicas	8
2.5.1. Cor.....	9
2.5.2. Humidade e actividade da água	10
2.5.3. Acidez.....	10
2.6. Compostos Bioactivos	11
2.6.1. Compostos Fenólicos	11
2.6.2. Flavonóides	12
2.6.3. Antocianinas.....	14
2.6.4. Carotenóides	15
2.6.5. Taninos.....	17
2.6.5.1. Taninos hidrossolúveis.....	17
2.6.5.2. Taninos Condensados.....	18
2.7. Actividade Antioxidante	19
3. PARTE EXPERIMENTAL	24
3.1.1. Matéria-prima.....	24

3.1.2.	Etapas do processo experimental.....	25
3.1.3.	Preparação da matéria-prima	26
3.1.4.	Determinação das características físico-químicas do caju	26
3.1.5.	Secagem do Caju no Liofilizador	30
3.1.6.	Quantificação dos Flavonóides Amarelos e das Antocianinas.....	31
3.1.7.	Quantificação dos Carotenóides Totais	32
3.1.8.	Quantificação dos Taninos Totais.....	33
3.1.9.	Quantificação dos Compostos Fenólicos Totais	33
3.1.10.	Determinação da Capacidade Antioxidante Total (AAT)	34
4.	ANÁLISE E DISCUSSÃO DE RESULTADOS	37
4.1.	Caracterização física de Caju.....	37
4.2.	Características físico-químicas de Caju.....	40
4.3.	Compostos Fenólicos e Actividade Antioxidante Total	43
5.	CONCLUSÕES.....	48
6.	RECOMENDAÇÕES	49
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

APÊNDICES

APÊNDICE 1:	Resultados das propriedades físicas de caju.....	A.1-1
APÊNDICE 2:	Resultados das propriedades físico-químicas de caju	A.2-1
APÊNDICE 3:	Resultados das propriedades Bioactivas	A.3-1
APÊNDICE 4:	Resultados das propriedades Antioxidantes.....	A.4-1
APÊNDICE 5:	Determinação de compostos fenólicos totais e dos taninos	A.5-1
APÊNDICE 6:	Determinação de actividade antioxidante total pelo DPPH.....	A.6-1
APÊNDICE 7:	Determinação de actividade antioxidante total ABTS	A.7-1

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AAT – Actividade antioxidante total

Ab_{Samostra} – Absorvância da solução após a reacção

Ab_{Strabalho} – Absorvância da solução de trabalho do radical

ABTS – Ácido 2,2-azino-bis (3etilbenzotiazoline-6-sulfónico)

AG – Ácido gálico

AOxH – Actividade antioxidante hidrofílica

AOxL – Actividade antioxidante lipofílica

AT – Acidez titulável

CFT – Compostos fenólicos totais

CIELAB. – International Commission on Illumination L*a*b* (coordenadas da cor)

CUPRAC – Potencial antioxidante de redução do ião férrico

DEQUI – Departamento de Engenharia Química

DPPH – 2,2-difenil-1-picril-hidrazina

DPPH● – 2,2-difenil-1-picril-hidrazila

EAG – Equivalente de ácido gálico

FRAP – Potencial antioxidante de redução do ião férrico

LCC – Líquido da castanha de caju

ORAC – Capacidade de absorção de radical oxigénio

TE – Equivalente trolox

TEAC – Actividade antioxidante equivalente de Trolox “*Trolox Equivalent Antioxidant Activity*”.

TOSC – *Total oxidant scavenging capacity*

Trolox – 6 – *hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mapa de distribuição de caju em Moçambique.	5
Figura 2: <i>Anacardium occidentale</i> L. (Caju), com pedúnculo (pseudofruto), e castanha (verdadeiro fruto).....	6
Figura 3: Sistema de coordenadas de cores CIELAB..	10
Figura 4: Esquema básico dos flavonóides.....	13
Figura 5: Estrutura molecular de fenil-2 benzopirílio ou flavílio a) e antocianinas b) 14	
Figura 6: Representação de alguns carotenóides encontrados nos vegetais.	16
Figura 7: Estrutura de taninos hidrossolúveis.	18
Figura 8: Estrutura de taninos condensados (em destaque uma unidade de catequina).	19
Figura 9: Estabilização do radical livre DPPH.	22
Figura 10: Diagrama de Processo.....	25
Figura 11: Selecção da matéria-prima.	26
Figura 12: Dimensões de caju	27
Figura 13: Secagem das amostras de caju na estufa para a determinação da humidade: (a) Estufa e (b) parte interior da estufa com as amostras de caju..	28
Figura 14: Aqualab para medição da actividade de água.	29
Figura 15: (a) Congelamento da matéria-prima no congelador e (b) secagem no liofilizador..	31
Figura 16: (a) Funil de separação das fases e (b) fases separadas	32
Figura 17: Determinação da AAT (a) e Espectofotómetro (b)	36
Figura 18: Rendimento do caju.	39
Figura 19: Cor do caju na escala CIELab, para fora e para o interior de caju.....	42
Figura 20: Comparação entre os métodos DPPH e ABTS.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características físicas e químicas do caju.	8
Tabela 2: Principais classes e fontes de flavonóides.	13
Tabela 3: Antocianidinas mais comuns que ocorrem naturalmente, com a posição de substituição e a cor produzida.....	15
Tabela 4: Lista de materiais e equipamentos.	24
Tabela 5: Valores médios das características físicas do caju.	37
Tabela 6: Características físico-químicas do caju fresco.	40
Tabela 7: Resultados dos compostos bioactivos e actividade antioxidante total.	43

1. INTRODUÇÃO

Estudos evidenciam que o consumo regular de frutas, legumes e verduras reduzem o risco de doenças inflamatórias, cardiovasculares e alguns tipos de câncer. Sugere-se que essa associação se deve à abundância de substâncias antioxidantes encontradas nesses alimentos. Como consequência, o consumo de alimentos ricos em antioxidantes está aumentando cada vez mais. Vegetais, frutas e outras matrizes das plantas são algumas das mais importantes fontes de antioxidantes naturais (Ussevane, 2014).

A vitamina C tem papel relevante na saúde humana, pois está envolvida na formação de tecido conjuntivo, produção de hormonas e anticorpos, e protecção antioxidante do organismo. Outras substâncias bioactivas, como os compostos fenólicos e os carotenóides, também apresentam actividade antioxidante, podendo proteger o organismo contra os danos oxidativos e, conseqüentemente, prevenir o surgimento de diversas doenças cancerígenas e cardiovasculares. Mais de 90% do aporte dessas substâncias é proveniente das frutas, legumes e verduras (Alvez et al., 2013).

O cajueiro é uma das árvores fruteiras mais importantes do país, existindo em quase todas as regiões de Moçambique. O fruto de cajueiro é popularmente conhecido como caju, que é um conjunto entre a castanha que é o verdadeiro fruto e o pedúnculo, a parte carnosa do caju, que é um pseudofruto (Quirino, 2019). De entre esses dois, a castanha de caju é o produto com mais interesse no mercado, tanto no mercado nacional assim como no internacional, devido ao seu valor altamente nutritivo (Marques, 2006).

O pseudofruto do caju apresenta um alto valor nutritivo, sendo riquíssimo em vitamina C, açúcares, minerais (cálcio, ferro e fósforo), compostos fenólicos (taninos, carotenóides e antocianinas) e pigmentos naturais que dão ao caju a sua coloração amarelada ou vermelha alaranjada presentes em sua película (Quirino, 2019). A realização desta pesquisa tem como objectivos a caracterização de caju (pedúnculo de caju) e a avaliação da capacidade antioxidante total e do conteúdo de compostos fenólicos presentes no caju.

1.1. Justificativa

Segundo Filho (2016), a caracterização das frutas pode fornecer importante informação de modo a permitir diferenciar espécies do mesmo género, expondo suas condições de peso, largura, comprimento, diâmetro e volume, consolidando-se uma ferramenta para a classificação das frutas. Assim, o conhecimento das propriedades das frutas torna-se uma ferramenta de extrema importância para o dimensionamento de equipamentos para as principais operações industriais das frutas. Deste modo, a realização deste trabalho, torna-se essencial visto que contribuirá para o conhecimento das propriedades das frutas mais importantes de Moçambique, o caju, através do estudo das suas características físicas e químicas, e das suas propriedades antioxidantes.

O caju apresenta um alto valor nutritivo: rico em vitamina C, açúcares, minerais, fibras e compostos fenólicos. Portanto, o presente trabalho também permitirá, em termos quantitativos, o conhecimento da contribuição do caju na saúde humana, visto que um dos objectivos dessa pesquisa é determinar quantitativamente os compostos fenólicos totais, flavonóides, antocianinas, carotenóides e taninos totais presentes no caju, sendo esses de grande importância na esta área, pois exercem várias funções biológicas, tais como: actividade antioxidante, modulação enzimática, desintoxicação, estimulação do sistema imune, actividade antibacteriana e antiviral, entre outras.

1.2. Objectivos

O presente trabalho tem como objectivos:

1.2.1. Objectivo Geral

- Avaliar o conteúdo dos compostos bioactivos e a actividade antioxidante de caju.

1.2.2. Objectivos Específicos

- Determinar as características físicas e químicas do caju;
- Quantificar o conteúdo dos flavonóides amarelos, antocianinas totais, taninos e dos carotenóides totais presentes no caju;
- Avaliar o conteúdo total de compostos fenólicos presentes no caju;
- Determinar a capacidade antioxidante do caju pelos métodos de DPPH e ABTS.

1.3. Metodologia

Com vista a alcançar os objectivos propostos, a realização do trabalho obedeceu as seguintes fases:

- I.** Revisão bibliográfica (baseada na análise de livros, artigos científicos, monografias, entre outros);
- II.** Experiências em laboratório;
- III.** Elaboração do relatório com base na análise, discussão e interpretação dos resultados obtidos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Cajueiro (*Anacardium occidentale L.*)

O cajueiro *Anacardium occidentale L.* pertencente à família *Anacardiaceae*, é uma planta nativa da América do Sul e das regiões tropicais do planeta. Espalhou-se para outros países, como Moçambique, Índia, Angola e Quênia, desde o século XVI. É uma árvore de aparência exótica, de troncos tortos, folhas glabras, flores masculinas e hermafroditas e fruto reniforme. O cajueiro é classificado em dois tipos, o comum que também é conhecido como gigante e o anão-precoce (Filho et al., 2016; Quirino, 2019).

A grande utilização dos principais produtos de cajueiro são o fruto (castanha) e o pseudofruto (parte suculenta do fruto). Em geral, o pedúnculo do caju é consumido *in natura*, na forma de sucos, refrigerantes e na forma processada como bebidas alcoólicas e doces. A castanha de caju é usada para a produção de amêndoas e do líquido da castanha de caju (LCC) (Carneiro, 2013; Quirino, 2019).

Desde o tempo colonial, o cajueiro foi a principal fruteira em Moçambique (Cunguara, 2011). O sector do caju em Moçambique tem uma importância estratégica para o desenvolvimento económico do país. A produção de caju gera renda para mais de um milhão de famílias rurais, podendo representar até 70% da receita monetária para essas famílias (Frei et al., 2012). A figura 1 ilustra como o cajueiro está distribuído ao longo das províncias moçambicanas, dando a perceber a grande importância desta fruteira no país.

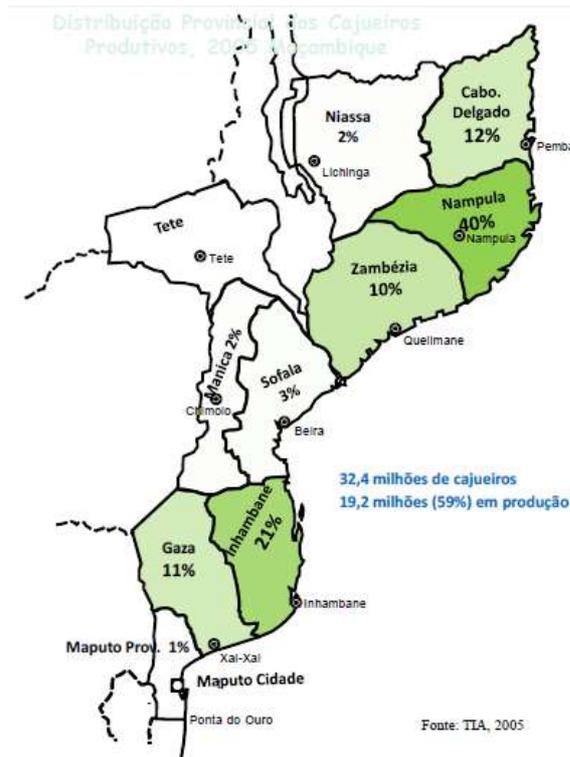


Figura 1: Mapa de distribuição de caju em Moçambique.

Fonte: Francisco & Barrenho (2008).

2.2. Caju

Popularmente conhecido como fruto, o caju é formado por um pedúnculo, ou pseudofruto (falso fruto) que se forma junto à castanha, o verdadeiro fruto, como mostra a figura 2. A castanha do caju mede entre 2,5 a 3 cm de comprimento e cerca de 2,5 cm de largura e tem uma coloração castanha-acinzentada, representando 10% do peso total do fruto, de onde se extrai a amêndoa e o líquido da castanha de caju. O pedúnculo é a parte, carnosa, a parte comestível *in natura* do caju, de onde se obtém os sucos, e fibras alimentares. O pseudofruto é formado logo após o desenvolvimento da amêndoa, medindo de 5 -10 cm de comprimento e 4 – 8 cm de largura, com uma casca fina de cor vermelha ou amarela, com a polpa macia, fibrosa, suculenta e ácida. O pedúnculo representa 90% do peso total do fruto (Quirino, 2019).

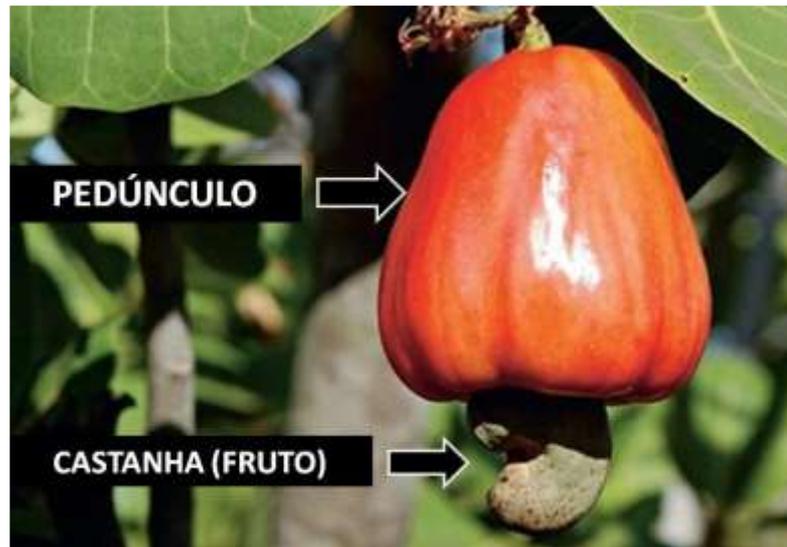


Figura 2: *Anacardium occidentale* L. (Caju), com pedúnculo (pseudofruto), e castanha (verdadeiro fruto).

Fonte: Mendes (2019).

O caju é classificado como fruto não climatérico, caracterizado pelo facto de ocorrer decréscimo contínuo na taxa respiratória após a colheita, e portanto, não aumento na produção de etileno, nem alterações no amadurecimento. Estas características implicam na necessidade de colheita do fruto maduro, pois se feita antes do amadurecimento, pode vir a ocorrer o amolecimento e perda da cor verde, ficando impróprio ao consumo (Luz, 2019). Esta característica fisiológica talvez explique, em parte, o baixo nível de aproveitamento comercial do pedúnculo pois há necessidade de uma operação logística ajustada entre a colheita e o processamento. Ademais, a colheita manual selectiva é consumidora de mão-de-obra e exaustiva, pois não há disponibilidade comercial de equipamento para a operação. A prática de colheita do caju no chão afecta negativamente a qualidade da castanha obtida (FBB, 2010; Luz, 2019).

Da árvore do cajueiro tudo se aproveita, podendo obter-se um conjunto de produtos, dentre os quais o principal é a castanha de caju de onde se extrai a amêndoa da castanha de caju, utilizada como alimento humano em variadas formas. O pedúnculo ou pseudofruto, ainda praticamente não aproveitado de forma industrial em Moçambique, pode ser consumido de forma *in natura* ou ser utilizado para a fabricação de doces e também para a extracção de polpas para sucos e outras bebidas. O bagaço resultante destes processos pode ser utilizado para ração animal, mediante processamento adequado (Francisco & Barrenho, 2008).

2.3. Castanha de caju

A castanha de caju é o verdadeiro fruto do cajueiro, composta pelo pericarpo e pela amêndoa. O pericarpo é composto pelo epicarpo, mesocarpo e endocarpo. O epicarpo é a camada externa, o mesocarpo é a camada intermediária, abaixo do epicarpo. Ela apresenta um aspecto esponjoso, cujos alvéolos são preenchidos por um líquido cáustico inflamável, conhecido como líquido da casca da castanha. O endocarpo é a camada interna da castanha, com seu aspecto duro tem a função de proteger a amêndoa (Quirino, 2019).

A castanha de caju apresenta elevado valor comercial. É beneficiada para produção de amêndoas inteiras e salgadas que apresentam excelente valor nutricional, ricas em vitaminas, minerais, ácidos graxos monoinsaturados e aproximadamente 25% de proteínas. Os subprodutos da castanha também podem agregar valor significativo à indústria, especialmente o líquido da casca da castanha de caju (LCC), a casca ou mesocarpo e a película. O LCC é um fluido viscoso, castanho-escuro, constituído por compostos fenólicos (ácido anacárdico, cardol e cardanol), muito importante na fabricação de produtos tais como cimento, tintas, vernizes e materiais à prova de água, é usado em revestimentos de superfícies e ainda como alternativa para obtenção de grandes quantidades de flavonóides, um fenol com efeitos biológicos importantes para a saúde humana. Está presente no mesocarpo da castanha e é liberado como subproduto no processo de extracção da amêndoa (Freire et al., 2011 & Pinho, 2009).

2.4. Pedúnculo de caju

O pedúnculo é o pseudofruto do cajueiro, é parte macia e succulenta de onde é extraída a polpa do caju. O pseudofruto do caju apresenta um alto valor nutritivo. A obtenção de produtos derivados do pedúnculo do caju ainda é uma área não muito explorada, como nova forma de consumo, visto que o fruto é altamente perecível, sendo que sua conservação após a colheita não ultrapassa 48 horas, o que acarreta altos índices de perdas pós colheita. Por esta razão, diversas pesquisas na área de conservação desse fruto, tais como a desidratação, secagem, congelamento, dentre outras, devem ser incentivadas.

O potencial antioxidante do caju está relacionado com a presença de vitamina C, ácidos fenólicos, dentre eles o ácido anacárdico, composto encontrado também no

Ginkgo biloba e associado ao tratamento e prevenção de doenças cardiovasculares (Luz, 2019). Broinizi et al. (2007) identificaram oito ácidos fenólicos no pedúnculo do caju, sendo quatro derivados do ácido hidroxibenóico (gálico, protocatecuico, gentíssico e salicílico) e quatro derivados do ácido hidroxicinâmico (caféico, ferúlico, cinâmico e p-cumárico). Neste estudo, o ácido salicílico foi o composto mais abundante em todas as frações, seguido do ácido p-cumárico.

O pseudofruto do caju apresenta estrutura carnosa e suculenta e é utilizado na preparação de polpas, sucos, néctares, refrigerantes, sucos clarificados (cajuína) e doces, em escala industrial ou artesanal. O pseudofruto apresenta em sua composição vitaminas, sais minerais, ácidos orgânicos e carboidratos, constituindo-se como uma importante fonte nutricional (Baretto, 2015). Algumas características físicas e químicas que fazem parte da composição do caju estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1: Características físicas e químicas do caju (Adaptado de: Correnho 2018; Paiva et al., 2000 e Maia et al., 2007).

Determinações	Carrenho (2018)	Paiva et al (2000)	Maia et al. (2007)
Humidade (%)	85.98	86	87.33
Acidez titulável (%)	0.49	0.36	—
Sólidos solúveis (°Brix)	10.76	11	11-13
pH	4.25	4.2	3-4.2
Vitamina C (mg/100g)	158.26	18.5	139-187.0
Cinzas (%)	0.32	—	—
Fibras (%)	0.06	—	—
Taninos (%)	0.27	0.35	0.27-0.72
Cálcio (mg/100g)	16.75	14.5	16.75
Ferro (mg/100g)	0.31	0.36	0.31
Fósforo (mg/100g)	30.55	33	30.5

2.5. Propriedades físico-químicas

As propriedades físico-químicas são parâmetros muito importantes na avaliação qualitativa das frutas, elas servem como parâmetros de qualidade dos produtos. A seguir, são referidas algumas propriedades estudadas neste trabalho.

2.5.1. Cor

A cor é um parâmetro essencial, um dos mais importante para a classificação dos frutos, podendo *a priori* representar significativamente a qualidade. O consumidor associa certas características de qualidade com a cor, o que pode influenciar na aceitabilidade do produto (Sinai, 2021; Borges *et al.*, 2008).

A cor é o parâmetro principal para o acompanhamento da maturação e colheita do fruto, considerado como o primeiro sinal visual (Parruque, 2018). Durante o amadurecimento ocorrem várias mudanças qualitativas e quantitativas na composição química e bioquímica, fisiologia do fruto que se refletem na cor, textura, aroma e sabor. Este processo é caracterizado pelo amolecimento do fruto, degradação da clorofila (responsável pela cor verde), síntese de ácidos, açúcares e carotenóides. O amadurecimento prossegue mesmo depois de colhido (Arnao *et al.*, 2003; Ferrari, 2008; Costa, 2009; Parruque, 2018).

A cor pode ser medida por espectrofotômetros ou colorímetros, sendo o colorímetro menos preciso pois avalia a cor do objecto da mesma forma que o ser humano percebe ao passo que o espectrofotómetro determina o espectro de reflectância da amostra, avaliando a cor de forma mais complexa e precisa. Foram instituídos vários sistemas de cores, como o CIE Lab, Hunter Lab e Adobe RGB “*Red Green Blue*”. A figura 3 mostra o sistema de cores Hunter Lab em coordenadas polares, onde o Cromo representa a saturação ou pureza e o ângulo *hue* a tonalidade.

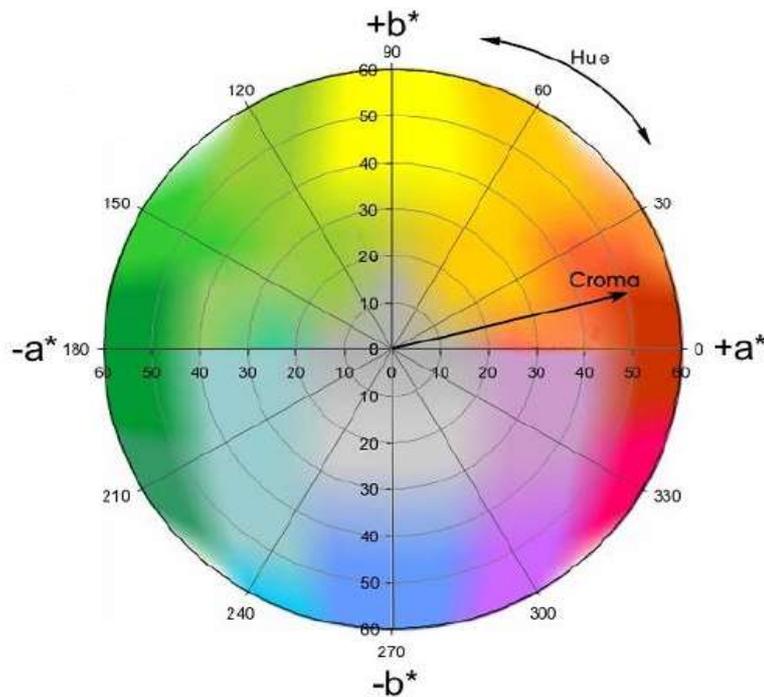


Figura 3: Sistema de coordenadas de cores CIELAB.

Fonte: Moraes, 2014.

2.5.2. Humidade e actividade da água

Geralmente, a humidade representa a água contida no alimento, que pode ser classificada em: humidade de superfície, que se refere a água livre ou presente na superfície externa do alimento, facilmente evaporada e humidade adsorvida, referente à água ligada, encontrada no interior do alimento, sem combinar-se quimicamente com o mesmo (IAL, 2008).

Actividade de água é um parâmetro que representa o grau de disponibilidade de água livre num alimento, esta que propicia o desenvolvimento de microorganismos. É actualmente considerado o principal factor de estabilidade e controlador de crescimento de microorganismos deterioradores e causadores de infecções e intoxicações alimentares. Em geral, a velocidade das reacções é proporcional a actividade de água e até $a_w = 0.2$ quase todas reacções ficam inibidas (Ditchfield, 2000; Goula *et al.*, 2008).

2.5.3. Acidez

A acidez titulável representa a quantidade de ácido presente em um produto, que reage com uma solução básica, de concentração previamente determinada (Sinai, 2021).

De acordo com Parruque (2018) frutas com teor de ácido cítrico entre 0.08 a 1.95% são classificadas como sendo de sabor leve e são bem aceitas pelos consumidores.

2.6. Compostos Bioativos

Compostos bioativos, ou alimentos funcionais, são alimentos naturais ou processados, que além de seus nutrientes, possuem componentes adicionais que atuam no metabolismo e fisiologia humana, promovendo efeitos benéficos à saúde, além de retardar o aparecimento de doenças crônico-degenerativas e que possam melhorar a qualidade e a expectativa de vidas das pessoas (Costa & Jorge, 2011)

Fazem parte dos compostos bioativos, substâncias que têm ação funcional e capazes de proporcionar benefícios à saúde, os ácidos graxos e aminoácidos essenciais, compostos fenólicos (flavonóides, carotenóides, antocianinas, entre outros), taninos, fibras, etc.

2.6.1. Compostos Fenólicos

Compostos fenólicos são metabólicos secundários, amplamente encontrados no reino vegetal, caracterizados pela sua atividade antioxidante e essenciais para o crescimento das plantas (Souza, 2013).

Quimicamente, os compostos fenólicos são um grupo de compostos com características estruturais fenólicas, definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Possuem estrutura variável e com isso, são multifuncionais, englobando desde moléculas simples até moléculas com alto grau de polimerização. Existem cerca de cinco mil fenóis, entre esses compostos destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas tocoferóis, entre outros. Este grande grupo é dividido em classes de acordo com o número de anéis fenólicos e das estruturas que ligam estes anéis entre si (Soares, 2015; Souza, 2013).

O consumo de frutas e hortaliças está associado ao baixo risco de incidência e mortalidade devido a problemas cancerígenos ou a doenças cardíacas e devido à presença, em especial, dos flavonóides e das antocianinas que pertencem à diversificada classe dos compostos fenólicos. Estão descritos para estes compostos numerosos efeitos biológicos, como o combate a radicais livres, a modificação da

actividade de algumas enzimas, a inibição da proliferação celular, bem como o seu potencial como agente antibiótico, anti alérgico e anti-inflamatório. De uma forma geral, estes compostos podem proteger os constituintes celulares da sua oxidação e assim limitar o risco de várias doenças associadas à degeneração por oxidação. (D'archivio et al., 2007).

2.6.2. Flavonóides

Em 1930, uma nova substância química foi isolada de laranjas e acreditava-se tratar-se de mais um novo membro da família das vitaminas e essa substância foi designada como vitamina P, verificando-se mais tarde tratar-se de um flavonóide (Machado et al., 2008). Os flavonóides, segundo Coutinho et al. (2009), representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem vegetal e são amplamente distribuídos no reino vegetal. Todavia estão presentes em abundância nas angiospermas, apresentando nesse grupo enorme diversidade estrutural. Diversas funções são atribuídas aos flavonóides nas plantas (Ribeiro, 2014).

Polifenóis, especialmente os flavonóides, são metabólitos secundários de plantas biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides. São definidos quimicamente como substâncias compostas por um núcleo comum de fenilcromanona com substituição em uma ou mais hidroxilos, incluindo derivados ligados a açúcares (Machado et al., 2008).

A estrutura química dos flavonóides está baseada no núcleo flavilium, o qual consiste de três anéis fenólicos. O benzeno do primeiro anel é condensado com o sexto carbono do terceiro anel, que na posição 2 carrega um grupo fenila como substituinte. O terceiro anel pode ser um pirano heterocíclico, gerando as estruturas básicas das leucoantocianinas e das antocianinas, denominado de núcleo flavana. Devido ao facto do terceiro anel apresentar-se como uma pirona, ocorre a formação das flavonas, flavonóis, flavanonas, isoflavonas, chalconas e auronas, recebendo a denominação de núcleo 4-oxo-flavonóide (Machado et al., 2008). Na Figura 4 observam-se as estruturas dos flavonóides das principais classes já estudadas.

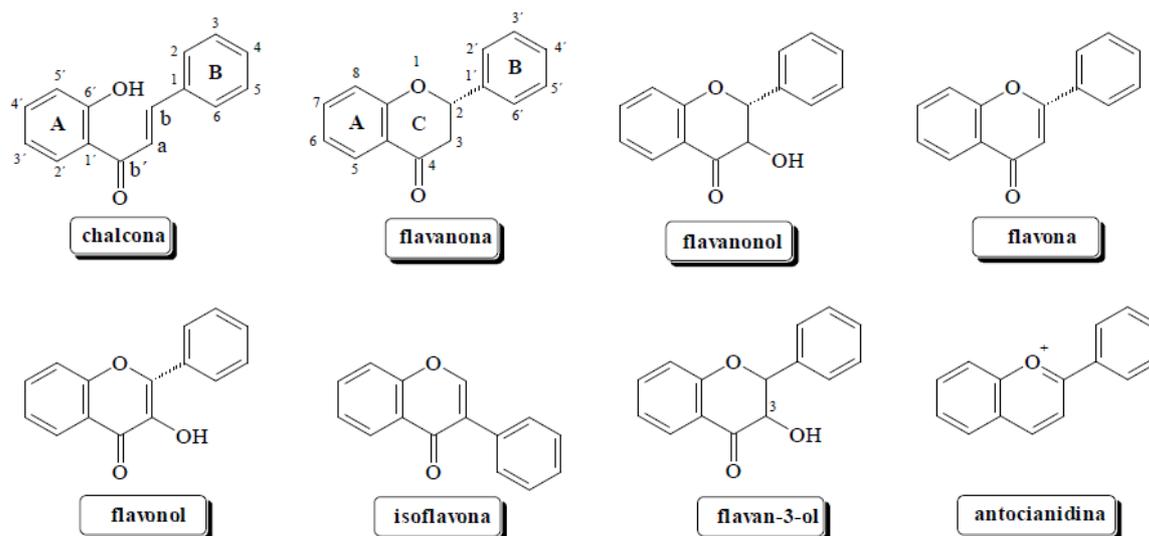


Figura 4: Esquema básico dos flavonóides

Fonte: Machado et al. (2008).

Atualmente mais de 4000 diferentes flavonóides foram descritos (D'archivo et al., 2007), sendo suas maiores classes os favónios, flavonas, flavanonas, catequinas, antocianinas, isoflavonas, didroflavonóis e chalconas (Machado et al., 2008). Na tabela 2 estão indicadas algumas classes de flavonóides com as respectivas características e suas fontes naturais.

Tabela 2: Principais classes e fontes de flavonóides.

Classes	Coloração	Comentários
Antocianinas	Azul, vermelha e violeta	As antocianinas estão predominantemente em frutas e flores, e provavelmente foram os primeiros flavonóides a serem isolados. São usadas como corantes.
Flavanas	Incolor	As flavanas são encontradas em frutas e chás (verdes ou pretos). Biflavanas são encontradas em frutas, lúpulo, nozes e bebidas. O sabor peculiar de algumas bebidas, frutas, chás e vinhos é devido, principalmente, à presença de biflavanas.
Flavanonas	Incolor para um amarelo pálido	As flavanonas são encontradas quase que exclusivamente em frutas cítricas.
Flavonas	Amarelo pálido	As flavonas também são encontradas quase que exclusivamente em frutas cítricas. Conferem o pigmento amarelo em flores. Os compostos mais comuns são a apianina e a luteolina.

Flavonóis	Amarelo pálido	Os flavonóis estão presentes em diversas fontes, sendo predominantes em vegetais e frutas. A quercetina é o principal representante da classe.
Isoflavonóis	Incolor	Os isoflavanóis são encontrados em abundância nos legumes, particularmente na soja.

Fonte: Xavier (2004).

Diversas propriedades são atribuídas aos flavonóides, entre elas, pode-se citar a protecção contra a incidência de raios ultravioleta, acção antioxidante, acção alelopática, moduladores de actividade enzimática, redução da proliferação celular, entre outros. E outras funções relacionadas à actividade biológica, e principalmente a prevenção do câncer, e doenças cardiovasculares, como anti-inflamatórios, antivirais e protecção contra microrganismos patogénicos. De maneira geral, a propriedade mais descrita é a sua capacidade antioxidante (Hassimotto, 2005; Ribeiro, 2014).

2.6.3. Antocianinas

O termo antocianina, derivado das palavras gregas “Anthos” (flor) e “Kyanos” (azul escuro), introduzido por Marquart, em 1835, designa os pigmentos responsáveis pelas colorações vermelho e azul, muito difundidas no reino vegetal . Após a clorofila, as antocianinas são o mais importante grupo de pigmentos de origem vegetal visível a olho nu (Mezaroba, 2001; Harborne & Grayer, 1988).

Do ponto de vista químico, as antocianinas, figura 5 (b), são compostos polifenólicos, heterosídeos, que por hidrólise ácida liberam uma molécula de açúcar e um agliconio, denominado antocianidina, o qual é um derivado do fenil-2 benzopirílio ou flavílio como mostra a figura 5 (a) (Mezaroba, 2001).

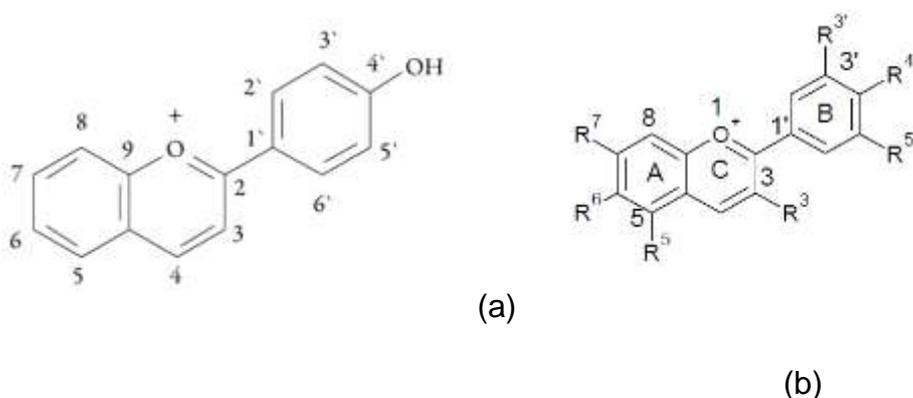


Figura 5: Estrutura molecular de fenil-2 benzopirílio ou flavílio (a) e antocianinas (b).

Fonte: Ferreira (2014).

As principais antocianidinas são a pelargonidina, cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina e malvidina. Elas se diferem no número de grupos hidróxilos (OH) e metóxilos (OCH₃) e estado de glicosidação. A pelargonidina parece não ocorrer nas espécies do gênero *Vitis* (Mazeroba, 2001). Na tabela 3 estão apresentadas algumas classes de antocianinas segundo a posição do grupo hidroxila na estrutura da figura 5 (b).

Tabela 3: Antocianidinas mais comuns que ocorrem naturalmente, com a posição de substituição e a cor produzida.

Antocianinas	Posição de substituição na estrutura da figura 5 (b)							Cor produzida
	3	5	6	7	3'	4'	5'	
Pelargonidina	OH	OH	H	OH	H	OH	H	Laranja/rosa
Cianidina	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Púrpura/Rosa/vermelho
Delphinidina	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Roxo/Azul
Peonidina	OH	OH	H	OH	OMe	OH	H	Púrpura/Rosa
Petunidina	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OH	Roxo
Malvidina	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OMe	Roxo

Fonte: Vicente (2018).

As funções desempenhadas pelas antocianinas nas plantas são variadas: antioxidantes, protecção à acção da luz, mecanismo de defesa e função ecológica. As cores vivas e intensas que elas produzem têm um papel importante em vários mecanismos reprodutores das plantas, tais como: polinização e dispersão de sementes. Devido à comprovada acção inibitória da cianidina 3-glicosídeo no crescimento larval da *Heliothis virescens*, uma praga que ataca o tabaco, as antocianinas também podem ser consideradas como agentes de controlo biológico. A estrutura química das antocianinas é baseada em uma estrutura policíclica de quinze carbonos (Xavier, 2004).

2.6.4. Carotenóides

Os carotenóides constituem um dos mais importantes grupos de pigmentos naturais devido a larga distribuição, diversidade estrutural e inúmeras funções. São responsáveis pelas cores amarela, laranja e vermelha das frutas, hortaliças, flores, algas,

bactérias, fungos, leveduras e animais, que apesar de não sintetizarem tais moléculas, podem obtê-las a partir de consumo de alimentos de origem vegetal (De Moraes, 2006).

O nome carotenóides deriva do nome científico da cenoura *Daucus carote*, reconhecido por Wackenroder em 1831 como a primeira fonte de carotene. Actualmente já foram identificados mais de 600 exemplares de carotenóides classificados estruturalmente e sete tipos diferentes e distribuídos em várias formas isoméricas (Diniz, 2016).

Quimicamente, os carotenóides são definidos como tetraterpenóides C_{40} (hidrocarbonetos de ocorrência normal e seus derivados), ou seja, união de oito unidades de isoprenóides de cinco átomos de carbono (C_5), formando uma cadeia carbónica de quarenta átomos de carbono, como mostra a figura 6, excepto a crocetina e a bixina, que possuem menos de quarenta átomos de carbono na sua cadeia carbónica (De Moraes, 2006).

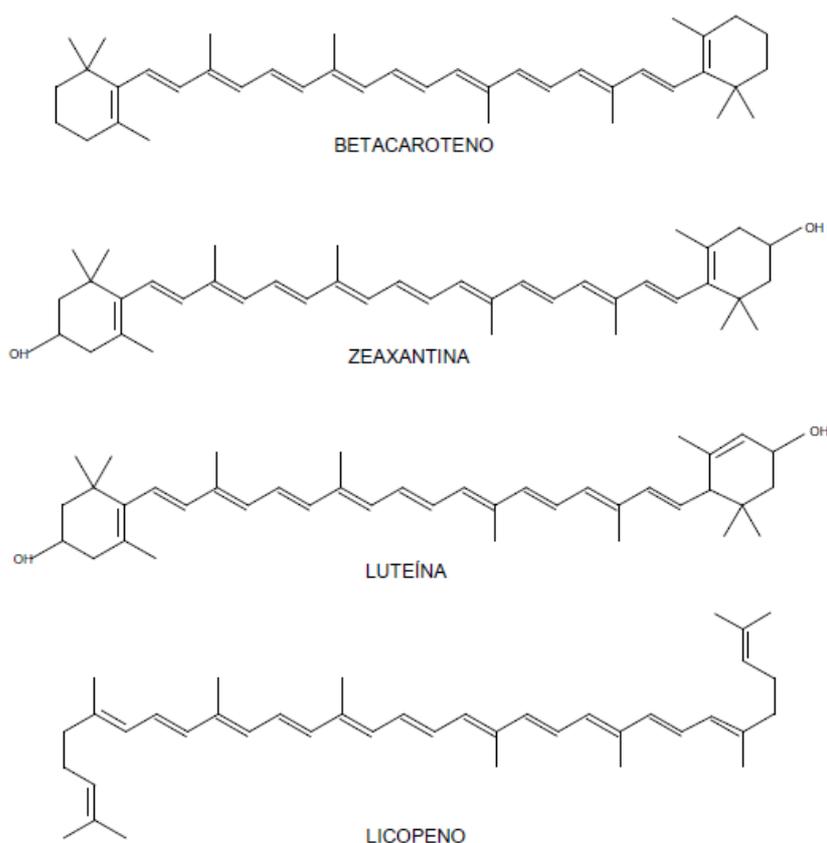


Figura 6: Representação de alguns carotenóides encontrados nos vegetais.

Fonte: Diniz (2016).

Carotenóides compostos apenas por carbono e hidrogénio são denominados de carotenos. Os principais carotenóides incluem os hidrocarbonetos licopeno (presente sobretudo no tomate) e β -caroteno (amplamente encontrado na cenoura e em alimentos de coloração alaranjada), e as xantófilas, que incluem as astaxantina, cantaxantina, luteína e zeaxantina (presentes geralmente em folhas e frutos de coloração amarela e em grãos de milho) (Diniz, 2016).

A estrutura química, o local de acção, o potencial de interacção com outros carotenóides ou antioxidantes (especialmente vitaminas C e E), a concentração do carotenóide e a pressão parcial de oxigénio são factores que influenciam a actividade destes nutrientes nos sistemas biológicos. O β -caroteno é o caroteno mais activo em termos nutritivos e integra 15 a 30% da totalidade dos carotenos séricos (De Moraes, 2006).

2.6.5. Taninos

Os taninos são compostos fenólicos de grande interesse económico e ecológico estando presentes em maioria de plantas. Caracterizam-se por serem polímeros fenólicos de grande peso molecular, solúveis em água e em solventes polares, possuindo a habilidade de formar complexos insolúveis em água com proteínas, gelatinas e alcalóides. Sua concentração varia de acordo com o clima e com as condições geográficas (Ribeiro, 2014; Coutinho, 2013; Braga, 2019).

Inicialmente empregou-se o termo “tanino”, de “*tanante*”, para substâncias de origem vegetal utilizadas pelas suas propriedades de curtir as peles, isto é, capazes de transformar a pele fresca dos animais em material não putrescível e pouco permeável (Dos Santos, 2012; Coutinho, 2013).

A classe dos taninos apresenta uma grande diversidade química de compostos fenólicos, dividindo-se em dois grupos de acordo com seu tipo estrutural: hidrolisáveis e condensados ou proantocianidinas (Braga, 2019).

2.6.5.1. Taninos hidrossolúveis

Os taninos hidrolisáveis consistem de ésteres de ácidos gálicos e ácidos elágicos glicosilados, formados a partir do chiquimato, onde os grupos hidroxila do açúcar são esterificados com os ácidos fenólicos (Braga, 2019). Os taninos hidrolisáveis (figura 7)

são caracterizados por um poliol central, geralmente uma molécula de glicose (ou outro açúcar) esterificada com ácido gálico ou ácido elágico. Estes taninos por hidrólise ácida liberam ácidos fenólicos: gálico, caféico, elágico e um açúcar. O ácido tânico é um típico tanino hidrolisável, o qual é quebrado por enzimas ou de forma espontânea (Coutinho, 2013; Ribeiro, 2014)

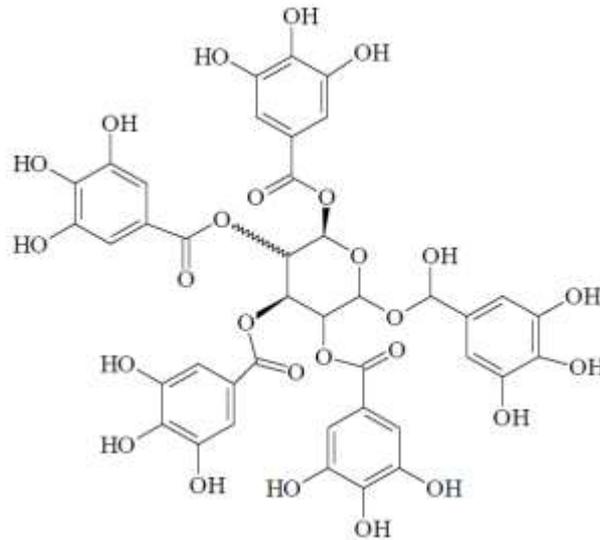


Figura 7: Estrutura de taninos hidrossolúveis.

Fonte: Ribeiro (2014).

2.6.5.2. Taninos Condensados

O Segundo Ribeiro (2014), os taninos condensados (figura 8) são formados por polímeros de catequina e leucoantocianidinas.

A presença de taninos condensados é mais comum na dieta humana do que os taninos hidrolisáveis. Estão presentes em concentrações relativamente importantes em alguns frutos (uvas, maçãs, etc.) e suas bebidas derivadas, no cacau e chocolate (Ribeiro, 2014).

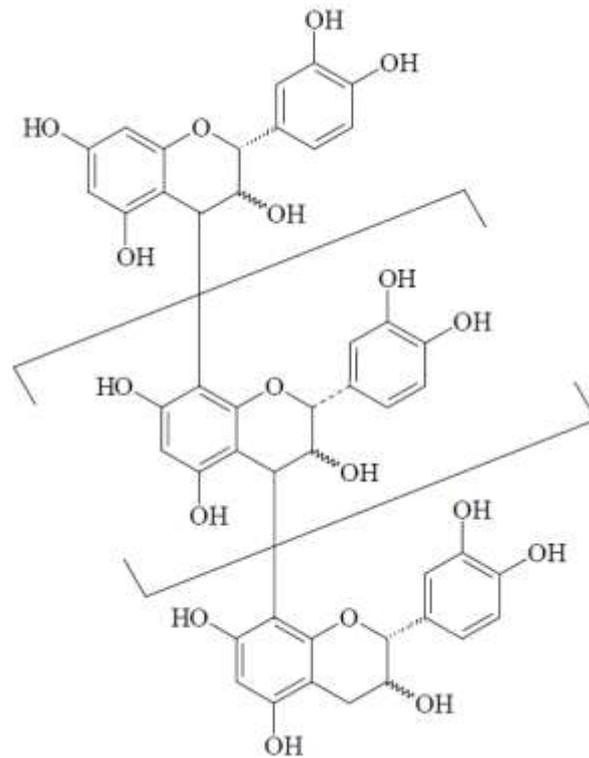


Figura 8: Estrutura de taninos condensados (em destaque uma unidade de catequina).

Fonte: Ribeiro (2014).

A adstringência no caju e em muitos outros frutos e produtos vegetais está diretamente ligada aos taninos. Acredita-se que resultam da interação de compostos fenólicos, principalmente taninos, com proteínas da saliva e das mucosas da boca, ricas em prolina, sendo percebidas pelos receptores do nervo trigeminal. A precipitação dos complexos resultantes reduz a ação lubrificante da saliva, aumentando a fricção entre as superfícies bucais, o que explicaria a adstringência. A adstringência ocorre devido à precipitação de glicoproteínas salivares, levando à perda do poder lubrificante (Mendes, 2019).

Têm sido atribuídas aos taninos muitas actividades fisiológicas humanas, como a estimulação das células fagocíticas e a acção tumoral, e actividades antioxidantes e anti-infectivas (Ribeiro, 2014).

2.7. Actividade Antioxidante

É contraditório que o oxigénio, molécula considerada essencial para a vida, também seja relatado por ser tóxico. Dessa forma, a molécula apresenta efeitos

benéficos e também prejudiciais aos sistemas biológicos. Sua toxicidade é resultado do processo que libera os radicais livres (Oliveira, 2014B). Os seres vivos estão a todo tempo sujeitos a sofrerem a acção de radicais livres. A acção dos radicais livres geram reacções de oxidação, e diversos estudos mostraram que essas reacções estão ligadas a doenças como câncer, aterosclerose, diabetes, artrite, malária, doenças cardiovasculares e doenças do envelhecimento. Os radicais livres são um dos causadores das reacções de oxidação em sistemas biológicos, pois possuem um electrão livre que pode se ligar a um electrão de outro átomo, o que confere a alta reactividade desses elementos e o que provoca a reacção de oxidação (Achkar et al., 2013).

Os radicais livres são moléculas instáveis, altamente reactivas e energizadas que são caracterizadas por possuir electrões desemparelhados. Podem ser gerados a partir de muitos elementos, porém, nos sistemas biológicos, aqueles que envolvem oxigénio (ROS) e nitrogénio (RNS) são os mais importantes (Oliveira, 2014B). Geralmente, eles atacam as moléculas estáveis mais próximas, para “roubar” seus electrões. Quando a molécula atacada perde o seu electrão, ela se torna um novo radical livre, dando início a uma reacção em cadeia. Uma vez que o processo é iniciado, a reacção pode ocorrer como cascata, iniciando a peroxidação lipídica que resulta na desestabilização e desintegração das membranas celulares, ou na oxidação de outros componentes celulares, tais como proteínas e DNA, resultando finalmente na ruptura das células. Os danos às membranas celulares e ao DNA podem provocar mutações cancerosas e a peroxidação lipídica está associada com a promoção de doenças cardíacas (Oliveira, 2014B).

Os alimentos também estão sujeitos a sofrerem reacções de oxidação. Essas reacções podem resultar na alteração do seu valor nutricional, e nos seus padrões de qualidade, como o odor, a cor, o sabor e a textura. A oxidação dos alimentos se deve a oxidação sofrida pelos lipídios que ocorre durante o processamento, a distribuição, o armazenamento e o preparo dos alimentos. Essas reacções geram odores e sabores indesejáveis, o que torna os alimentos impróprios para o consumo. As reacções também provocam as alterações nutricionais que afectam a integridade e a segurança dos alimentos, porque ocorre a produção de compostos potencialmente tóxicos (Achkar et al., 2013; Soares, 2015).

Factores ambientais, tais como o fumo, a poluição do ar, a radiação UV e solar em excesso, levam a um aumento na formação de radicais livres. A abundância destes compostos danifica membranas celulares, fosfolípidos, proteínas e ácidos nucleicos, essenciais para o funcionamento celular. Para se defenderem dos radicais livres, as plantas desenvolveram mecanismos antioxidantes em diferentes compartimentos intracelulares. Estes servem para controlar as concentrações de radicais livres, aumentar a resistência contra estes e reparar os danos causados (Oliveira, 2014A; Ferreira, 2014). Como já referido, compostos fenólicos e carotenóides, apresentam capacidades antioxidante, assim como algumas classes de vitaminas (vitamina E, e o seu maior constituinte o alfa-tocopherol e a vitamina C) (Cavaco, 2017).

Os antioxidantes podem ser definidos como quaisquer substâncias que, presentes em baixas concentrações, quando comparadas a um substrato oxidável (radicais livres maioritariamente), podem atrasar ou inibir a oxidação no mesmo substrato de maneira eficaz (Tiveron, 2010). Os antioxidantes neutralizam a acção dos radicais livres doando um de seus electrões, encerrando assim a reacção de “roubo” de electrões. Ao doar seus electrões, os antioxidantes não se convertem em novos radicais livres porque eles são estáveis nas duas formas. Estes agem como limpadores de radicais livres antes que eles possam causar danos ao organismo. Assim, eles podem também ser definidos como substâncias capazes de cessar ou estabilizar a acção dos radicais livres evitando ou retardando a oxidação de lípidos, proteínas e ADN (Oliveira, 2014B).

O uso de antioxidantes na indústria de alimentos e seus mecanismos de acção têm sido muito estudados, uma vez que estes são amplamente empregados, principalmente, com a finalidade de inibir ou retardar a oxidação lipídica dos óleos, gorduras e alimentos gordurosos (Ferreira, 2014; Tiveron, 2010).

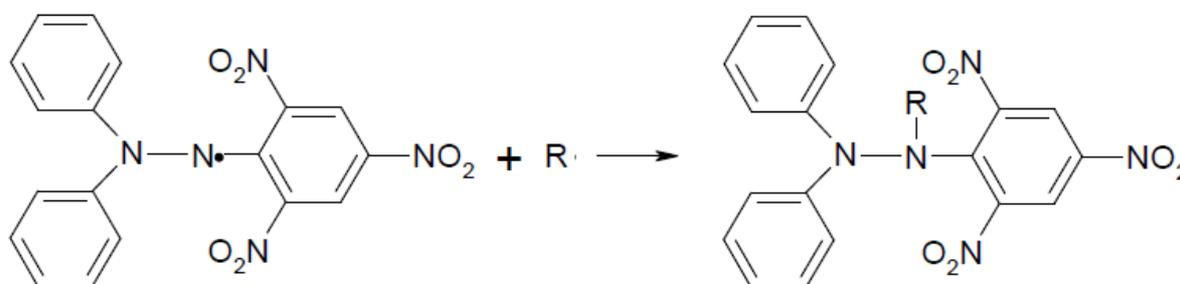
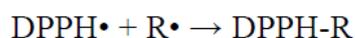
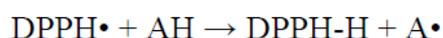
5.8.1. Métodos de Determinação de Antioxidantes

Evidências epidemiológicas crescentes do papel dos antioxidantes dos alimentos na prevenção de certas doenças têm conduzido ao desenvolvimento de um grande número de métodos para determinar a capacidade antioxidante (Oliveira, 2014B). Esse interesse começou a expandir-se a partir da década 90, quando começou a constatar-se a influência benéfica de muitos produtos naturais a saúde humana (Tiveron, 2010).

Contudo, procuram-se metodologias simples, de baixo custo e com qualidade de resultados. Dentre os métodos espectrofotométricos encontram-se FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) que mede a redução do Fe (II) e Fe (III), ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), desenvolvido originalmente por Cao, Alessio & Cutler (1993), ABTS (2,2 azinobis [3-ethylbenzo thiazoline 6 sulfonic acid]) e (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), sendo o último o mais utilizado, pois é adequado para análise de antioxidantes solúveis em meios orgânicos e amplamente aplicado à análise desta actividade em frutas (Da Silveira et al., 2018).

- **Método de DPPH**

O método de sequestro de radical livre DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ilustrado na figura 9, foi sugerido primeiramente em meados da década 50, originalmente para descobrir doadores de hidrogénio em produtos naturais, e, mais tarde para descobrir o potencial antioxidante em fenólico e em alimentos. Actualmente é o método mais utilizado para a verificação da actividade antioxidante (Tiveron, 2010).



Difenilpicrilidrazil (radical livre)

Cor: Violeta-escura

Difenilpicrilidrazina (não radical)

Cor: Amarela (ou violeta-clara)

Figura 9: Estabilização do radical livre DPPH.

Fonte: Rufino et al. (2007).

- **Método de ABTS**

O método indirecto para o sequestro do radical ABTS (2,2 azinobis [3-ethylbenzo thiazoline 6 sulfonic acid]) também é muito utilizado, foi primeiramente sugerido por Miller et al. (1993), em testes de amostras biológicas. Assim como o DPPH, o ABTS apresenta

excelente estabilidade em determinadas condições de análise. Porém esses radicais apresentam algumas diferenças importantes. O radical DPPH já vem pronto para o uso e é solúvel em solventes orgânicos, enquanto o ABTS necessita ser gerado por reacções químicas (como com o persulfato de potássio) ou enzimáticas, e, é solúvel em água como em solventes orgânicos, permitindo a análise tanto de amostras hidrofílicas como lipofílicas (Tiveron, 2010).

Por meio da adição de persulfato de potássio, ocorre a formação do radical ABTS, que apresenta cor esverdeada. Na medida que o antioxidante é misturado com esse radical, ocorre a redução do $ABTS^{•+}$ a ABTS, provocando a perda de coloração do meio reaccional. Os resultados são expressos em função de Trolox, um antioxidante submetido a mesmas condições de análise (Tiveron, 2010).

Uma das vantagens do método é a sua relativa simplicidade, além disso oferece valores máximos de absorção e uma boa solubilidade (Tiveron, 2010).

3. PARTE EXPERIMENTAL

A parte experimental do trabalho foi realizada nos laboratórios do Departamento de Engenharia Química (DEQUI) da Faculdade de Engenharia da Universidade Eduardo Mondlane, Cidade de Maputo.

Na tabela 4, estão listados todos os materiais e equipamentos utilizados em laboratório para a realização das experiências.

Tabela 4: Lista de materiais e equipamentos.

Materiais	Equipamentos
<ul style="list-style-type: none">• Copos de Becker• Erlenmeyer• Agitador magnético• Pipetas• Buretas• Balões volumétricos• Funil de vidro• Bastão de vidro• Tubos de ensaio• Banho-maria• Provetas• Exsicador• Faca de aço inox• Cápsulas de porcelana	<ul style="list-style-type: none">• Balança analítica• Placa de aquecimento• Estufa• Liofilizador• Colorímetro MINOLTA CR-10• Aqua lab• Colorímetro• Paquímetro

3.1. Materiais e Métodos

3.1.1. Matéria-prima

A matéria-prima utilizada para as experiências foi o caju. Esta foi adquirida no distrito de Manhiça, Província de Maputo.

3.1.2. Etapas do processo experimental

Neste subcapítulo descreve-se todas as etapas desenvolvidas no laboratório, como mostra a figura 10, desde a preparação da matéria-prima até a extracção e quantificação do conteúdo antioxidante presente no caju.

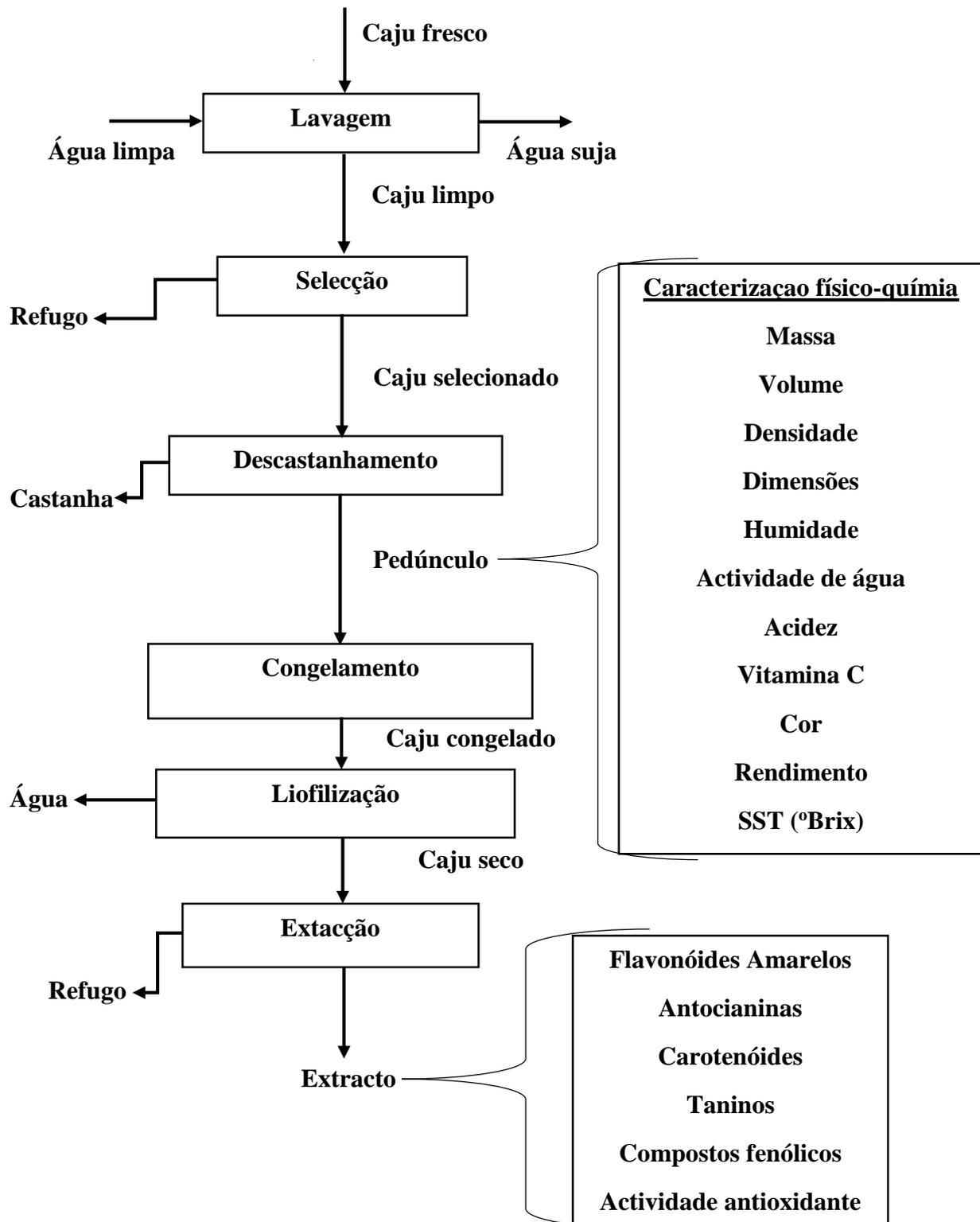


Figura 10: Etapas do processo experimental.

3.1.3. Preparação da matéria-prima

A preparação da matéria-prima consistiu na selecção de caju que não apresentava fissuras ou estado de deterioração, de tamanho médio e que fosse agradável a vista, considerando a cor e o estado de maturação [figura 11 (a)]. Em seguida, o caju selecionado foi lavado em água corrente de modo a remover impurezas, e colocado na bancada em grupos de oito, como ilustra a figura 11 (b), para escorrer a água e proceder-se com as experiências posteriores.



(a)

(b)

Figura 11: Selecção da matéria-prima: (a) caju na selecionado e (b) caju selecionado e agrupado em grupos de oito.

3.1.4. Determinação das características físico-químicas do caju

- **Determinação do Peso**

O peso de caju inteiro e fresco, foi determinado pela pesagem directa na balança analítica.

- **Determinação do Volume**

Em relação ao volume, o caju inteiro foi submerso num copo de vidro graduado, com água, e o seu volume foi dado pela diferença de nível, antes e depois da submersão no copo, segundo a equação 1.

$$\text{Volume} = V_f - V_i$$

(Equação 1)

Onde:

Vf – volume final

Vi – volume inicial.

- **Determinação da Densidade**

A densidade do caju foi determinada usando a equação 2.

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde: m – massa do caju e V – volume do caju.

- **Dimensões do caju**

As dimensões de caju foram determinadas pela medição pelo paquímetro. Sendo o caju um fruto irregular, dele foram retiradas as seguintes medidas: o diâmetro basal, diâmetro central, diâmetro apical e o comprimento longitudinal, como mostra a figura 12.



Figura 12: Dimensões do caju.

- **Determinação da humidade**

A humidade foi determinada pelo método de secagem na estufa, como está ilustrado na figura 13 (b), a uma temperatura de 105 °C por 3 horas (método 012/IV, Adolfo Lutz), e calculada a partir da equação 3. A figura 13 (a) mostra a parte exterior duma estufa.

$$\text{Humidade, na base húmida (\%)} = \frac{M_a - M_s}{M_a} * 100$$

(Equação 3)

Onde: M_a – massa da amostra húmida; M_s – massa da amostra após a secagem na estufa.



(a)

(b)

Figura 13: Secagem das amostras de caju na estufa para a determinação da humidade: (a) estufa e (b) parte interior da estufa com as amostras de caju.

- **Determinação da Cor**

A medição da cor foi feita usando o colorímetro Konica Minolta CR10, que fornece os parâmetros de cor no sistema CIELAB (L, a, b).

a – Cor na região vermelho (+a) até ao verde (-a);

b – Cor na região do amarelo (+b) até ao azul (-b);

L – Luminosidade, do branco (L=100) até ao preto (L=0).

A combinação desses três parâmetros resulta numa cor específica no diagrama ou no mapa de cores no sistema, segundo a determinação do Cromo e do ângulo Hue, de acordo com as equações 4 e 5, respectivamente.

$$Croma = \sqrt{a^2 + b^2}$$

(Equação 4)

$$Hue = \tan^{-1}\left(\frac{a}{b}\right)$$

(Equação 5)

- **Determinação da Actividade de Água**

A actividade de água quantifica a água disponível para o desenvolvimento de microorganismos e a possibilidade de ocorrência de reacções que alteram as características dos alimentos (Celestino, 2010). O seu valor varia de 0 a 1.

A actividade de água foi determinada por medição directa no aparelho Aqualab Mode, series 3TE, como mostra a figura 14.



Figura 14: Aqualab para medição da actividade de água.

- **Determinação da Vitamina C**

O teor da vitamina C (ácido ascórbico) foi determinado pela técnica do Instituto Adolfo Lutz 2008.

Pesaram-se 5 g da amostra e homogeneizou-se. Transferiram-se para um frasco Erlenmeyer de 300 ml com auxílio de aproximadamente 50 ml de água. Adicionaram-se 10 ml de solução de ácido sulfúrico a 20%. Em seguida adicionou-se 1 ml da solução de iodeto de potássio a 10% e 1 ml da solução de amido a 1%. Titulou-se esta solução,

com solução de iodato de potássio até coloração azul. A equação 6 é usada para determinar o teor da vitamina C.

$$\% \text{ Vitamina C} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{100 * V * F}{P}$$

(Equação 6)

Onde: V – volume gasto na titulação; F – factor de correcção de KIO_3 , 8.806 ou 0.8806 para 0.02M ou 0.002M, respectivamente; P – peso da amostra em gramas (g).

- **Determinação de acidez**

A acidez titulável foi determinada pela técnica do Instituto Adolfo Lutz 2008. Pesaram-se 5 g da amostra e homogeneizou-se. Transferiram-se para um frasco Erlenmeyer de 125 ml com adição de 50 ml de água. Adicionaram-se 4 gotas da solução de fenoftaleína e titulou-se esta solução com solução de hidróxido de sódio 0.1M. Titulou-se até coloração rosada. O teor de ácido foi determinado pela equação 7.

$$\% \text{ Teor do ácido} = \frac{100 * V * F}{P * C} \quad (\text{Equação 7})$$

Onde:

V – Volume, em ml, da solução de NaOH gasto na titulação;

F – Factor de correcção de NaOH, 0.9 para a concentração de 0.1M.

P – Peso da amostra em gramas (g);

C – Factor de conversão para a solução de NaOH, 10 para a concentração de 0.1M.

3.1.5. Secagem do Caju no Liofilizador

A liofilização (*freeze-drying*) é um processo de desidratação de produtos em condições de pressão e temperatura tais que a água, previamente congelada [figura 15 (a)], passa do estado sólido directamente para o estado gasoso (sublimação). Esse processo tem vantagem em relação aos outros processos convencionais de secagem de alimentos, pelo facto de não sujeitar os produtos à degradação térmica, mantendo assim

as propriedades nutritivas dos alimentos, e pela sua eficácia na remoção da água do alimento (Silva et al., 2010). O equipamento usado na liofilização chama-se liofilizador [figura 15 (b)].



(a)

(b)

Figura 15: (a) Congelamento da matéria-prima e (b) secagem no liofilizador.

3.1.6. Quantificação dos Flavonóides Amarelos e das Antocianinas

Os flavonóides amarelos e as antocianinas são extraídos segundo a metodologia descrita por Francis (1982) e determinados por espectrofotometria a 374 nm e 535 nm para flavonóides amarelos e antocianinas, respectivamente, utilizando-se 1 g de polpa para 30 mL da solução de Etanol – HCl (1.5 M). As equações 8 e 9 são usadas para o cálculo de antocianinas e flavonóides amarelos, respectivamente:

$$\text{Antocianinas } \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{\text{fator de diluição} \times \text{absorbância } 535 \text{ nm}}{98.2}$$

(Equação 8)

$$\text{Flavonóides Amarelos } \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{\text{fator de diluição} \times \text{absorbância } 374 \text{ nm}}{76,6}$$

(Equação 9)

3.1.7. Quantificação dos Carotenóides Totais

Os carotenóides totais foram determinados por espectrofotometria a 450 nm, de acordo com o método recomendado por Higby (1962), utilizou-se 4 g de polpa para 10 mL da solução extractora dos carotenóides totais, de Hexano, e é adicionado 30 mL do álcool isopropílico para obtenção da fase única. A figura 16a mostra a separação das fases no funil de separação para a obtenção de única fase, e a figura 16b, as fases resultantes da separação e lavagem do conteúdo. Para os cálculos dos carotenóides foi utilizada a equação 10.

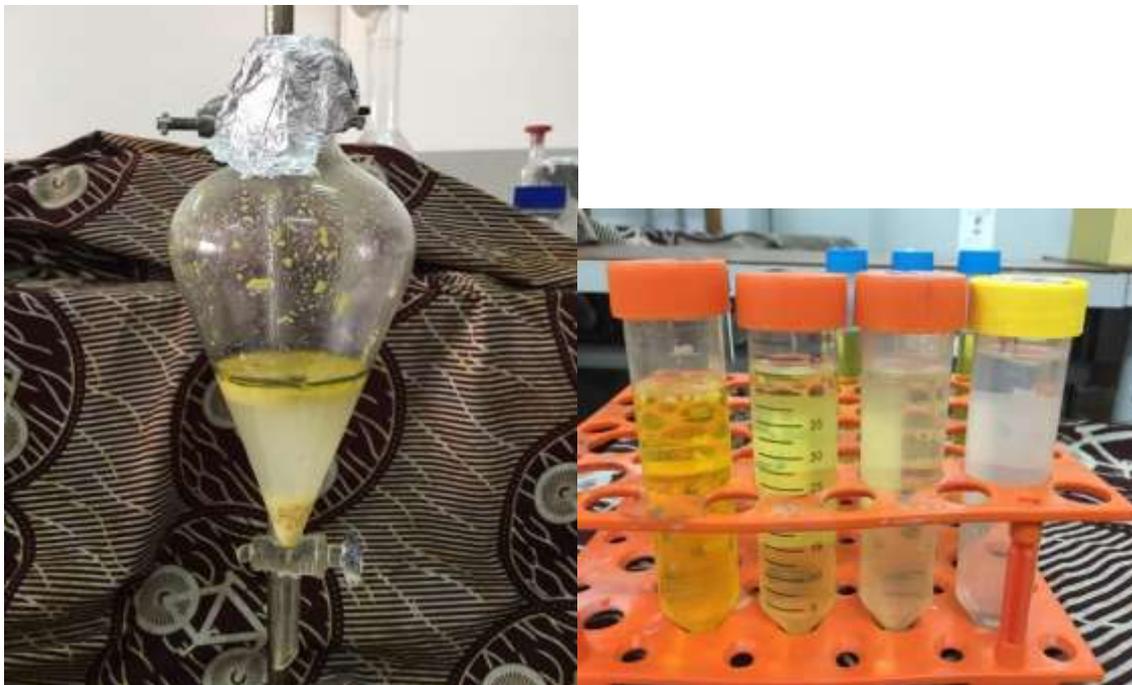
$$\text{Carotenóides totais } \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{A_{450} \times 100}{250 \times L \times W} \quad (\text{Equação 10})$$

Onde:

A_{450} – Absorvância medida 450 nm

L – Largura da cubeta

W – Quociente entre a massa da amostra (g) e volume final da diluição (mL).



(a)

(b)

Figura 16: (a) Funil de separação das fases e (b) fases separadas.

3.1.8. Quantificação dos Taninos Totais

O teor dos taninos totais foi determinado pelo método de Vanilina/HCl. Preparou-se uma solução de HCl 8% em metanol e outra de vanilina 4% em metanol, sendo essas duas soluções misturadas equitativamente a seguir, obtendo-se, assim, uma solução de vanilinal-HCl.

A extracção foi feita, pesando duas gramas de amostra de caju, previamente seca no liofilizador, em um tubo de ensaio e adicionado a ele 10 mL de 1% HCl em metanol, tapados, agitados, e deixados na geladeira por um período 24 horas. Em seguida, as amostras foram centrifugadas por período de 45 minutos a 3500 rpm. Em cada tubo de ensaio, adicionaram-se 1 ml do extracto (amostra) e 5 ml da solução de Vanilina/HCl, com intervalos de um minuto. A leitura de absorvância em espectrofotômetro foi a 500 nm. Para a determinação quantitativa de tanino nas amostras, utilizou-se a curva padrão de Catequina, e a equação 11 abaixo indicada.

$$Taninos = \frac{(Abs_{500nm} - b)}{m * massa\ das\ amostras}$$

(Equação 11)

Onde: m – declive da curva padrão de catequina.

b – Ordenada na origem

3.1.9. Quantificação dos Compostos Fenólicos Totais

A técnica utilizada para a determinação do conteúdo fenólico total baseia-se no método descrito por Swain & Hillis (1959). O extracto é obtido por homogeneização da amostra em metanol (1:4, p:v) e incubação overnight (16-18 h) a 5 °C. Posteriormente, procede-se à centrifugação da mistura (3500 rpm, 30 min a 4 °C), reservando-se o extracto metanólico límpido. O doseamento envolve a diluição de 150 µL do extracto metanólico em 2400 µL água nanopura, seguido pela adição de 150 µL do reagente de Folin-Ciocalteu diluído (0.25 N). A mistura é incubada durante 3 min (temperatura ambiente), seguindo-se a adição de 300 µL Na₂CO₃ a 1 N e incubação durante 2 h no escuro (temperatura ambiente). As leituras espectrofotométricas são realizadas a 725 nm, sendo o conteúdo fenólico total expresso em mg de equivalentes de ácido gálico.100

g-1 de tecido, resultante da média de n determinações por amostra, de acordo com a equação 12.

$$\text{CFT (mg EAG.100 g}^{-1}\text{)} = \left(\frac{\text{Abs}_{725\text{nm}} - b}{m} \right) * \left(\frac{\text{volume ext fenólico}}{\text{peso amostra}} \right) * \text{FD} * 100$$

(Equação 12)

Onde:

CFT – Conteúdo fenólico total expresso em mg de equivalentes a ácido gálico (EAG) por 100 g de produto;

Abs 725 nm – valor de Abs a 725 nm obtido após o doseamento;

b – Ordenada na origem da recta de calibração do padrão de ácido gálico;

m – Declive da recta de calibração do padrão de ácido gálico;

g amostra – Massa inicial de amostra (5 g);

mL solvente – Volume de solvente na extracção (20 ml);

Volume ext fenólico – Volume de solvente (20 ml) + volume de amostra (5 g), em que se considera o volume da amostra equivalente à respectiva massa (assume-se $\rho = 1 \text{ g.ml}^{-1}$)

FD – Factor de diluição no doseamento, caso necessário;

100 – Factor multiplicativo para expressar o resultado por 100 g de produto.

3.1.10. Determinação da Capacidade Antioxidante Total (AAT)

A capacidade antioxidante total foi determinada utilizando dois métodos diferentes:

- **Método DPPH**

A capacidade antioxidante (AOx) foi determinada de acordo com os procedimentos descritos por Brand-Williams et al. (1995) e Arnao et al. (2001), com algumas modificações. Brevemente, o radical DPPH foi diluído em metanol (1:4.5, v:v)

para obter uma absorvência inicial de 1.100 ± 0.020 unidades a 515 nm prévio à sua utilização. A determinação da capacidade antioxidante foi realizada a partir da reacção de 150 μL de extracto antioxidante (hidrofílico ou lipofílico) com 2850 μL da solução radical DPPH, durante 2h no escuro, à temperatura ambiente. Após a reacção, a redução da absorvência será medida espectrofotometricamente a 515 nm. Uma curva padrão será preparada utilizando Trolox como referência e os resultados expressos em equivalentes de Trolox por 100 g de produto (TEAC.100 g⁻¹), resultantes da média de n determinações por amostra.

- **Método ABTS (TEAC)**

A capacidade antioxidante (AOx) foi determinada de acordo com os procedimentos descritos por Arnao et al., (2001), com algumas modificações. Brevemente, o radical ABTS•+ foi produzido pela reacção equitativa de ABTS (15 mM) com persulfato de potássio (4.9 mM), desenvolvida em condições de pouca luminosidade por um período mínimo de 12 h (temperatura ambiente). O radical ABTS•+ foi diluído em etanol (1:60, v:v) para obter uma absorvência inicial de 1.100 ± 0.020 unidades a 734 nm previamente à sua utilização. A determinação da capacidade antioxidante foi realizada a partir da reacção de 150 μL de extracto antioxidante (hidrofílico ou lipofílico) com 2850 μL da solução radical ABTS, durante 2h no escuro, à temperatura ambiente. Após a reacção (figura 17a), a redução da absorvência foi medida pelo espectrofotómetro (figura 17b) a 734 nm. Uma curva padrão foi preparada utilizando Trolox como referência e os resultados expressos em equivalentes de Trolox por 100 g de produto (TEAC.100 g⁻¹), resultantes da média de n determinações por amostra. A equação 13 é usada para a determinação da actividade antioxidante, tanto pelo método DPPH, como pelo método ABTS.

$$AOx (\mu\text{M equivalente Trolox.}100 \text{ g}^{-1}) = \left(\frac{\Delta\text{ABTS(ou DPPH)-b}}{m} \right) * \left(\frac{\text{g amostra} + \text{mL solvente}}{\text{g amostra}} \right) * \text{FD} * 100$$

(Equação 13)

Onde:

Aox – Capacidade antioxidante, expressa em μM de equivalentes a Trolox por 100 g de produto;

ΔABTS (ou DPPH) – Decréscimo da $\text{Abs}_{580\text{ nm}}$ ($\text{Abs}_{515\text{ nm}}$) pela acção dos antioxidantes;

b – Ordenada na origem da recta de calibração do padrão de Trolox;

m – Declive da recta de calibração do padrão de Trolox;

g amostra – Massa inicial de amostra (5 g);

mL Solvente – Volume de solvente na extracção (20 ml);

FD – Factor de diluição no doseamento, caso necessário;

100 – Factor multiplicativo para expressar o resultado por 100 g de produto.



(a)



(b)

Figura 17: Determinação da AAT (a) e Espectrofotómetro (b)

4. ANÁLISE E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

Neste capítulo, estão apresentados os resultados obtidos durante as experiências laboratoriais, as respectivas análises e discussão. Todas as experiências foram realizadas em triplicado e os resultados submetidos a tratamento estatístico (cálculo da média e desvio padrão).

4.1. Caracterização física

As características físicas (cor, peso, forma) são de fundamental importância para uma boa aceitação do produto por parte do consumidor e, portanto, é necessário seleccionar pedúnculos de caju que possam atender às exigências de consumo, uma vez que os atributos qualitativos são mais apreciados do que os quantitativos no mercado das frutas (Ferreira et al., 2015).

Os resultados obtidos na caracterização física de caju estudado estão apresentados na tabela 5, onde são indicados os seus valores médios e os seus respectivos desvios padrões.

Tabela 5: Valores médios das características físicas do caju.

Amostra de caju <i>in natura</i>	
Análise feita	Valor Experimental
Comprimento longitudinal (mm)	57.62 ± 5.83
Diâmetro (mm)	Basal 40.72 ± 6.40
	Central 50.02 ± 4.63
	Apical 51.80 ± 4.48
Peso total (PT) (g)	90.53 ± 19.85
Peso do pedúnculo (PP) (g)	83.35 ± 18.92
Peso da castanha (PC) (g)	7.18 ± 1.37
% (PP/PT)	91.96 ± 1.11
% (PC/PT)	8.04 ± 1.11
Volume (mL)	86.25 ± 13.53
Densidade (g/mL)	1.04 ± 0.19

- **Comprimento e diâmetro do pedúnculo**

Para o pedúnculo do cajueiro o tamanho se relaciona a quatro medidas: diâmetro basal (próximo a castanha), diâmetro central (no meio do caju), diâmetro apical e o comprimento (longitudinal), como está ilustrado na figura 12.

De acordo com a tabela 5, o valor de diâmetro de caju varia entre 40.72 ± 6.40 mm e 51.80 ± 4.48 mm, esses valores estão ao redor do valor obtido por Filho (2016) (48.25 mm) no seu estudo sobre a caracterização física e química do caju. Estes resultados encontram-se dentro dos intervalos dos valores obtidos por Moura et al. (2001) e Lopes et al. (2011), que também, estudaram, separadamente, a caracterização física e química dos pedúnculos de caju, tendo obtido valores que variam de 39.93 mm a 61.82 mm, e 25.40 mm a 58,66 mm, respectivamente. O comprimento longitudinal obtido foi de 57.62 ± 5.83 mm, valor maior ao valor obtido por Filho (2016) (46.69 mm). Comparando esse valor de comprimento com os valores obtidos por Moura et al. (2001), verifica-se que este é ligeiramente menor, encontrando-se fora do seu intervalo, que varia entre 59.9 mm a 84.04 mm. Porém, está dentro dos intervalos dos valores obtidos por Lopes et al. (2011) e que variam entre 45.85 mm e 67.58 mm. De modo geral, as diferenças obtidas não são significativas. São vários os factores que podem ter contribuído para a existência dessas diferenças, porém a irrigação, as condições climáticas e do solo das regiões do plantio dos cajueiros, são factores potenciais.

Os dados do comprimento longitudinal, do diâmetro e a relação entre eles mostram que os frutos apresentam formato oval a ligeiramente arredondado. O formato do fruto, representado pela relação comprimento/diâmetro mostrou-se uniforme e com valores próximos a unidade.

- **Peso, volume e densidade**

Quanto ao peso do caju (castanha e pedúnculo) obtido, 90.53 ± 19.85 , no presente trabalho, observa-se que esse valor é superior ao valor obtido por Filho (2016) que constatou que o peso médio do caju era de 52.73 g. Enquadra se, porém, ao intervalo dos valores obtidos por Lopes et al. (2001) que variam entre 45.28g e 109.70g.

Sabe-se que o peso médio dos frutos é uma característica importante para o mercado das frutas frescas, uma vez que os frutos mais pesados são mais atractivos

para os consumidores. Todavia, para frutos destinados a elaboração de produtos como sucos, doces, licores, cristalizados, os parâmetros físico-químicos relacionados a acidez total titulável e ao teor de sólidos solúveis totais são mais relevantes (Souza, 2007). Em relação aos pesos da castanha e pedúnculo, percebe-se que a castanha corresponde a 8.04% e o pedúnculo 91.96%, valores com diferenças não significativa em relação aos valores encontrados na literatura, visto que o peso da castanha deve girar em torno de 10% e 90% do peso de pedúnculo.

Quanto ao volume e densidade dos pedúnculos de caju foram obtidos 86.25 ± 13.53 mL e 1.04 ± 0.19 g/mL, respectivamente.

- **Rendimento (%)**

Quanto ao rendimento os dados ilustrados na figura 18 revelam que o caju estudado é constituído por uma média 67% de polpa que é o suco obtido através da prensagem dos pseudofrutos, e 33% de bagaço que é a parte fibrosa resultante da prensagem dos pseudofrutos. Esses valores são inferiores aos valores dos rendimentos obtidos por Filho (2016) e por Silva et al. (2010) nos seus estudos sobre a caracterização física da polpa de caju, que foram de 84.09 e 86.04% em relação a polpa de caju e 15.91 e 13.96% em relação ao bagaço, respectivamente.

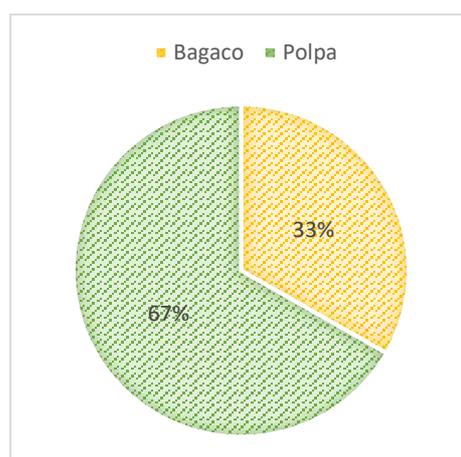


Figura 18: Rendimento de caju.

Essas diferenças se devem, em primeiro lugar, ao método empregue para a prensagem, assim como, das técnicas de cultivos adequadas, irrigação, condições

climáticas e nutrição mineral, entre outros. Assim como mesmos autores, acima citados, mencionam, que o rendimento é um factor bastante variável.

4.2. Características físico-químicas

Os resultados médios das determinações de humidade, actividade de água (a_w), cor, acidez total titulável (ATT), sólidos solúveis totais (SST) e vitamina C, do caju *in natura*, estão apresentados na tabela 6. Essas variáveis físico-químicas são indicadores sensoriais, importantes tanto para a industrialização, quanto para o consumo dos frutos *in natura* (Souza, 2007).

Tabela 6: características físico-químicas do caju fresco.

Amostra de caju <i>in natura</i>		
Análise feita	Valor Experimental	
Humidade (%)	84.10 ± 0.49	
Actividade de água (a_w)	0.93 ± 0.12	
Cor	Interior (polpa)	Fora (película)
L	43.51 ± 1.24	44.76 ± 0.27
a	3.45 ± 0.95	15.56 ± 1.35
b	29.28 ± 1.26	37.65 ± 0.61
Croma	29.50 ± 1.28	40.78 ± 0.14
Hue	6.67 ± 1.69	22.48 ± 2.08
Acidez (%)	0.57 ± 0.17	
SST (°Brix)	12.73 ± 0.23	

- **Humidade (%)**

O teor da humidade do pedúnculo de caju obtido foi de 84.10 ± 0.49%, esse valor é compatível com os valores apresentados na literatura, ligeiramente abaixo dos valores de humidade determinados por Maia et al. (2004) (87.33%), Paiva et al. (2000) (86%) e Carrenho (2018) (85.98%). Segundo Potter (1973), a maioria das frutas e hortaliças possui alto teor de água, sendo em geral superior a 70%.

O elevado teor da humidade encontrado no caju explica a rápida deterioração de caju (cerca de 48 horas), já que a humidade promove e favorece a proliferação dos microorganismos que comprometem a qualidade do fruto.

- **Actividade de água (a_w)**

Constata-se que a actividade de água (a_w) obtida é de 0.93, ligeiramente inferior ao valor obtido por Lima et al. (2017) (0.986). Os alimentos são classificados de acordo com a sua actividade de água, onde se destacam três grupos: alimentos com baixa actividade de água (a_w abaixo de 0,6); alimentos com actividade de água intermediária (a_w entre 0,6 e 0,9) e alimentos com alta actividade de água (a_w acima de 0,9) (Ribeiro e Seravalli, 2007). E, diante dos resultados obtidos, o caju, um alimento de alta actividade de água. Assim sendo, chama-se a atenção para a necessidade de se processar o pedúnculo de caju com técnicas adequadas que garantam a segurança alimentar, tais como secagem osmótica.

- **Cor**

Para os parâmetros da cor da polpa de caju, foram determinados os atributos luminosidade (L) com valor médio de 43.51 ± 1.24 , intensidade do vermelho (a) com 3.45 ± 0.95 e intensidade do amarelo (b) com 29.28 ± 1.26 . Em relação a película de caju obteve-se os seguintes valores médios 44.76 ± 0.27 , 15.56 ± 1.3 e 37.65 ± 0.61 para **L**, **a** e **b**, respectivamente. Os valores positivos de **a** e **b** referidos, são influenciados pelos carotenóides presentes no caju, principalmente β -caroteno, que possui coloração amarela.

Os valores obtidos são semelhantes aos valores obtidos por Filho et al. (2013) no seu estudo sobre a caracterização físico-química das polpas congeladas de caju (*Anacardium occidentale L*) comercializadas no município de Campina Grande-PB (L=46.12, a=1.94 e b=26.57).

Os valores de Cromo (29.50 ± 1.28 , fora e 40.78 ± 0.14 na película) e do ângulo hue (6.67 ± 1.69 , fora e 22.48 ± 2.08 na película), combinados, nos dão a cor exacta do caju no diagrama da cor CIELab, tendo sido parecido, tanto no interior com no exterior do caju, amarela-avermelhada como está ilustrado na figura 19.

A luminosidade varia de L = 0 (preto) a L =100 (branco), e quanto mais próximo de 100, mais claras são as amostras. Os valores das coordenadas (L, a, b) da escala de cor são parâmetros importante na escolha e na aceitação de um produto pelo consumidor.

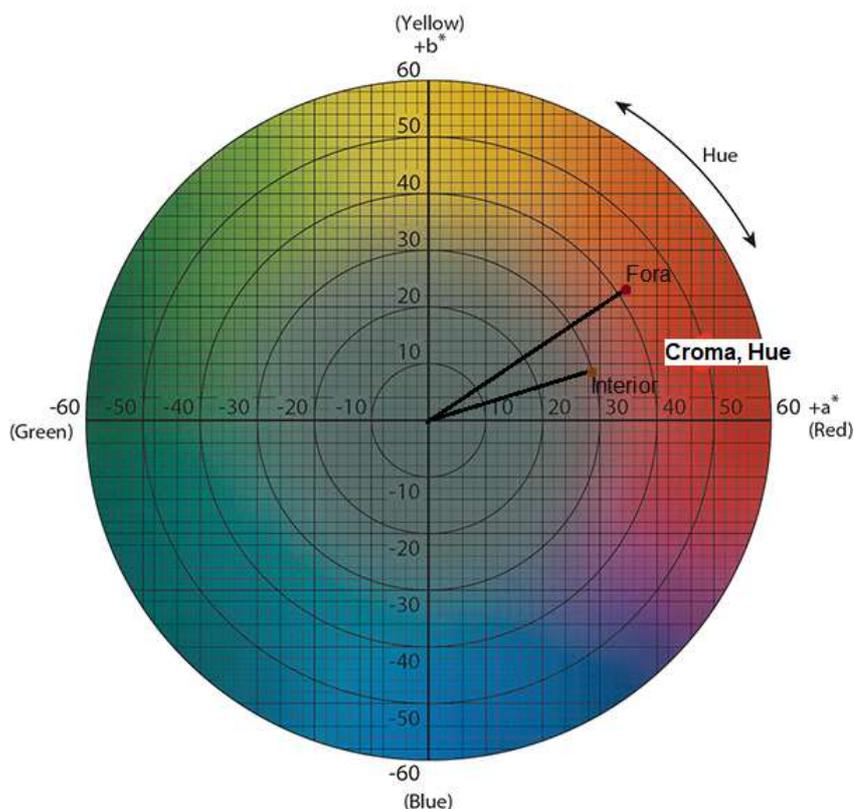


Figura 19: Cor do caju na escala CIELab, para fora e para o interior de caju.

- **Sólidos solúveis totais (SST)**

Verifica-se que a concentração de sólidos solúveis totais (SST) do suco de caju obtida (12.73 ± 0.22 °Brix) está dentro do intervalo dos valores obtidos por (Maia et al. (2007), que variam entre 11-13 °Brix. Contudo, são ligeiramente superiores aos valores obtidos por Maia et al., (2004) (10.76 °Brix), e Paiva et al. (2000) (11 °Brix). Por outro lado, Brasil et al. (2016) ao avaliarem a qualidade físico-química de cinco tipos de polpas de frutas congeladas de caju encontraram valores entre 10,47 a 13,75 °Brix. De acordo com Gadelha et al. (2009) a concentração dos sólidos solúveis totais é usada como índice de maturidade para alguns frutos, e indica a quantidade das substâncias que se encontram dissolvidas no suco sendo constituídos na sua maioria por açúcares. Para Santos et al. (2004) os SST variam de acordo com os factores climáticos, variedade, maturação do fruto, solo e da adição de água durante o processamento.

Sólidos solúveis, medidos por refractômetro, são usados como índices dos açúcares totais em frutos, indicando o grau de maturidade. São constituídos por

compostos solúveis em água, que representam substâncias tais, como açúcar, ácidos, vitaminas hidrossolúveis e algumas pectinas (Souza, 2007).

- **Acidez total titulável (ATT)**

O valor obtido do teor de acidez foi de 0.57 (± 0.170)%, valor muito superior aos valores obtidos por Lima et al. (2017) (0.25%) e Paiva et al. (2000) (0.36%). Não muito distante, porém do valor obtido por Maia et al. (2004) (0.49%). A acidez é um dos importantes constituintes do sabor dos alimentos. De acordo com Parruque (2018) frutas com teor de ácido cítrico entre 0.08 a 1.95% são classificadas como sendo de sabor leve e são bem aceites pelos consumidores. Com base nesta informação, pode-se inferir que o caju avaliado neste trabalho tem potencial suficiente para ser aceite.

4.3. Compostos Fenólicos e Actividade Antioxidante Total

Na tabela 7, estão representados todos os resultados em médias triplicadas dos flavonóides, carotenóides, compostos fenólicos e actividade antioxidante total. Todos os resultados correspondentes as réplicas encontram-se nos apêndices.

Tabela 7: Resultados dos compostos bioactivos e actividade antioxidante total.

Análise		Valor Experimental
Flavonóides amarelos (mg/100g)		92.83 \pm 2.29
Antocianinas totais (mg/100g)		43.65 \pm 3.70
Carotenoides (mg/100g)		8.14 \pm 0.46
Taninos (mg/100g)		292.21 \pm 11.26
Vitamina C (mg/100g)		38.55 \pm 8.55
Compostos fenólicos totais (CFT) (mg/100 g)		1339.60 \pm 124.69
AAT (DPPH) (μ M Trolox/g)	AoxH	308.36 \pm 0.42
	AoxL	254.08 \pm 4.01
	Total	562.44 \pm 4.01
AAT (ABTS) (μ M Trolox/g)	AoxH	322.46 \pm 4.72
	AoxL	434.46 \pm 3.95
	Total	756.92 \pm 4.72

- **Flavonóides amarelos**

Os flavonóides amarelos presentes nos pedúnculos de caju apresentaram um valor médio de 92.83 ± 2.29 mg/100g. Esse valor encontra-se dentro do intervalo dos valores determinados por Moura et al. (2001) que variam entre 80,62 e 125.85 mg/100g. Os flavonóides, juntamente com os carotenóides são responsáveis pela coloração amarela no caju.

- **Antocianinas totais**

Em relação aos teores de antocianinas totais, responsáveis pela coloração avermelhada da película dos pedúnculos de caju, obteve-se um valor médio de 43.65 ± 3.70 mg/100g. Este valor está dentro do intervalo dos valores médios obtidos por Moura et al. (2001) que variam entre 17.56 e 76.07 mg/100g. Levando-se em consideração a preferência dos consumidores por pedúnculos de coloração mais próxima ao vermelho, estes materiais se apresentam promissores para o mercado de frutos *in natura*. Quanto mais vermelhos os pedúnculos, maior a proporção de antocianinas totais em relação aos flavonóides amarelos (Moura, 2001). Porém, de um modo geral, o teor de antocianinas totais encontrado na película do pedúnculo de caju é baixo se comparado com outros frutos, como jambalão e amora (entre 140 mg/100g), uva (a redor de 200 mg/100g), que são, inclusive, indicados como corante.

- **Carotenóides**

O valor médio dos carotenóides totais encontrado foi de 8.14 ± 0.46 mg/100g. Esse valor é muito próximo ao valor que Barbosa (2010) obteve no seu estudo sobre a obtenção de carotenóides e flavonóides a partir do bagaço do pedúnculo do caju por maceração enzimática (10.50mg/100g). Porém, é duas vezes maior que os valores obtidos por Dionisio et al. (2018) quando estudavam o extracto concentrado de carotenóides obtido da fibra do pedúnculo de caju (4.957 mg/100g). Comparando com o valor obtido por Moraes (2014) no seu estudo sobre a polpa desidratada de caju amarelo por otimização em *spray-dryer* (27.07 mg/100g) constatou-se que o valor obtido era quase três vezes menor. Portanto, o valor obtido dos carotenóides não foge muito do intervalo observado na literatura. A discrepância desses valores é explicada pelo facto

de carotenóides dependerem muito das condições climáticas e do solo do lugar de cultivo.

- **Taninos**

A catequina, tanino condensado, é um composto fenólico com capacidade antioxidante considerável (LOVATTA, 2019). O valor de taninos obtido mostrou-se considerável (292.21 ± 11.26 mg ECat/100 g). Esse valor está dentro do intervalo dos valores obtidos por Agostini-Costa et al. (2003), nos seus estudos de determinação de taninos em caju anão precoce (101 a 372 mg/100g).

- **Vitamina C**

Os valores obtidos, em volta de 38.55 ± 8.55 mg/100g, divergem dos valores obtidos por Carrenho (2018) (158.26mg/100g) e Maia et al. (2007) (139-187 mg/100g), sendo inferior, porém superiores aos obtidos por Paiva et al. (2000) (18.5 mg/100g). As diferenças entre os teores de vitamina C encontrados por estes autores e os do presente trabalho, podem ser atribuídos a localização dos plantios, diferentes tratamentos culturais, tipos de solos e uso ou não de irrigação (Barros & Crisóstomo, 1995). De acordo com Maia e Soares (1970), o caju apresenta grande variabilidade no teor de vitamina C, tendo os mesmos encontrados valores máximo de 387 mg/100g e mínimo de 156,0 mg/ 100g para cajus colhidos em um mesmo pomar. A variação encontrada para o teor de ácido ascórbico no caju enquadra-se nas considerações feitas por Braverman (1978), segundo as quais uma dada variedade vegetal não apresenta os mesmos percentuais de ácido ascórbico, podendo haver, inclusive, alterações desses teores em diferentes partes de um mesmo fruto.

- **Conteúdo Fenólico Total (CFT)**

Actualmente há grande interesse em determinar e quantificar os compostos bioactivos presentes nos vegetais e em seus derivados. No que diz respeito especificamente aos compostos fenólicos, estudos já mostraram que essas substâncias são capazes de minimizar danos nas células, retardando doenças crônicas, cardiovasculares, entre outras (De Moraes et al., 2006).

Neste caso, o caju estudado teve quantidades expressivas de compostos fenólicos totais (1339.60 ± 124.69 mg/100g). Esta classe de compostos apresenta valores superiores ao valor obtido por Rufino et al. (2010) (830.00 mg/100g), porém muito inferior aos valores obtidos por Andrade (2013) (1975 mg/100g). Essas grandes diferenças podem ser devido aos agentes extractores empregues na extracção dos compostos fenólicos, tendo o primeiro autor usado metanol a 50% e o segundo autor acetona a 70%. Segundo Rocha et al. (2011) a acetona é mais eficiente na extracção de compostos fenólicos totais e taninos condensados presentes nos frutos. Alvez et al. (2013) e Lopes et al. (2011) também determinaram compostos fenólicos totais no caju tendo obtido valores muito baixos, 279.3 e 375.79 mg/100g, respectivamente. Esses valores são explicados pelo facto de ter-se usado, nesses estudos, amostras húmidas, e devido aos altos valores de humidade, o nível de concentração de compostos fenólicos é baixa. Moraes (2014), no seu trabalho sobre polpa desidratada de caju amarelo, determinou compostos fenólicos totais no caju *in natura* na base húmida e na base seca, tendo obtido valores de 71.52 e 591.79 mg/100g, respectivamente. O último valor é que se aproxima ao valor obtido no presente trabalho, visto que foi determinado em condições similares, isto é, na base seca.

- **Actividade Antioxidativa Total (AAT)**

Na determinação da actividade antioxidante foram considerados dois métodos, os métodos de DPPH e o método de ABTS. Pérez-Jiménez et al. (2008) recomendam mais de um método ou todos os possíveis de se executar, para que seja possível adquirir mais informações sobre a capacidade antioxidante do alimento (De Souza, 2018). Além disso, a falta de padronização dos métodos de capacidade antioxidante limita as possibilidades de comparação entre dados publicados por diferentes grupos de pesquisas, principalmente pela expressão dos resultados em unidades de concentração distintas (Alvez, 2013). Por isso, e por causa da escassez de dados relacionados à capacidade antioxidante da fruta analisada, outras frutas foram utilizadas para comparação.

Em relação à capacidade de sequestro do radical DPPH foi obtido um valor médio de 562.44 ± 4.01 μ M Trolox/100g, valor dado pela soma das capacidades antioxidantes dos extractos hidrofílicos (308.36 ± 0.42 μ M Trolox/100g) e lipofílicos (254.08 ± 4.01 μ M Trolox/100g). Os resultados encontrados nesse trabalho pelo método de DPPH foram

maiores em relação aos valores obtidos por Baptista (2018), no seu estudo sobre extrato de folhas de caju, onde obteve um valor de 2.15 μM Trolox/mg (215.0 μM Trolox/100g) e maiores comparados aos valores encontrados por De Souza et al. (2018) para os sucos de caju (cajuína) 208.60 μM Trolox/ 100g.

Pelo método de ABTS foi obtido um valor médio de actividade antioxidante, relativamente maior em relação ao obtido pelo método de DPPH, de 756.92 ± 4.724 μM Trolox/100g. Este valor foi dado igualmente pela soma das capacidades antioxidantes dos extractos hidrofílico (322.46 ± 4.72 μM Trolox/g) e lipofílico (434.46 ± 3.95 μM Trolox/g). Andrade (2013) determinou antioxidantes na farinha do resíduo de caju pelo método de ABTS e obteve um valor de 750.69 μM Trolox/100g, um valor muito próximo ao valor obtido no presente trabalho.

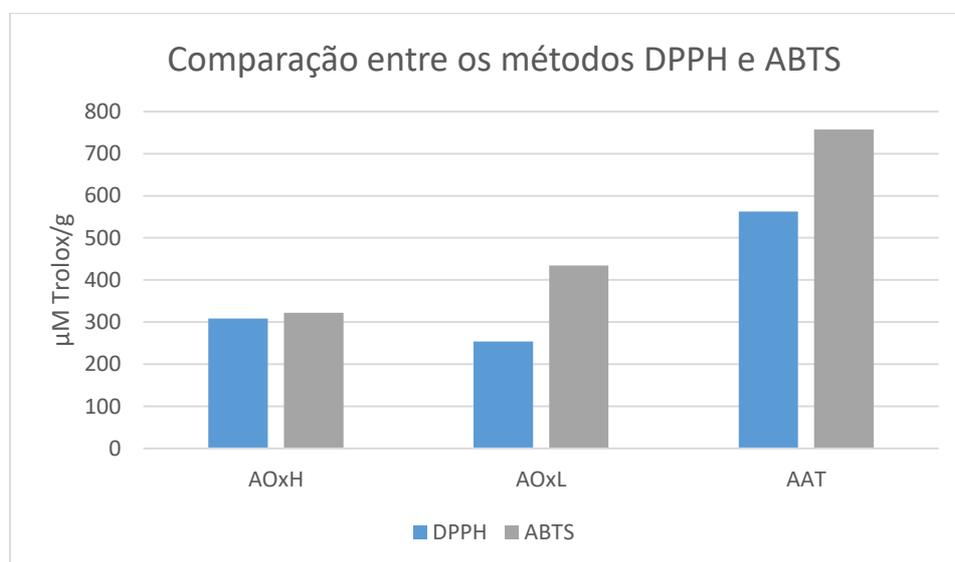


Figura 20: Comparação entre os métodos DPPH e ABTS.

Comparando os dois métodos, de acordo com a figura 20, percebe-se que no método de ABTS obteve-se melhores resultados em relação ao método de DPPH. Essa observação está de acordo com a literatura, pois, olhando para os valores obtidos por Baptista (2018), obteve maior valor para o método de ABTS (3.02 μM Trolox/mg) em relação ao valor obtido pelo método de DPPH (2.15 μM Trolox/mg). Em geral, as quantidades obtidas de actividade antioxidante são relevantes, e isso pode ser explicado pelas quantidades maiores de compostos fenólicos presentes no caju.

5. CONCLUSÕES

Chegado ao fim do presente estudo, que teve como objectivo estudar as características físico-químicas, determinar os compostos bioactivos e avaliar a actividade antioxidante de caju, conclui-se:

- Quanto as características físico-químicas estudadas, como a humidade, vitamina C, acidez, actividade de água apresentaram resultados satisfatórios, tendo como base os resultados apresentados na literatura;
- O caju é uma grande fonte de compostos bioactivos, apresentando valores relevantes de flavonóides amarelos, antocianinas, carotenóides, taninos, e rico em vitamina C (ácido ascórbico);
- Apesar de ter apresentado valores altos de compostos fenólicos totais, o caju não superou a laranja, que é uma das grandes fontes de vitamina C e uma referência no que diz respeito aos compostos fenólicos totais nas frutas;
- Através das análises de DPPH e ABTS, o pedúnculo de caju apresentou capacidade antioxidante com valores dentro dos intervalos encontrados na literatura;
- O caju é uma grande fonte de antioxidantes, apresentando valores relativamente maiores de actividade antioxidante total em comparação com a maioria das frutas;
- O método de ABTS foi mais eficaz na determinação de actividade antioxidante total comparado ao método de DPPH, tendo-se obtido valores melhores nesse método.

6. RECOMENDAÇÕES

Para trabalhos futuros, por forma a dar seguimento a presente pesquisa, recomenda-se:

- Estudar amostras de caju provenientes de vários pontos do país de modo a perceber-se a influência ambiental e climatérica sobre os frutos;
- Estudarm qualitativamente os compostos bioactivos presentes no caju;
- Estudar os processos de secagem e desidratação osmótica de caju.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Achkar, M.T.; Novaes, G.M.; Silva, M.J.D.; Vilegas, W. *Propriedade Antioxidante de Compostos Fenólicos: Importância na Dieta e na Conservação de Alimentos*. Vale do Rio Grande, 2013.
- Agostini-Costa, T.S.; Lima, A.; Lima, M.V. *Determinação dos Taninos em Pedúnculos de Caju: Método de Vanilina versus Método do Butanol Ácido*. *Quim. Npva*, vol. 26, No. 5, 763-765, 2003.
- Andrade, R.A.M.S. *Fitoquímicos e Bioativos e Potencial Antioxidante do Resíduo Agroindustrial do Pedúnculo de Caju (Anacardium occidentale L.)*. Recife, 2013.
- Alvez, M.S.O.; Alves, A.M.; Naves, M.M.V. *Compostos Bioativos e Actividade Antioxidante de Pseudofrutos de Caju Arbóreo do Cerrado*. São Paulo, 2013.
- Arnao, M.B., Cano, A.E Acosta, M. *Hydrophilic and lipophilic antioxidant activity changes during on-vine ripening of tomatoes (Lycopersicon esculentum Mill)*. *Postharvest Biology and Technology*, vol. 28, n. 1, p. 59–65, 2003.
- Baptista, A.B. *Extracto de Folhas de Caju (Anacardium occidentale L.) e Cajuí (Anacardium Microcarpum d.): Prospecção Fotoquímica, Actividade Antioxidante, Antimicrobiana e anti-inflamatória, in vitro e in vivo*. Universidade Federal de Viçosa, 2018.
- Barbosa, M.M. *Obtenção de carotenóides e flavonóides a partir do bagaço do Pedúnculo do Caju por Maceração Enzimática*, Fortaleza–CE, 2010.
- Barros, L.M.; Crisóstomo, J.R. *Melhoramento Genético do Cajueiro*. Embrapa/Agroindustrial Tropical-Fortaleza, 1995.
- Barretto, L.C.O. *Microencapsulamento de Compostos Fenólicos Extraídos de Resíduo do Processamento de Caju (Anacardium occidentale L.)*. Rio de Janeiro, 2015.
- Brasil, A.S.; Sigarini, K.S.; Pardino, F.C.; De Faria, R.Ap.G.; Siqueira, N.F,M,P. *Avaliação da Qualidade Físico-Química de Polpas de Frutas Comercializadas na Cidade Cuiabá-MT*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, São Paulo, 2016.
- Braverman, J. *Introdução a la Química de los Alimentos*. México. Omega. 1978.
- Borges, S.V.; Sousa, A.S.; Magalhaes, N.F.; Ricardo, H.V.; Azevedo, A.D. *Spray Dried Tomato Powder: Reconstitution Properties and Colour*. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 2, vol. 51, n. 4, p. 807–817, 2008.

- Braga, D.C. *Compostos Fenólicos Em Pedúnculos De Clones De Cajueiro E A Relação Com A Adstringência E Suas Subqualidades*. Fortaleza–CE, 2019.
- Broinizi P.R.B.; De Andrade-Wartha, E.R.S.; Silva, A.M.O. *Avaliação da Atividade Antioxidante dos Compostos Fenólicos Naturalmente Presentes em Subprodutos do Pseudofruto de Caju (Anacardium occidentale L.)*. Campinas, 2007.
- Calisto, M.; Sonia, M. *Avaliação Físico-química e Sensorial da Manga tommy aknis Submetida a Desidratação*, Londrina, 2013.
- Carneiro, M.V.D. *Enriquecimento Nutricional do Bagaço do Pedúnculo do Caju com Saccharomyces cerevisiae nas Dietas de Codorna*. Campina Grande – PB, 2013.
- Carrenho, P.R.B. *Caracterização Físico-química, Microbiológica e Compostos Bioativos de Polpa de Caju no Processamento Industrial e Congelamento*. Sinop, 2018.
- Cavaco, J.K.D. *Caracterização Da Atividade Antioxidante De Sumos Verdes Comerciais E Os Seus Equivalentes Manufaturados, Ao Longo Do Tempo*. Rio de Janeiro 2017.
- Celestino, S.M.C. *Princípios de Secagem de Alimentos*. Embrapa Cerrados-Planaltina DF, 2010.
- Costa, F.F. *Avaliação da composição em micronutrientes do tomate consoante a variedade e modo de colheita*. Dissertação (Mestrado em Nutrição Clínica). Universidade de Coimbra, 2009.
- Costa, T.; Jorge, N. *Compostos Bioactivos Presentes em Castanhas e Nozes*. São Paulo-Brazil, 2011.
- Coutino, A. *Extração De Tanino Em Folhas, Sementes E Frutos Verdes De Cinamomo (Melia Azedarach L.) Com Diferentes Tipos De Solventes*. Campo Mourão, 2013.
- Coutinho, M.A.S.; Muzitano, M.F.; Costa, S.S. *Flavonóides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório*, *Revista Virtual de Química*, v. 1, nº 3, 2009.
- Covre, L. *Desidratação osmótica de carambolas*. Bahia-Brasil, 2013.
- Cunguara, B.O. *Sector Agrário em Moçambique: Análise Situacional, Constrangimentos e Oportunidades para o Crescimento Agrário*. Maputo, 2011.
- D'archivio, M.; Filesi, B.R.D.; Gargiulo, R.; Giovannini, C.; Masella, R. *Polyphenols, dietary sources and bioavailability*. Istituto Superiore di Sanità, 2007.

- Da Silveira, M.R.S.; Oster, A.H.; Moura, C.F.H. *Protocolos para Avaliação das Características Físicas e Físico-Químicas, dos Compostos Bioativos e Atividade Antioxidante do Pedúnculo do Caju*. Fortaleza–CE, 2018.
- De Moraes, F.L. *Carotenóides: Características Biológicas e Químicas*. Brasília 2006.
- De Souza, A.V.B.; Junior, F.C.R.; Dos Santos, G.M. *Determinação do teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante da cajuína e do mel produzidos no estado do piauí – brasil*. Aracaju, 2018.
- Diniz, S.N.C. *Vitaminas Antioxidantes, Carotenóides, Polifenóis e Envelhecimento*. Coibra, 2016.
- Dionisio, A.P.; Abreu, F.A.P., Brito, E.S. *Extrato Concentrado de Carotenoides Obtido da Fibra do Pedúnculo de Caju*. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza–CE, 2018.
- Ditchfield, C. *Estudo dos métodos para a medida da atividade de água*. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, 2000.
- Dos Santos, L.G. *Método De Difusão Radial: Validação E Otimização Do Processo De Extração Para Doseamento De Taninos De Espécies Medicinais Da Caatinga*. Recife, 2012.
- Faustino S.; Rui C., *Processos Emergentes de Produção e Conservação de Alimentos*, Algarve, 2013.
- FBB–Fundo Banco Brasil. *Fruticultura–Caju*. Brasília, 2010
- Ferrari, A.A. *Caracterização química de tomates (*Lycopersicon esculentum* Mill) empregando análise por ativação neutrônica instrumental*. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo, 2008.
- Ferreira, J.E.M. *Estabilidade de carotenóides, flavonóides e vitamina C em alimentos submetidos às tecnologias emergentes de processamento*. Campinas–SP, 2011.
- Ferreira, A.L. *Extração e Quantificação de Antocianina em Fruta e Polpa de Morango*. Assis, 2014.
- Ferreira, L.B; Duarte, A.B.; Martins, J.C.; Ferreira, A.F.; Mizobutsi, G.P. *Caracterização Físico-Química de Frutos de Umbuzeiro (*Spondias buterosa* Arr.Câm.) de Janaúba-MG*. Arracujo, Brasil, 2015.
- Filho, E.D.S.; Araújo, G.S.; Braz, A.S.; Paz, J.G.H *Caracterização Físico-química e Física das Polpas Congeladas de Caju (*Anacardium occidentale* L) Comercializadas no Município de Campina Grande-PB*. Campina Grande – PB, 2013.

- Filho, W.L.G.S., *Características Físicas e Químicas de Caju (Anacardium Occidentale)*, João Pessoa, 2016.
- Frei, V.V.M.; Peixinho, D.M.; Sousa, M.S. *A Produção De Caju E A Dinâmica Socioespacial No Distrito De Angoche, Nampula, Moçambique*. Umberlândia-MG, 2012.
- Freire, F.C.O.; Dantas, J.D.P.; Alvez, C.R.; Guedes, M.I.F. *Desenvolvimento e Eficiência de um Fungicida Triazol a Partir do Líquido da Casca de Caju (LCC) do Cajueiro*. Comunicado Técnico-Fortaleza CE, 2011.
- Freitas, M.C., *Estudo de desidratação osmótica como pré-tratamento à secagem de manga Tommy Atkins*. Belo Horizonte, 2009.
- Francisco, A.A.S.; Barrenho, E. *Inicitiva Mais caju em Moçambique: Desafio e Visão*. Maputo, 2008.
- Gadelha, A.J.F.; Da Rocha, C.O.; Vieira, F.F. *Avaliação dos Parâmetros de Qualidade Físico-químicos de Polpas de Abacaxi, Acerola, Cajá e Caju*. Resista Caatinga vol. 22, Mossoró-Brasil, 2009.
- Gazula, A.; Kleinhenz, M.D.; Scheerens J.C.; Ling, P.P. *Anthocyanin Levels in Nine Lettuce (Lactuca sativa) Cultivars: Influence of Planting Date and Relations among Analytic, Instrumented, and Visual Assessments of Color*. Ohio, 2007.
- Goula, A.M., Karapantsios, T.D., Achilias, D.S. E Adamopoulos, K.G. *Water sorption isotherms and glass transition temperature of spray dried tomato pulp*. Journal of Food Engineering, vol. 85, n. 1, p. 73–83, 2008.
- Harbone, J.B.; Grayer, R.J. *The Anthocyanins*. Chapman & Hall, Cambridge, 1988.
- Hassimoto, N.A.H. *Actividade Antioxidante de Vegetais. Estrutura e Estudo da Biodisponibilidade de antocianinas de Amora Silvestre (Marus sp.)*. São Paulo, 2005.
- IAL. *Metodos Fisico-Quimicos Para Analise De Alimentos*. 4.A Ed. Editado Por O. Zenebon, N. S. Pascuet, E P. Tiglea. Sao Paulo, 2008.
- Instituto Adolfo Lutz. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos*, 1ª Edição Digital, SP 2008.
- Lima, A.R.C.; Santos, F.S.S.; Figueredo, R.M.F. *Elaboração e Caracterização Físico-química de Suco misto de Caju com Seterraba*. Brasil, 2017.
- Lopes, M.M.A.; Moura, C.F.H., Aragão, F.A.; Alvez, R.E.; Silva, E.O. *Caracterização Física, Compostos Bioativos e Atividade Antioxidante Total de Pedúnculos de Caju (Anacardium occidentale L.) Durante o Amadurecimento de Clones de Cajueiro Anão-precoce*. Fortaleza–CE, 2011.

- Lovatto, M.O. *Análise Fitoquímica E Atividade Farmacológica In Vitro E In Vivo DE Schinus Molle L.* Santa Maria–RS, 2019.
- Luz, R.G.L.P. *Bioacessibilidade, Identificação de Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante in vitro do Suco de Caju (Anacardium occidentale L.) Clarificado (cajuína).* Teresina – PI, 2019.
- Machado, H.; Nagem, T.J.; Peters, V.M.; Fonseca, C.S.; Oliveira, T.T. *Flavonóides e seu potencial terapêutico. Boletim do Centro de Biologia da Reprodução.* Juiz de Fora, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, 2008.
- Maia, G.A.; Soares, J.B. *Gradientes de acidez, açúcares e ácido ascórbico no caju.* Bol. Cear. Agron., Fortaleza, v.11, p.25-29, 1970.
- Maia, G.A.; Machado, P.H.; Lima, A.S. *Processamento de Sucos de Frutas Tropicais.* Fortaleza, 2007.
- Maia, G.A.; Filho, M.S.M.S.; De Figueiredo, R.W.; Brasil, I.M. *Caracterização Química de Pedúnculos de Diferentes Clones de Cajueiro Anão Precoces (Anacardium occidentale, L.).* Fortaleza, 2004.
- Marques, L.F. *Processamento do pedúnculo do caju em avançado estágio de maturação: Desidratação osmótica e secagem para elaboração de passas de caju.* Campina Grande, 2006.
- Mendes, Liana M.R. *Isolamento Bioguiado dos Compostos Adstringentes do Pedúnculo de Caju.* Fortaleza, 2019.
- Mezaroba, M.E.P.C. *Extração de Antocianina de Casca de Uva Isabel.* Florianópolis, 2001.
- Moura, C.F.H.; Alves, R.E.; Innecco, R.; Filgueiras H.A.C., Mosca, J.L.; Pinto, S.A.A. *Características Físicas de Pedúnculos de Cajueiros Para a Comercialização in natura.* Fortaleza-CE, 2001.
- Moraes, F.P. *Polpa Desidratada de Caju Amarelo (Anacardium occidentale L), por Otimização em spray dryer, Caracterização Físico-Química, Bioativa, Estudo da Vida de Prateleira do Produto.* Natal, 2014.
- Oliveira, D. da S. *Nova Metodologia para Extração de Compostos Fenólicos de Vinho Tinto e Avaliação da Estabilidade dos Extratos Obtidos Viçosa.* Minas Gerais – Brasil, 2014A.
- Oliveira, T.C.S. *Principais Compostos Bioativos e Capacidade Antioxidante na Polpa do Camu-camu (Myrciaria dubia) em Diferentes Estádios de Maturação.* Belém–Pará, 2014B.

- Paiva F.F.A.; Garrutti, D.S.; Neto, R.M.S. da. *Aproveitamento Industrial de Caju*. Sabrae/CE, 2000.
- Paiva, A.; Francisco, F. *Processamento do Pedúnculo de Caju Doce de Caju em Calda*, Fortaleza, 2010.
- Parruque, E.D. *Efeito Da Secagem Por Atomização Do Tomate Nas Propriedades Antioxidantes E Reconstituição Do Pó*. UEM-Maputo, 2018.
- Pérez-Jiménez, J.; Arranz, S.; Taberner, M.; Díaz-Rubio, V.M.E.; Serrano, J.; Goñi, I. *Updated Methodology to Determine Antioxidant Capacity in Plant Foods and Beverages: Extraction, Measurement and Expression of Results*. Food Research International, 2008.
- Pinho, L.X. *Aproveitamento do Resíduo do Pedúnculo de Caju (Anacardium occidentale L.) Para Alimentação Humana*. Fortaleza, 2009.
- Potter, N. N. *Ciencia de los Alimentos*, Edutex, Mexico, 1973.
- Quirino, E.C.G. *Obtenção da Farinha do Pedúnculo de Caju e Seu Emprego na Formação de Bolos Rico em Fibras*, João-Pessoa PB, 2019.
- Ribeiro, C.S.P. *Determinação Espectofotométrica De Flavonóides Totais Presente Nas Folhas De Arruda (Ruta graveolens L)*. Assis, 2014.
- Ribeiro, E.P.; Seravalli, E.A.G. *Química dos Alimentos*. 2ª edição, São Paulo: Edgar Bllucher, 2007.
- Rocha, W.S.; Lopes, R.M.; Da Silva, D.B.; Vieira, R.F.; Da Silva, J.P.; Agostini-Costa, T.S. *Compostos Fenólicos Totais e Taninos Condensados Em Frutas Nativas De Cerrado*. Brasília-Df, 2011.
- Rodrigues, F., Maria, A.E. *Estudo de um pré-tratamento ao processo de secagem convencional por desidratação osmótica, no âmbito da valorização de maçã de baixo calibre*, Santém 2017.
- Rufino, M.S.M.; Alves, R.E.; De Brito, E.S.; De Moraes, S.M.; Sampaio, C.G.; Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F.D. *Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH e ABTS*, Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007.
- Rufino, M.S.M.; Alves, R.E.; De Brito, E.S.; De Moraes, S.M.; Sampaio, C.G.; Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F.D. *Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of 18 non-tradicional Tropical Fruits From Brazil*. Food Science, 2010.
- Serrano, L.A., Pessoa, P. P. F. *Sistemas de Produção de caju*, 2017.

- Sinai, M. J. *Estudo Comparativo do Efeito da Desidratação Osmótica e do Branqueamento e Avaliação das Características de Rehidratação na Secagem Convectiva do Fruto da Cacana (Momordica balsamina, L)*, Maputo-UEM. 2021.
- Silva, M.L.C.; Costa, R.S.; Santana, A.S.; Koblitz, M.G.B. *Compostos Fenólicos, Carotenóides e Atividade Antioxidante Em Produtos Vegetais*. Ciências Agrárias, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010.
- Souza, A.C.P. *Exctração de Compostos Fenólicos de Subprodutos do Processamento Sementes de Girassol*. Porto Alegre, 2013.
- Souza, C.N. *Características Físicas, Físico-químicas e Químicas de Três Tipos de Janipapos (Genipa americana L.)*. Ilhéus–Bahia, 2007.
- Soares, C.A. *Validação do Método Fast Blue BB para Quantificação de Compostos Fenólicos Totais em Alimentos*. Porto Alegre, 2015.
- Ussavene Jr, M. *Determinação dos Compostos Fenólicos nas Cascas de Citrus sinensis e Mangiferina indica*. Maputo, 2014.
- Tiveron, Ana P. *Actividade Antioxidante e Composição Fenólica de Legumes e Verduras Consumidas no Brasil*. Piracicaba, 2010.
- Vicente, E.M.N.S. *Quantificação e classificação do teor de antocianinas e suas actividades biológicas em três variedades de Hibiscus rosa-sinensis L*. Algarve, 2018
- Williams, C.A., Harborne, J.B. *Advances in Flavonoid Research since 1992*. Reading–UK, 2000.
- Xavier, M.F. *Estudo da extração de antocianinas em Colunas Recheadas*. Florianópolis, 2004.

Apêndices

APÊNDICE 1: Resultados das propriedades físicas

A seguir são apresentadas as tabelas de todos os resultados das propriedades físicas de caju estudadas no presente tabalho.

Tabela A1.1 – Resultados do peso de caju

Fruto	Peso do caju inteiro (PT) [g]	Peso do pedúnculo (PP) [g]	Peso da castanha (PC) [g]	% (PP/PT)	% (PC/PT)
1	94.63	86.66	7.97	91.58	8.42
2	109.38	102.34	7.03	93.57	6.43
3	74.24	68.28	5.96	91.97	8.03
4	82.22	76.25	5.97	92.73	7.27
5	117.26	109.06	8.20	93.01	6.99
6	81.03	73.50	7.53	90.71	9.29
7	77.15	71.00	6.15	92.03	7.97
8	65.85	59.75	6.10	90.73	9.27
9	147.87	138.39	9.49	93.58	6.42
10	80.64	74.02	6.61	91.80	8.20
11	92.96	85.95	7.02	92.45	7.55
12	68.31	62.75	5.56	91.86	8.14
13	117.72	109.26	8.46	92.81	7.19
14	84.78	77.01	7.78	90.83	9.17
15	74.17	67.73	6.44	91.31	8.69
16	84.68	77.02	7.66	90.95	9.05
17	71.36	65.37	5.99	91.60	8.40
18	85.69	79.77	5.92	93.09	6.91
19	115.83	108.53	7.30	93.70	6.30
20	97.74	91.07	6.67	93.17	6.83
21	84.52	76.81	7.71	90.88	9.12
22	108.93	97.22	11.71	89.25	10.75
23	81.42	74.56	6.86	91.58	8.42
24	74.26	68.12	6.14	91.74	8.26
Média (n=24)	90.527	83.351	7.176	91.956	8.044
Desvio padrão	19.853	18.921	1.372	1.112	1.112

Tabela A1.2 – Resultados das dimensões de caju (diâmetro e comprimento), do volume e da densidade

Fruto	Diâmetro (cm)				Comprimento Longitudinal (cm)	Volume (mL)	Densidade (g/mL)
	Basal	Central	Apical	Médio			
1	40.41	49.73	51.87	47.34	56.73	100	0.95
2	42.53	52.45	56.49	50.49	69.22	100	1.09
3	37.11	45.71	49.13	43.98	59.67	75	0.99
4	47.78	55.27	56.43	53.16	48.88	80	1.03
5	46.04	53.08	53.41	50.84	59.18	85	1.38
6	33.83	49.89	50.51	44.74	63.93	80	1.01
7	34.83	46.79	47.86	43.16	62.27	75	1.03
8	31.33	41.80	43.13	38.75	54.75	70	0.94
9	50.10	57.86	59.26	55.74	62.2	85	1.74
10	39.36	48.79	50.41	46.19	57.44	80	1.01
11	47.36	56.22	55.98	53.19	48.63	100	0.93
12	37.58	45.66	46.09	43.11	51.6	70	0.98
13	53.13	54.40	57.89	55.14	48.87	85	1.38
14	40.42	53.85	53.30	49.19	52.98	90	0.94
15	32.56	44.41	44.96	40.64	55.58	75	0.90
16	34.47	42.28	49.50	42.08	61.15	85	1.00
17	33.53	50.03	51.76	45.11	60.18	70	0.93
18	38.26	47.61	51.60	45.82	61.06	85	1.01
19	49.90	56.01	59.14	55.02	50.64	120	0.97
20	36.88	46.96	48.41	44.08	68.5	100	0.98
21	46.48	49.15	50.99	48.87	54.54	90	0.85
22	47.28	56.71	56.83	53.61	52.87	115	0.95
23	41.58	49.15	51.52	47.42	61.81	80	1.02
24	34.40	46.74	46.79	42.64	60.11	75	0.99
Média (n=24)	40.71	50.023	51.803	47.513	57.616	86.250	1.041
Desvio padrão	6.400	4.631	4.478	4.960	5.831	13.533	0.194

Tabela A1.3 – Resultados do rendimento de caju

Rendimento					
Peso (g)	A	B	C	Média	Desvio Padrão
Pedúnculo	628.66	704.53	580.97	638.05	62.31
Bagaço	199.97	275.83	161.34	212.38	58.244
Polpa	428.68	428.69	419.62	425.66	5.23

APÊNDICE 2: Resultados das propriedades físico-químicas de caju

A seguir são apresentadas as tabelas de todos os resultados das propriedades físico-químicas de caju estudadas no presente trabalho.

Tabela A2.1 – Resultados de Humidade

Amostra	réplica	Placa vazia (g)	Amostra húmida (g)	Placa + Amostra seca (g)	Placa + Amostra húmida (g)	Amostra seca (g)	Humidade (%)
1 a 8	1	50.99	3.03	51.49	54.03	0.50	83.63
	2	52.38	3.03	52.88	55.41	0.50	83.48
	3	23.59	3.08	24.10	26.67	0.51	83.51
Média A							83.54
8 a 16	1	50.66	3.06	51.12	53.72	0.46	85.09
	2	50.39	3.03	50.89	53.42	0.50	83.43
	3	22.70	3.06	23.16	25.75	0.46	84.86
Média B							84.46
17 a 24	1	22.93	3.02	23.43	25.96	0.50	83.53
	2	22.80	3.17	23.34	25.98	0.54	83.13
	3	22.86	3.14	23.29	26.00	0.43	86.24
Média C							84.30
Média (n=3)							84.10
Desvio padrão							0.49

Tabela A2.2 – Resultados da actividade de água

Actividade da água (a_w)		
Amostra	Réplica	a_w
1 a 8	1	0.908
	2	0.913
	3	0.929
Média A		0.917
9 a 16	1	0.931
	2	0.934
	3	0.938
Média B		0.934
17 a 24	1	0.938
	2	0.941
	3	0.94
Média C		0.940
Media (n=3)		0.930
Desvio padrão		0.012

Tabela A2.3 – Resultados de acidez total titulável

Amostra	réplica	Peso (amostra)	Volume (titulante)	Acidez %
1 a 8	1	5	4	0.800
	2	5	3.7	0.740
	3	5	3.8	0.760
Média A				0.767
9 a 16	1	5	2.5	0.500
	2	5	2.7	0.540
	3	5	2.4	0.480
Média B				0.507
17 a 24	1	5	2.3	0.460
	2	5	2.2	0.440
	3	5	2.2	0.440
Média C				0.447
Média (n=3)				0.573
Desvio padrão				0.170

Tabela A2.4 – Resultados de sólidos solúveis totais (SST)

Amostra	ND	oBrx	Brx-Tc	Temperatura (°C)
1 a 8	1.3516	12.4	13.0	28.1
	1.3516	12.4	13.0	28.1
	1.3516	12.4	13.0	28.1
Média A	1.35	12.40	13.00	28.10
9 a 16	1.3508	11.9	12.5	28.1
	1.3509	12.0	12.6	28.1
	1.3508	12.0	12.6	28.1
Média B	1.35	11.97	12.57	28.10
17 a 24	1.3509	12.0	12.6	28
	1.3509	12.0	12.6	228.2
	1.3513	12.2	12.6	28.1
Média C	1.35	12.07	12.60	94.77
Media (n=3)	1.35	12.15	12.73	46.28
Desvio padrão	0.00	0.23	0.24	38.49

Tabela A2.5 – Resultados dos parâmetros da cor da polpa

Amostra		L médio	a médio	b médio
1 a 8	1	44.60	2.83	28.03
	2	42.43	4.50	28.87
	3	47.45	6.30	32.00
Média A		44.83	4.54	29.63
9 a 16	1	38.77	3.10	27.90
	2	42.63	2.83	32.10
	3	48.60	2.60	30.95
Média B		43.33	2.84	30.32
17 a 24	1	46.60	2.83	29.17
	2	41.87	3.90	28.33
	3	38.65	2.15	26.15
Média C		42.37	2.96	27.88
Média n = 3		43.51	3.45	29.28
Desvio padrão		1.24	0.95	1.26

Tabela A2.5 – Resultados dos parâmetros da cor da película (fora)

Amostra		L médio	a médio	b médio
1 a 8	1	47.00	18.03	38.00
	2	44.50	17.57	35.47
	3	43.20	15.70	37.55
Média A		44.90	17.10	37.01
9 a 16	1	44.90	14.20	37.50
	2	44.37	14.87	40.40
	3	45.55	16.10	35.25
Média B		44.94	15.06	37.72
17 a 24	1	45.53	15.93	38.33
	2	44.17	12.93	37.80
	3	43.65	14.75	38.55
Média C		44.45	14.54	38.23
Média (n = 3)		44.76	15.56	37.65
Desvio padrão		0.27	1.35	0.61

APÊNDICE 3: Resultados das propriedades Bioactivas

A seguir são apresentadas as tabelas de todos os resultados das propriedades bioactivas de caju estudadas no presente trabalho.

Tabela A3.1 – Resultados dos flavonóides amarelos

Amostra	Réplica	Absorvância	Flavonóides (mg/100g)
A	1	1.4397	93.975
	2	1.4176	92.533
	3	1.309	85.444
Média A		1.389	90.651
B	1	1.5526	101.345
	2	1.475	96.279
	3	1.3914	90.822
Média B		1.473	96.149
C	1	1.5372	100.339
	2	1.3899	90.725
	3	1.2864	83.969
Média C		1.404	91.678
Média (n=3)			92.826
Desvio padrão			2.387

Tabela A3.2 – Resultados das antocianinas

Amostra	Réplica	Absorvância	Antocianinas (mg/100g)
A	1	0.8378	42.658
	2	0.8053	41.003
	3	0.7638	38.890
Média A		0.802	40.850
B	1	1.2506	63.676
	2	0.8221	41.858
	3	0.8077	41.125
Média B		0.960	48.887
C	1	0.9006	45.855
	2	0.8363	42.581
	3	0.6921	35.239
Média C		0.809	41.225
Média (n=3)			43.654

Desvio padrão	3.703
----------------------	--------------

Tabela A3.3 – Resultados dos Carotenóides

Amostra	Réplica	Absorvância	Carotenóides (mg/100g)
A	1	1.1067	10.815
	2	0.9523	9.306
	3	0.8706	8.508
Média A		0.976	9.543
B	1	0.7089	6.928
	2	0.8496	8.303
	3	0.7179	7.016
Média B		0.759	7.415
C	1	0.7895	7.715
	2	0.7494	7.324
	3	0.7496	7.325
Média C		0.762	7.455
Média (n=3)			8.138
Desvio padrão			0.994

Tabela A3.4 – Resultados dos Taninos

Amostra	Réplica	Absorvância	Taninos (mg/100g)
A	1	0.4165	296.370
	2	0.4576	330.281
	3	0.4077	289.109
Média A		0.427	305.253
B	1	0.3473	239.274
	2	0.3178	214.934
	3	0.5168	379.125
Média B		0.393	277.778
C	1	0.4389	314.851
	2	0.4151	295.215
	3	0.3854	270.710
Média C		0.413	293.591
Média (n=3)			292.208
Desvio padrão			11.259

Tabela A3.5 – Resultados dos Compostos Fenólicos Totais

Branco (Metanol)						
Absorvância a 725 nm						
Amostra	A	B	C	D	E	F
1	0.9864	1.0035	1.0091	0.9821	0.9706	1.0044
2	0.6001	0.0579	0.7914	0.7411	0.8177	0.7914
3	0.5694	0.5276	0.5346	0.512	0.4625	0.4502
Média	752.0627063	694.5819582	704.2079	673.1298	605.0605	588.1463
CFT (mg EAG/100g)	669.531					
Desvio padrão	62.344					

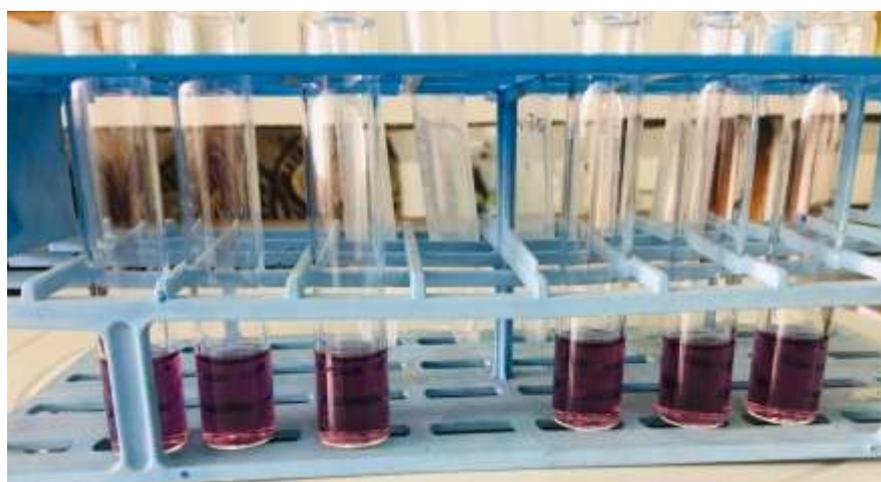


Figura A3.1 – Determinação dos compostos fenólicos

Tabela A3.5 – Resultados da Vitamina C

Vitamina C (ácido ascórbico)				
Amostra	réplica	Peso (amostra)	Volume titulante	Acido ascórbico (mg/100g)
1 a 8	1	5	2.6	45.791
	2	5	2.8	49.314
	3	5	2.8	49.314
Média A				48.139
9 a 16	1	5	1.8	31.702
	2	5	1.8	31.702
	3	5	1.8	31.702
Média B				31.702

17 a 24	1	5	2.1	36.985
	2	5	2	35.224
	3	5	2	35.224
Média C				35.811
Média (n=3)				38.551
Desvio padrão				8.555

APÊNDICE 4: Resultados das propriedades Antioxidantes

A seguir são apresentadas as tabelas dos resultados das propriedades antioxidantes do caju.

Tabela A4.1 – Resultados da Actividade Antioxidante Total Hidrofílica pelo método de DPPH

DPPH hidrofílico				Outros dados	
Branco (Metanol)				Branco	DPPH
Absorvância a 515 nm				0.0489	1.1202
Amostra	A	B	C	A	-0.0014
1	0.1013	0.0993	0.093	B	0.959
2	0.0895	0.0877	0.1057	m (g)	5
3	0.0911	0.0909	0.0981	V (ml)	20
4	0.0994	0.0957	0.0976	FD	1
5	0.0968	0.1014	0.1059		
6	0.097	0.0956	0.0998		
7	0.0969	0.0946	0.0953		
ΔDPPH	1.0233	1.0256	1.0249	Média	Desvio Padrão
AOxH (μM Trolox/g)	307.892	308.714	308.464	308.357	0.421

Tabela A4.2 – Resultados da Actividade Antioxidante Total Lipofílica pelo método de DPPH

DPPH lipofílico				Outros dados	
Branco (Dicloroetano)				Branco	DPPH
Absorvância a 515 nm				0.0307	1.202
Amostra	A	B	C	a	-0.0012
1	0.777	0.7991	0.816	b	1.2538
2	0.7506	0.7319	0.723	m (g)	5
3	0.7414	0.723	0.7144	V (ml)	20
4	0.7091	0.6996	0.7156	FD	1
5	0.6434	0.6539	0.6347		
ΔDPPH	0.5586	0.5481	0.5673	MEDIA	DESVIO Padrão
AOxL (μM Trolox/g)	254.333	249.958	257.958	254.083	4.005
AATotal (DPPH)				562.440	4.005

Tabela A4.3 – Resultados da Actividade Antioxidante Total Hidrofílica pelo método de ABTS

Amostra	ABTS hidrofílico			Outos dados	
	Branco (Metanol)			Branco	ABTS
	Absorvância a 734 nm			0.0403	1.1201
	A	B	C	a	-0.0014
1	0.0718	0.0512	0.079	b	0.959
2	0.0697	0.0476	0.0764	m (g)	5
3	0.0637	0.0446	0.0723	V (ml)	20
4	0.0622	0.0435	0.0606	FD	1
5	0.0639	0.0431	0.0579		
6	0.0714	0.0437	0.0604		
7	0.0698	0.0434	0.0551		
ΔABTS	1.0503	1.0767	1.065	Média	Desvio Padrão
AOxH (μM Trolox/g)	317.571	327	322.821	322.464	4.724

Tabela A4.4 – Resultados da Actividade Antioxidante Total Lipofílica pelo método de ABTS

Amostra	ABTS lipofílico			Outos dados	
	Branco (Dicloroetano)			Branco	ABTS
	Absorvância a 734 nm			0.0307	1.1193
	A	B	C	A	-0.0012
1	0.539	0.5321	0.4937	B	1.2538
2	0.423	0.4575	0.3957	m (g)	5
3	0.3231	0.4308	0.3732	V (ml)	20
4	0.2594	0.261	0.3059	FD	1
5	0.1522	0.1363	0.2293		
6	0.0943	0.1099	0.1005		
7	0.0692	0.0873	0.0733		
ΔABTS	1.0501	1.032	1.046	Média	Desvio Padrão
AOxL (μM Trolox/g)	437.541	430	435.833	434.458	3.954
AATotal (ABTS)				756.922	4.724

APÊNDICE 5: Determinação de compostos fenólicos totais e dos Taninos

Protocolo analítico

A. Extração:

1. Homogeneizar em polytron 5 g de produto em 20 ml de MeOH (100%) e reservar o homogeneizado a 4° - 5 °C *overnight* (12 – 24 h);
2. Centrifugar o homogeneizado (4000 rpm x 10 min x 4 °C – ThermoScientific Heraus Megafuge 8, S/N: 721113070119, 2013, China);
3. Recuperar o sobrenadante (extracto metanólico)

B. Doseamento:

4. Diluir 150 µl do extracto metanólico (e 150 µl de MeOH 100%, correspondente ao branco da reacção) em 2400 µl H₂O destilada;
5. Adicionar 150 µl de 0.25 N reagente de Folin;
6. Agitar/misturar e incubar (i.e., permitir a reacção) durante 3 min;
7. Adicionar 300 µl de 1 N Na₂CO₃;
8. Agitar/misturar e incubar (i.e., permitir a reacção) durante 2 h no escuro;
9. Realizar as leituras espectrofotométricas a 725 nm

[NOTA: caso a $Abs_{725nm} > 0.600$, proceder à diluição do extracto metanólico (em 100% MeOH) e repetir o doseamento].

C. Calibração:

10. Preparar padrões de ácido gálico numa gama de concentrações entre 0.0 e 0.60 mg.ml⁻¹;
11. Proceder ao doseamento como descrito no ponto B.

D. Expressão dos resultados:

$$CFT \text{ (mg EAG.100 g}^{-1}\text{)} = \left(\frac{Abs_{725nm} - b}{m} \right) * \left(\frac{\text{volume ext fenólico}}{\text{peso amostra}} \right) * FD * 100$$

Em que:

CFT Conteúdo fenólico total expresso em mg de equivalentes a ácido gálico (EAG) por 100 g de produto

Abs725nm Valor de Abs a 725 nm obtido após o doseamento

B Ordenada na origem da recta de calibração do padrão de ácido gálico

M Declive da recta de calibração do padrão de ácido gálico

Volume ext fenólico volume de solvente [20 ml] + volume de amostra [2.5 g], em que se considera o volume da amostra equivalente à respectiva massa (assume-se $\rho = 1 \text{ g.ml}^{-1}$)

Peso amostra Toma inicial de amostra [2.5 g]

FD Factor de diluição no doseamento, caso necessário, isto é, usa-se 0.15 ml (150 μl ; FD=1) de extracto para a reacção, mas na eventualidade da $\text{Abs}_{725\text{nm}} > 0.600$, procede-se à respectiva diluição em MeOH.

Exp:

Diluir o extracto duas (1:1) vezes [0.075 ml de extracto + 0.075 ml de metanol] equivale a um FD de $(0.15/0.075) = 2$.

100 Factor multiplicativo para expressar o resultado por 100 g de produto.

E. Soluções necessárias

i. *Metanol (MeOH) a 100%*

ii. *0.25 N Reagente Folin-Ciocalteu (equivalente a uma diluição de 1:8, v:v)*

Diluir 12.5 ml de Reagente de Folin (comercialmente disponível na concentração de 2 N [Sigma]) em 100 ml de H₂O destilada. Esta solução é estável à temperatura ambiente por um período que não exceda 1 mês em condições de opacidade (preparar em vidro escuro ou proteger o balão com papel de prata).

iii. *1 N Na₂CO₃*;

Dissolver 5.29 g de Na₂CO₃ (anidro) em 100 ml de H₂O destilada. A solução é estável à temperatura ambiente.

Verificar se o Na_2CO_3 disponível é anidro [MM=105.98 g/mol], monohidratado [MM=124.00 g/mol] ou decahidratado [MM=286.14 g/mol] e refazer os cálculos da toma, caso necessário.

Para determinar a concentração 1 N:

1 N Na_2CO_3 significa que se pretende preparar uma solução de 1 equivalente grama (eq-g) por litro, logo é necessário determinar quanto de Na_2CO_3 , em massa, são 1 eq-g. O Na_2CO_3 tem dois equivalentes, duas cargas positivas e duas cargas negativas, logo:

2 eq-g correspondem a 105.98 g (MM) então 1 eq-g corresponde a x, com $x = [(1 \text{ eq-g} \times 105.98) / 2 \text{ eq-g}] = 52.99 \text{ g}$ de Na_2CO_3 por litro de solução.

iv. *Padrões de ácido gálico (AG) (teórico)*

a. Solução padrão Mãe na concentração de $0.600 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$:

Pesar 6 mg de ácido gálico e dissolver em 10 ml de MeOH

b. Soluções padrão na gama 0.004 – 0.600 mg/ml (seleccionar o aplicável):

Tabela A5.1 – Absorvâncias obtidas dos padrões de ácido gálico.

Padrão	Conc. de AG (mg/ml)	Absorvância 725 nm
1	0.004	0.0156
2	0.008	0.0175
3	0.01	0.0194
4	0.02	0.0249
5	0.03	0.0286
6	0.04	0.0309
7	0.075	0.0355
8	0.15	0.0408
9	0.225	0.0416
10	0.3	0.0523
11	0.45	0.0595
12	0.6	0.0769

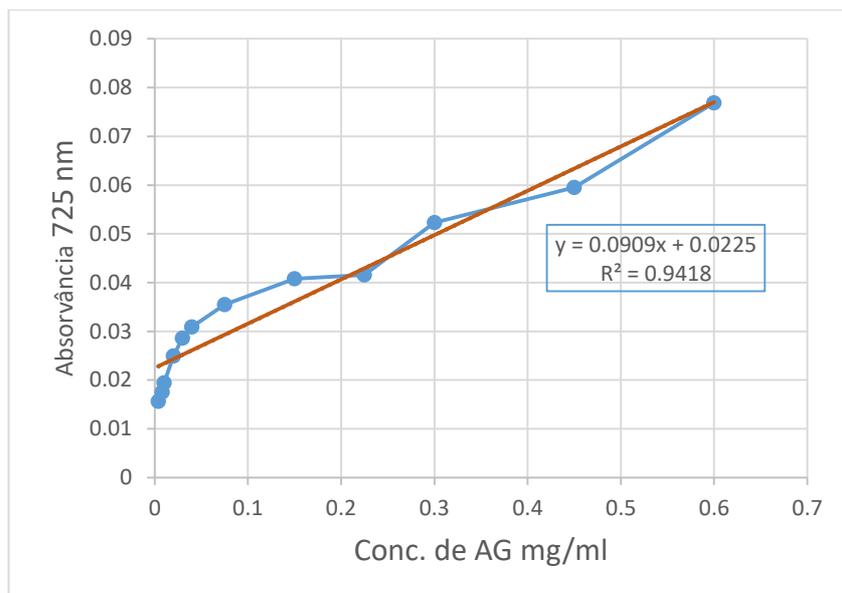


Figura A5.1 – Curva padrão do ácido gálico

Tabela A5.3 – Absorvâncias obtidas dos padrões de catequina

Padrao	Conc. da Catequina (mg/ml)	Absorvância 500 nm
1	5	0.0602
2	10	0.0658
3	25	0.0728
4	50	0.0872
5	75	0.1048
6	100	0.1229

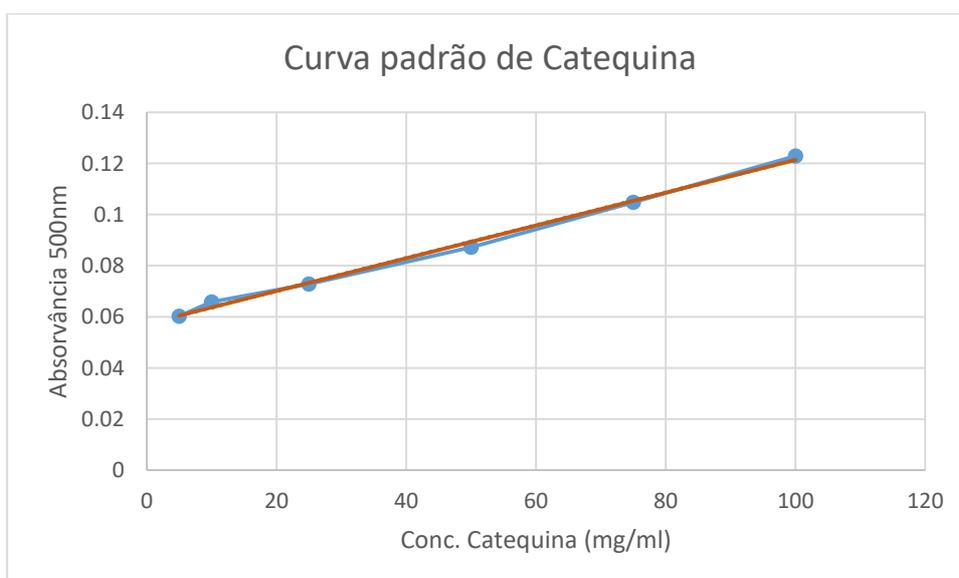


Figura A5.2 – Curva padrão de catequina

APÊNDICE 6: Determinação de actividade antioxidante total pelo DPPH

Protocolo analítico

A. Extração:

1. Pesar 5 g de produto e adicionar um dos seguintes solventes:
 - i. 20 ml de MeOH (100%) para a determinação da capacidade antioxidante hidrofílica;
 - ii. 20 ml de diclorometano (100%) para a determinação da capacidade antioxidante lipofílica;
2. Homogeneizar em polytron. Os extractos hidrofílicos deverão ser reservados a 4° - 5 °C overnight (12 – 24 h). Aos extractos lipofílicos dever-se-á permitir a separação de fases (poderá ser por centrifugação, como descrito no passo 3);
3. Centrifugar o homogeneizado hidrofílico (4000 rpm x 10 min x 4°C – ThermoScientific Heraus Megafuge 8, S/N: 721113070119, 2013, China) e recuperar o sobrenadante (extracto metanólico);

B. Doseamento:

4. Diluir uma alíquota de 150 µl do extracto aquoso ou orgânico (e 150 µl de MeOH ou diclorometano, correspondente ao branco da reacção para determinação do factor de correcção devida à diluição) em 2850 µl da solução DPPH de trabalho (DPPH_{working});

(Nota 1: os extractos podem ser analisados de imediato ou armazenados a -20 °C para análise posterior)

(Nota 2: Verificar se a DPPH_{working} apresenta uma Abs_{515nm} de 1.1 ± 0.02)
5. Incubar as misturas reactivas (temperatura ambiente) em condições de obscuridade;
6. Transferir a mistura reactiva para cuvettes de vidro e realizar as leituras espectrofotométricas a 515 nm periodicamente (intervalos de 30 min) até obter leituras sem diferenças significativas. Nesta situação atinge-se o “steady state”, tomando-se o valor de Abs final para o cálculo da capacidade antioxidante total.

(Nota: caso a Abs_{515nm} < 0,2, proceder à diluição do extracto no respectivo solvente e repetir o doseamento)

C. Calibração:

7. Preparar padrões de Trolox numa gama de concentrações entre 40 e 2000 µM;
8. Proceder ao doseamento como descrito no ponto B.

D. Expressão dos resultados:

9. Calcular o decréscimo na Abs acometida aos antioxidantes:

$$\Delta DPPH = Abs_{580nm} DPPH_d - Abs_{580nm} amostra$$

$\Delta DPPH$ representa o decréscimo da Abs pela acção dos antioxidantes;

$Abs_{580nm} DPPH_d$ representa a Abs da solução de trabalho de DPPH devida ao efeito de diluição introduzido pelo solvente (deverá rondar 1.03) e poderá variar durante o ensaio mas não mais do que 5%;

$Abs_{580nm} amostra$ representa a Abs da amostra após reacção.

10. Estimar a capacidade antioxidante, expressa em equivalentes de Trolox, por interpolação da respectiva curva de calibração:

$$AOx (\mu M \text{ equivalente Trolox} \cdot 100) = \left(\frac{\Delta DPPH - b}{m} \right) * \left(\frac{g \text{ amostra} + mL \text{ solvente}}{g \text{ amostra}} \right) * FD * 100$$

Em que:

Aox	Capacidade antioxidante, expressa em μM de equivalentes a Trolox por 100 g de produto
$\Delta DPPH$	decréscimo da Abs_{580nm} pela acção dos antioxidantes
B	Ordenada na origem da recta de calibração do padrão de Trolox
M	Declive da recta de calibração do padrão de Trolox
g amostra	Toma inicial de amostra [5 g]
mL solvente	Volume de solvente [20 ml]
FD	Factor de diluição no doseamento, caso necessário, isto é, usa-se 0.15 ml (150 μl ; FD=1) de extracto para a reacção, mas na eventualidade da $Abs_{515nm} < 0,200$, procede-se à respectiva diluição no solvente adequado. Exp: Diluir o extracto duas (ou mais) vezes [0.075 ml de extracto + 0.075 ml de solvente] equivale a um FD de $(0.15/0.075) = 2$.
100	Factor multiplicativo para expressar o resultado por 100 g de produto.

E. Soluções necessárias

- Metanol (MeOH) a 100% e/ou Diclorometano a 100%
- Solução-mãe de DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Dissolver 24 mg de DPPH em 100 ml de MeOH. Esta solução pode ser armazenada ao abrigo da luz a -20 °C por um período de uma semana.

iii. Solução de trabalho de DPPH (DPPH_{working})

A partir da solução-mãe DPPH (permitir que esteja à temperatura ambiente), tomar 10 ml e adicionar 45 ml MeOH. Verificar se a Abs_{515nm} é de 1.1 ± 0.02 (autozero do espectrofotômetro realizado com MeOH). Caso necessário, adicionar MeOH até obter a Abs exigida.

iv. Padrões de Trolox (teórico)

Solução padrão Mãe na concentração de 2 000 µM:

Dissolver 4 mg de Trolox em 8 ml de solvente (MeOH, no caso de AOx hidrofílica; Diclorometano, no caso de AOx lipofílica)

Tabela A6.1 – Absorvâncias obtidas nos padrões de Trolox hidrofílico

Solução	[TROLOX] (µM)	Absorvância de 515 nm
1	82	0.8301
2	123	0.7902
3	185	0.7097
4	278	0.5655
5	417	0.4297
6	625	0.0723
7	800	0.0562
8	1000	0.0364
9	1250	0.0293
10	2500	0.0192
11	5000	0.0274
12	10000	0.0231

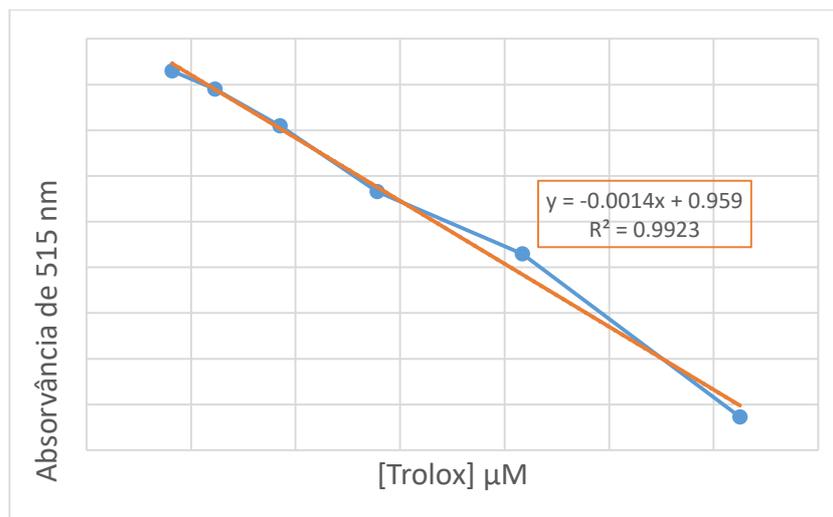


Figura A6.1 – Curva padrão Trolox Hidrofílico-DPPH

Tabela A6.2 – Absorvâncias obtidas nos padrões de Trolox lipofílico

Solução	[TROLOX] (μM)	Absorvância de 515 nm
1	82	1.3186
2	123	1.1275
3	185	0.9083
4	278	0.8641
5	417	0.7617
6	625	0.5202
7	800	0.2652
8	1000	0.1502
9	1250	0.0489
10	2500	0.0264
11	5000	0.0164
12	10000	0.0141

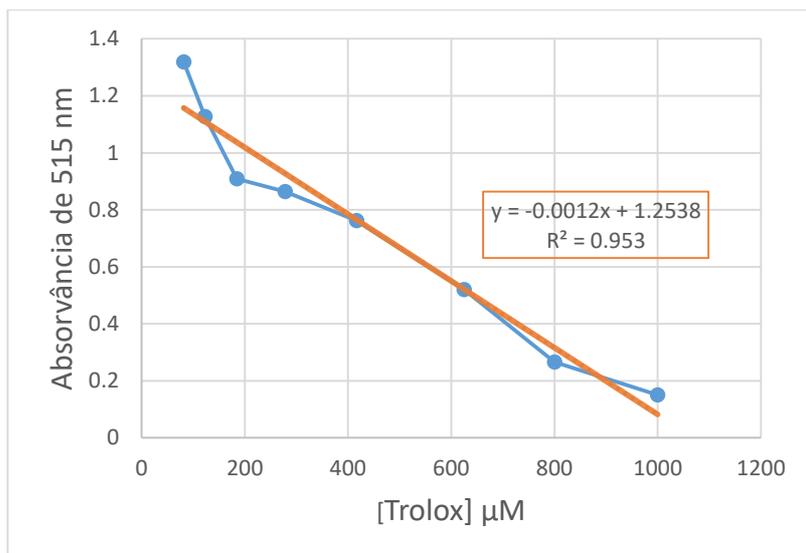


Figura A6.2 – Curva padrão Trolox Lipofílica-DPPH

APÊNDICE 7: Determinação de actividade antioxidante total ABTS

Protocolo analítico

A. Extracção: Aplica-se o procedimento usado para o método de DPPH.

B. Doseamento:

1. Diluir uma alíquota de 150 µl do extracto aquoso ou orgânico (e 150 µl de MeOH ou diclorometano, correspondente ao branco da reacção para determinação do factor de correcção devida à diluição) em 2850 µl da solução ABTS de trabalho ($ABTS_{working}$);

(Nota 1: os extractos podem ser analisados de imediato ou armazenados a -20 °C para análise posterior)

(Nota 2: Verificar se a $ABTS_{working}$ apresenta uma Abs_{734nm} de 1.1 ± 0.02)

2. Incubar as misturas reactivas (temperatura ambiente) em condições de obscuridade;
3. Transferir a mistura reactiva para cuvettes de vidro e realizar as leituras espectrofotométricas a 734 nm periodicamente (intervalos de 30 min) até obter leituras sem diferenças significativas. Nesta situação atinge-se o “steady state”, tomando-se o valor de Abs final para o cálculo da capacidade antioxidante total.

(Nota: caso a $Abs_{734nm} < 0,2$, proceder à diluição do extracto no respectivo solvente e repetir o doseamento)

C. Calibração:

4. Preparar padrões de Trolox numa gama de concentrações entre 40 e 2000 µM;
5. Proceder ao doseamento como descrito no ponto B.

D. Expressão dos resultados:

6. Calcular o decréscimo na Abs acometida aos antioxidantes:

$$\Delta ABTS = Abs_{734nm} ABTS_d - Abs_{734nm} amostra$$

$\Delta ABTS$ representa o decréscimo da Abs pela acção dos antioxidantes;

$Abs_{580nm} ABTS_d$ representa a Abs da solução de trabalho de ABTS devida ao efeito de diluição introduzido pelo solvente (deverá rondar 1.06) e poderá variar durante o ensaio mas não mais do que 5%;

$Abs_{580nm} amostra$ representa a Abs da amostra após reacção.

7. Estimar a capacidade antioxidante, expressa em equivalentes de Trolox, por interpolação da respectiva curva de calibração:

$$AOx (TEAC.100 g^{-1}) = \left(\frac{\Delta ABTS - b}{m} \right) * \left(\frac{g \text{ amostra} + mL \text{ solvente}}{g \text{ amostra}} \right) * FD * 100$$

Em que:

Aox	Capacidade antioxidante, expressa em μM de equivalentes a Trolox por 100 g de produto
$\Delta ABTS$	decréscimo da $Abs_{580\text{nm}}$ pela acção dos antioxidantes
B	Ordenada na origem da recta de calibração do padrão de Trolox
M	Declive da recta de calibração do padrão de Trolox
g amostra	Toma inicial de amostra [5 g]
mL solvente	Volume de solvente [20 ml]
FD	Factor de diluição no doseamento, caso necessário, isto é, usa-se 0.15 ml (150 μl ; FD=1) de extracto para a reacção, mas na eventualidade da $Abs_{734\text{nm}} < 0,200$, procede-se à respectiva diluição no solvente adequado. Exp: Diluir o extracto duas (ou mais) vezes [0.075 ml de extracto + 0.075 ml de solvente] equivale a um FD de $(0.15/0.075) = 2$.
100	Factor multiplicativo para expressar o resultado por 100 g de produto.

E. Soluções necessárias

- i. Metanol (MeOH) a 100% e/ou Diclorometano a 100%
- ii. Etanol (EtOH) a 100%
- iii. Solução-mãe de ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazilina-6-sulfonate))

Mistura equitativa do reagente A e B incubada overnight. A mistura tem uma validade reduzida (~16h), pelo que é necessário preparar diariamente.

Reagente A - Dissolver 78,4 mg de ABTS em 10 ml de água destilada. Esta solução pode ser armazenada ao abrigo da luz à temperatura ambiente por um período de uma semana.

Reagente B - Dissolver 26,4 mg de persulfato de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) em 20 ml de água destilada. Esta solução pode ser armazenada ao abrigo da luz à temperatura ambiente por um período de uma semana.

- iv. Solução de trabalho de ABTS*+ ($ABTS_{\text{working}}$)

A partir da solução-mãe ABTS, tomar 1 ml e adicionar 60 ml EtOH. Verificar se a $Abs_{734\text{nm}}$ é de 1.1 ± 0.02 (autozero do espectrofotómetro realizado com EtOH). Caso necessário, adicionar EtOH até obter a Abs exigida.

- v. Padrões de Trolox (teórico)

Solução padrão Mãe na concentração de 2000 µM:

Dissolver 4 mg de Trolox em 8 ml de solvente (MeOH, no caso de AOx hidrofílica; Diclorometano, no caso de AOx lipofílica)

Tabela A7.1 – Absorvâncias obtidas nos padrões de Trolox hidrofílico

Solução	[TROLOX] (µM)	Absorvância de 734 nm
1	82	0.8301
2	123	0.7902
3	185	0.7097
4	278	0.5655
5	417	0.4297
6	625	0.0723
7	800	0.0562
8	1000	0.0364
9	1250	0.0293
10	2500	0.0192
11	5000	0.0274
12	10000	0.0231

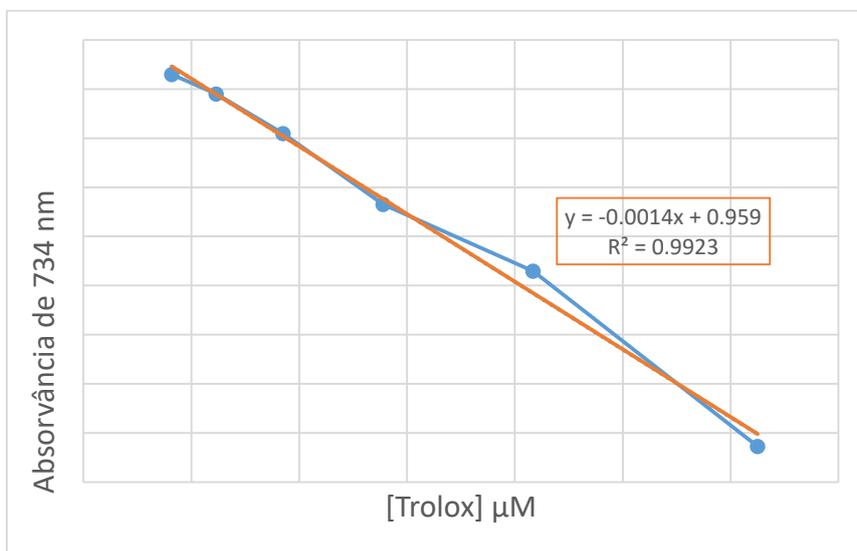


Figura A7.1 – Curva padrão Trolox Hidrofílica-ABTS

Tabela A7.2 – Absorvâncias obtidas nos padrões de Trolox lipofílico

Solução	[TROLOX] (μM)	Absorvância de 734 nm
1	82	1.3186
2	123	1.1275
3	185	0.9083
4	278	0.8641
5	417	0.7617
6	625	0.5202
7	800	0.2652
8	1000	0.1502
9	1250	0.0489
10	2500	0.0264
11	5000	0.0164
12	10000	0.0141

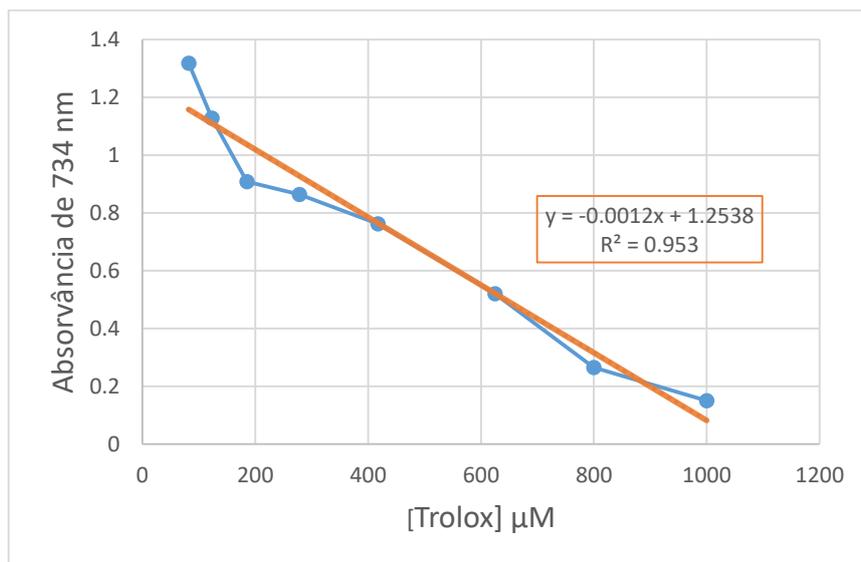


Figura A7.2 – Curva padrão Trolox Lipofílico-ABTS