



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS**



MARINA JUNQUEIRA DE ASSIS BURATTO
VICTÓRIA SANCHES PEREIRA GIMENEZ

Determinação dos melhores solventes para extração de compostos fenólicos em
alimentos utilizando o método de Folin-Ciocalteu: Revisão Bibliográfica

Limeira
2015



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS



MARINA JUNQUEIRA DE ASSIS BURATTO
VICTÓRIA SANCHES PEREIRA GIMENEZ

Determinação dos melhores solventes para extração de compostos fenólicos em alimentos utilizando o método de Folin-Ciocalteu: Revisão Bibliográfica

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Nutrição à Faculdade de Ciências Aplicadas da Universidade Estadual de Campinas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Caroline Capitani

Limeira
2015

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Aplicadas
Renata Eleuterio da Silva – CRB 8/9281

B89d

Buratto, Marina Junqueira de Assis, 1993-

Determinação dos melhores solventes para extração de compostos fenólicos em alimentos utilizando o método de Folin-Ciocalteau / Marina Junqueira de Assis, Victória Sanches Pereira Gimenez. - Limeira, SP: [s.n.], 2015.

Orientador: Carolina Dário Capitani.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Aplicadas

1. Capacidade antioxidante. 2. Compostos fenólicos. 3. Solventes. I. Gimenez, Victória Sanches Pereira, 1990-. II. Capitani, Caroline Dário, 1980-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Aplicadas. IV. Título.

Informações adicionais, complementares

Título em outro idioma: Determination of the best solvents for the extraction of phenolic compounds in food using Folin-Ciocalteau method: literature review

Palavras-chave em inglês:

Antioxidants capacity

Phenolic compounds

Solvents

Titulação: Bacharel em Nutrição

Banca examinadora:

Maurício Ariel Rostagno

Data de entrega do trabalho definitivo: 25-11-2015

AGRADECIMENTOS

Às pessoas mais importantes da minha vida: Meus pais Luciana e Fabio , e meu irmão Fernando. Não importa o quanto eu agradeça, nenhuma palavra de agradecimento chegará aos pés do que vocês fizeram por mim durante toda a minha vida. Para vocês eu dedico a minha felicidade, minha vitória e meu sucesso.

À minha mãe que nunca mediu esforços para que eu me sentisse em casa onde quer que eu estivesse; me apoiou nas minhas aventuras mais sem pé nem cabeça; passou dias em Limeira comigo em um cubículo mesmo sem ter nada pra fazer tentando me animar em todos os momentos; me ligou 5x por dia só pra saber como eu estava; me entendeu mesmo quando eu não tinha uma palavra se quer para falar e não me deixou duvidar nunca que estaria do meu lado pro que der e vier; me ensinou que quando a gente quer algo, pode ser que demore, mas que com fé sempre alcançamos. E me ensinou, principalmente, que para Deus nada é impossível.

Ao meu pai por todo o suporte emocional e financeiro; por ter aguentado minhas ligações chorando nos momentos de desespero antes das provas; por madrugar toda segunda-feira para que eu pudesse passar o domingo todinho em casa; pelas idas à Limeira para resolver pepinos ou me buscar; por todas as vezes em que deixou bem claro que a minha felicidade e conforto vinha em primeiro lugar; enfrentou trânsito e deixando suas obrigações e cansaço para depois para o meu descanso. Por ter feito com que minha única preocupação durante toda a faculdade fosse meus estudos, não deixando que nada pudesse interferir ou tirar meu foco.

Ao meu irmão que mesmo longe nunca deixou de acreditar em mim, muitas vezes mais que eu mesma; ao meu espelho, sangue do meu sangue, meu ``príncipe``, melhor amigo e pesadelo da minha vida. Ele consegue ser tudo e nada ao mesmo tempo, me dá carinho mas nunca deixa de puxar a minha orelha; tem uma força que eu chego a desacreditar em alguns momentos; sem ele, eu sei, os momentos de tristeza teriam sido muito piores e eu não teria conseguido acabar com os obstáculos tão facilmente.

Ao meu namorado, Gabriel, que me aguentou longe a semana inteira, em inúmeros episódios de estresse, choro, vontade de desistir e desabafos; e ainda assim, ficou do meu lado fazendo gracinha e tentando me animar com qualquer piada que fosse; passou horas do meu lado me ajudando em trabalhos e estudando

comigo nos finais de semana; não deixou que eu desanimasse diante de alguma dificuldade e me mostrou que a minha capacidade vai além da que eu imaginava.

Aos meus amigos, alguns hoje mais próximos que outros, que fizeram com que a dura jornada se tornasse mais leve desde quando abandonei tudo lá em 2011 para fazer o 3º colegial em outra cidade. Em especial à Camila Hidalgo e a Giovana Zaparoli que sempre entenderam a minha ausência e nem assim deixaram de torcer pela minha felicidade.

À minha parceira de TCC e de todos momentos da faculdade, Victória; que desde o início as diferenças de personalidade se completaram e nem os estresses causados pelo cansaço foram capaz de nos separar. À amizade irmandade construída e solidificada. À Mariana e a Mayara que por mais que tenham entrado na minha vida mais tarde, o tempo não faz delas menos importantes; todos os almoços, jantares, idas ao shopping, festas surpresas, brincadeiras e lamentações.... Cada uma com seu jeitinho, a Mariana sempre defensora dos animais e indignada com as injustiças, desinibida, mega comunicativa e amiga de todas; já a Mayara o oposto, meiga, tímida e mais reservada. No nosso grupo tem de tudo, loira, morena e ruiva, introvertida e extrovertida, calma e estressada e por ai vai.... nada disso faz diferença quando se tem carinho, amor e companheirismo. Vocês foram minha família e meu alicerce meninas, sem vocês eu não teria conseguido!

À minha professora e orientadora Caroline Capitani, peça fundamental nesse quebra-cabeça, por toda paciência, suporte e disponibilidade que foram essências nesse período.

Por último, mas não menos importante, à DEUS, por ter colocado anjos na minha vida e iluminado meu caminho mesmo quando tudo parecia escuridão.

Dedico à Deus por toda a proteção e aos anjos que Ele colocou na minha vida.

``Por mais distante que se vá, sempre se poderá buscar na alma as imagens que
trarão as melhores recordações... ``

(Mário Franco)

Marina Junqueira de Assis Buratto

À Deus em primeiro e principal lugar, e aos meus pais que me proporcionaram sempre o melhor em todos os aspectos, que me guiaram e orientaram com toda a paciência, amor e benevolência.

A minha mãe que esteve sempre presente com uma palavra de ânimo e incentivo, companheira e amiga.

Ao meu pai que sempre me apoiou, incentivou e me proporcionou descontração no momento certo e necessário.

Ao grupo de amigas, pelas festas de aniversários que comemoramos juntas, pelas fofocas e confidências, às três M's que estavam presentes para dar apoio em todas as horas e não deixar desanimar, que sempre perguntavam de quem era a vez de dirigir, que pegavam no meu pé, me afastaram das adversidades, sempre inseparáveis, brigonas, mas acima de tudo as melhores amigas que eu poderia ter encontrado, minha família fora de casa. À Mariana emotiva incondicional com seu enorme coração e suas histórias das gatas (Sofia, Amora e a "temporária"); e Mayara delicada, prestativa, super vaidosa e sempre deixando o ambiente mais bonito.

A Marina pelo companheirismo nas horas difíceis, pela parceria em 90% dos trabalhos que eu produzi na faculdade, sempre pronta e disposta para uma saída rápida na hora do jantar depois de dias trabalhando em um seminário.

Aos demais familiares e amigos que sempre demonstraram apoio, afeto e boas vibrações.

A toda equipe, profes, e ex-alunos da Faculdade de Ciências Aplicadas da Universidade Estadual de Campinas, em especial à minha orientadora Caroline Capitani, que possibilitaram a existência, as conquistas e continuidade do curso de Nutrição, aos colegas da Turma 012 e colegas de classe que se formam comigo na quarta turma de formandos.

Dedico meu esforço, não somente da produção do TCC mas dos quatro anos de graduação, aos meus pais que me deram a oportunidade de me tornar ao final dessa jornada uma profissional humanizada, empenhada no cuidado com o ser humano e no educar para prover uma vida melhor e mais proveitosa aos que se colocarem aos meus cuidados e aos que permitirem que eu doe meu tempo e conhecimento.

Victória Sanches Pereira Gimenez

BURATTO, Marina Junqueira de Assis; GIMENEZ, Victória Sanches Pereira. Determinação dos melhores solventes para extração de compostos fenólicos em alimentos utilizando o método de Folin-Ciocalteu: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso em Nutrição – Faculdade de Ciências Aplicadas. Universidade Estadual de Campinas. Limeira, 2015.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo realizar uma revisão bibliográfica acerca dos solventes utilizados na extração de fenólicos utilizando a metodologia Folin-Ciocalteu. Como já é de conhecimento, os alimentos, especialmente as frutas e hortaliças, parecem fornecer efeito protetor para doenças não transmissíveis por possuírem potentes compostos bioativos, além dos nutrientes já conhecidos. Porém, para que seja possível a quantificação desses compostos, é necessário compreender os fatores interferentes, como a metodologia e solventes empregados durante as extrações. A metodologia mais utilizada para quantificação de compostos fenólicos é a de Folin Ciocalteu que, consiste basicamente em uma mistura de ácidos. Já os solventes mais utilizados são os orgânicos como metanol, etanol e acetona, além da água; que possuem características estruturais e de polaridade que se assemelham aos compostos fenólicos, facilitando sua extração. A eficiência da acetona e do metanol foram demonstradas por diferentes estudos, conforme observado na presente revisão. Ambos solventes, acetona e metanol parecem ser os mais eficientes para extração dos compostos fenólicos em diferentes tipos de alimentos.

Palavras-chave: Capacidade antioxidante; Compostos fenólicos; Folin-Ciocalteu; Metodologia analítica; Solventes

BURATTO, Marina Junqueira de Assis; GIMENEZ, Victória Sanches Pereira. Determination of the best solvents for the extraction of phenolic compounds in foods using Folin-Ciocalteu method: Literature Review. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso em Nutrição – Faculdade de Ciências Aplicadas. Universidade Estadual de Campinas. Limeira, 2015.

ABSTRACT

This study aimed to conduct a literature review about the solvents used in the phenolic extraction using the Folin-Ciocalteu methodology. Like is already known, food, especially fruits and vegetables, appear to provide protective effect for non-communicable diseases because they have potent bioactive compounds, in addition of nutrients already known. However, to be possible to quantify such compounds, it's necessary to understand the interfering factors, such as the methodology and solvents used during the extractions. The most commonly methodology used for phenolic compounds quantitation is the Folin Ciocalteu, which basically consists of a mixture of acids. Organic solvents are the most commonly solvents used in this type of quantitation, such as methanol, ethanol and acetone, plus water; because they have structural and polarity like those phenolic compounds, facilitating their extraction. The efficiency of the acetone and the methanol were demonstrated by several studies, as observed in this review. Both solvents, acetone and methanol appear to be more efficient for the phenolic compounds extraction of in different types of fruits and vegetables.

Keywords: Antioxidant activity; Phenolic Compounds; Folin-Ciocalteu; Analytical Methodology; Solvents

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Estrutura química metanol.....	17
Figura 2	Estrutura química acetona.....	18
Figura 3	Estrutura química água.....	18
Figura 4	Estrutura química etanol.....	19
Figura 5	Estrutura química flavonóides.....	20
Figura 6	Estrutura química antocianinas.....	21
Figura 7	Estrutura química flavonóis.....	21

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Número de artigos por tipo de solvente mais comuns nas extrações de compostos fenólicos totais.....	17
Quadro 2	Teor de compostos fenólicos totais em frutas e hortaliças.....	24
Quadro 3	Principais particularidades das extrações mais eficientes em relação às de menores eficiências.....	28

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	OBJETIVOS.....	15
	2.1 Objetivo geral.....	15
	2.2 Objetivos específicos.....	15
3	METODOLOGIA.....	15
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
	4.1 Metanol.....	17
	4.2 Acetona.....	18
	4.3 Água.....	18
	4.4 Etanol.....	19
	4.5 Flavonóides.....	19
	4.6 Antocianinas.....	20
	4.7 Flavonóis.....	21
	4.8 Solventes mais eficientes.....	22
5	CONCLUSÃO.....	29
	REFERÊNCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

Uma dieta equilibrada e rica em frutas e hortaliças oferece benefícios à saúde, pois possui compostos bioativos com efeito protetor sobre doenças como câncer e disfunções cardiovasculares além de fornecer os nutrientes essenciais (ARTS; HOLLMAN, 2005). O efeito protetor pode ser atribuído à atividade antioxidante desses compostos representados principalmente pelos fenólicos, que são produtos secundários do metabolismo vegetal (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996; GIADA; MANCINI FILHO, 2006). Os fenólicos abrangem mais de 8000 compostos diferentes (VALVERDE; PERIAGO; ROS, 2000) e possuem em sua estrutura um anel aromático com hidroxilas, na forma simples ou de polímeros, que os conferem ação antioxidante (ANGELO; JORGE, 2007) com efeitos benéficos à promoção da saúde humana (GIADA; MANCINI FILHO, 2006).

No organismo, a síntese de radicais livres é um processo biológico essencial. São formados durante a produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes. O desequilíbrio entre a síntese de radicais livres e os mecanismos de defesa do corpo geram estresse oxidativo (SELLÉS, 2005), caracterizado pelo excesso de radicais livres e seus malefícios para a saúde. Nesse sentido, associado a uma dieta equilibrada, o organismo é capaz de neutralizar o excesso de radicais livres através de antioxidantes endógenos e exógenos (BARREIROS, et.al, 2006), com destaque merecido aos benefícios associados aos compostos fenólicos que por sua atividade antioxidante e por estarem presentes abundância em hortaliças e frutas, podem exercer efeito protetor auxiliando no equilíbrio e redução do stress oxidativo e suas consequências (ROESLER,2007).

Os compostos bioativos com atividade antioxidante podem ser classificados como primários ou secundários de acordo com seu modo de ação. Resumidamente, os primários atuam interrompendo a cadeia de reações através da doação de elétrons ou átomos de hidrogênios às espécies reativas e, os secundários atuam dificultando o início da autoxidação, mecanismo pelo qual devem atuar os compostos fenólicos (ANGELO; JORGE, 2007).

Portanto, o método empregado para análise da atividade antioxidante desse grupo de substâncias deve ser escolhido com cautela, pois os resultados variam em função das diferenças de estrutura e sensibilidade dos compostos às

condições de extração e hidrólise. Dentre as metodologias mais utilizadas para a qualificação dos antioxidantes, pode-se citar os seguintes:

- *Ferric Reducing Antioxidant Power* – (FRAP): avalia a capacidade do composto analisado em reduzir o ferro por meio de análise espectrofotométrica (PULIDO, *et al.*, 2000).

- *Capacidade de Remoção de Radical Orgânico* (ABTS): avalia a capacidade dos antioxidantes em sequestrar o cátion ABTS●+, produzido a partir do ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico gerado em reações enzimáticas ou químicas (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

- *Peroxidação do 1,1-difenil-2-picrilhidrazil* (DPPH): mensura a capacidade de redução do radical DPPH por absorvância, na presença de um doador de elétron ou de hidrogênio (OLIVEIRA, 2015).

- *Sistema β -caroteno/ácido linoleico*: avalia a inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoléico (DUARTE-ALMEIDA *et al.*, 2006).

Para a determinação dos compostos fenólicos, a metodologia mais utilizada, simples, conveniente e altamente reprodutível é a de Folin-Ciocalteu. O método consiste em uma mistura de ácidos fosfotungstúico e fosfomolibdúico de cor amarelada em um meio básico. A medida que os compostos fenólicos da amostra reagem, forma-se O₂ mudando a coloração para a cor verde. A alteração do tipo de solvente e tempo de extração da amostra resulta em maior ou menor poder de extração desses compostos (TOMEI; SALVADOR, 2011), alterando o resultado final.

Diversos estudos observaram divergência de resultados em função dos solventes utilizados para extração dos compostos fenólicos. Nascimento, *et al.* (2013), utilizaram como solvente o etanol, o metanol, a acetona e a água destilada, para análise de Romã e encontraram compostos fenólicos variando entre 117,97mg/100g GAE no extrato etanólico à 1287,94mg/100g GAE para o extrato metanólico. Vieira, *et al.* (2011), elucidaram para polpas de frutos tropicais (acerola, bacuri, cajá, caju, goiaba e tamarindo) que os valores totais de compostos fenólicos variaram de acordo com o solvente utilizado. Como exemplo a acerola, que apresentou resultados variando de 835,25mg/100g GAE no extrato aquoso à 449,63mg/100g GAE no extrato hidroalcoólico. Para o cajá a discrepância foi ainda maior, variando de 70,92mg/100 GAE no extrato aquoso à 6,62mg/100g GAE no extrato hidroalcoólico (VIEIRA, *et al.*, 2011).

Ao estudar amora preta, Vizzoto e Pereira (2011), observaram que não somente o solvente em si é um interferente importante na quantificação de compostos fenólicos, mas também o tempo de maceração, o volume do solvente, a acidificação do solvente e a mistura de solventes. Os autores utilizaram como solventes a água, o metanol, o etanol, a acetona e o hexano e o melhor resultado obtido foi de 1179mg/100g para a mistura de solventes metanol:etanol:acetona (45:45:10), e o menor resultado foi de 705mg/100g para a mistura de solventes etanol:água (70:30).

Em 2005, Lapornik, Prosek e Wondra (2005), relataram diferenças na quantificação de polifenóis, especialmente as antocianinas, quando utilizados diferentes tipos de solventes (etanol 70%, metanol 70% e água), diferentes tempos de extrações (1, 12 e 24h) e metodologias diferenciadas para mensurar fenólicos totais e atividade antioxidante (Medição do total de polifenóis por Folin-Ciocalteu, medição de antocianinas totais utilizando o método diferencial pH, análise por HPLC de antocianinas individuais, medição da atividade antioxidante total utilizando o teste DPPH e medição da atividade antioxidante total utilizando o teste de β -caroteno). Os autores utilizaram como extratos bagaço de jabuticaba, groselha e uva e os resultados encontrados foram: para a groselha os polifenóis extraídos variaram de 402 a 1166 mg/L de GAE, antocianinas totais variaram de 57 a 339 mg/L; para a jabuticaba o conteúdo de polifenóis variou de 2426 a 9721 mg/L de GAE e antocianinas de 1693 a 6805 mg/L em extratos de jabuticaba, e para os extratos de uva variou de 178 a 6783 mg/L de GAE de polifenóis e de 55 a 995 mg/L para as antocianinas; demonstrando com eficiência que os fatores empregados para a determinação de polifenóis influenciam diretamente os resultados que serão alcançados. Os autores também compararam que os maiores resultados de antioxidantes foram encontrados naqueles extratos com maiores quantidades de polifenóis, no caso do estudo, a uva.

Além disso, diversos autores como Lima,et.al (2004), Spagolla (2009), Andrade, et.al. (2007), Soares, et.al. (2008), Batiston (2013), entre outros, também evidenciaram em seus estudos essa relação positiva entre concentração de compostos fenólicos e atividade antioxidante, sugerindo que o consumo de alimentos fontes de compostos fenólicos na dieta também podem constituir boa fonte de compostos antioxidantes.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo realizar uma

revisão bibliográfica acerca dos solventes de extração utilizados na metodologia Folin-Ciocalteu para determinação da concentração de compostos fenólicos em frutas e hortaliças.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Realizar um levantamento bibliográfico acerca dos métodos de extração para determinação da concentração de compostos fenólicos de hortaliças e frutas.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar um levantamento dos estudos que avaliam concentração de compostos fenólicos e atividade antioxidante de hortaliças e frutas;
- Analisar os tipos de solventes utilizados para realização da extração e preparo do extrato para análise de compostos fenólicos;
- Avaliar os solventes com melhores resultados para concentração de compostos fenólicos em algumas hortaliças e frutas.

3 METODOLOGIA

Para a realização deste trabalho de revisão bibliográfica foram utilizadas três etapas. Inicialmente, foi realizada uma busca de artigos científicos publicados e disponíveis em bases de dados nacionais e internacionais (Pubmed, Science Direct, Scielo, Google Scholar, Research Gate e Lilacs) utilizando as seguintes palavras-chave: *extração de compostos fenólicos, extração de fenólicos, quantificação de compostos fenólicos, comparação de métodos para quantificação de fenólicos, importância fenólicos, compostos fenólicos frutas, compostos fenólicos hortaliças, fenólicos frutas, fenóis frutas ou fenóis vegetais*. Após essa primeira etapa foram pré-selecionados quarenta artigos, sendo vinte nacionais e vinte internacionais. A pesquisa bibliográfica foi realizada com base em publicações de 2000 a 2015, que estudaram exclusivamente frutas ou hortaliças e que utilizaram como metodologia

para determinação da concentração de compostos fenólicos, o método de Folin-Ciocalteu, tendo como etapa inicial o uso de um ou mais solventes para extração dos compostos seguindo de análise.

Em seguida, devido à algumas dificuldades como: diferenças nas variedades de frutas e hortaliças analisadas, a curva padrão utilizada, concentração da amostra e do solvente e, maneira de preparo da amostra; foi realizada uma triagem resultando na seleção de trabalhos que estudaram o mesmo alimento em diferentes situações de extração, além de artigos que tivessem pelo menos quatro publicações nessa temática resultando em vinte artigos e seis tipos de alimentos: *amora, cebola, goiaba, mirtilo, morango e uva*. Os principais resultados estão descritos a seguir.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para que se tenha uma quantificação eficiente da concentração de compostos fenólicos é necessário que o preparo da amostra tenha um controle rigoroso, ou seja, as condições usadas durante o processo de extração resultam em maior ou menor concentração dos componentes biologicamente ativos, como os fenólicos (ANTOLOVICH *et al.*, 2000). De acordo com Shahidi & Naczk (1995, apud CHAVAN; SHAHI e NACZK, 2001), a diferenciação do solvente, da metodologia e da natureza química da matéria são fatores importantes para o sucesso da extração. Além disso, segundo Pérez-Jimenez e Saura-Calixto (2006), compostos alimentares não antioxidantes como aminoácidos e ácidos urônicos, também podem interferir na eficácia do resultado final, constituindo importantes interferentes na hora da quantificação de compostos fenólicos.

Em um primeiro momento, antes da triagem dos artigos, pôde-se observar que os solventes mais utilizados para extração das amostras foram a acetona, seguido do metanol, do etanol e da água em diferentes concentrações e tempo de reação. No entanto, após a realização da triagem, foi observado que apesar de os tipos de solventes utilizados não se modificarem, a proporção em que foram utilizados foi modificada, como demonstra o resultado no Quadro 1.

Dentre os vinte artigos selecionados sete deles analisaram a concentração de compostos fenólicos em amoras, cinco em cebola, seis em goiaba, quatro em mirtilo, oito em morango e uva.

Quadro 1 – Numero de artigos e tipos de solventes mais comuns nas extrações para análise dos compostos fenólicos totais

Solvente	Numero de artigos
Metanol	14
Acetona	9
Água	7
Etanol	6
TOTAL	20

Após a triagem dos artigos observou-se que os solventes orgânicos como metanol, etanol e acetona, além da água, foram os mais utilizados para a extração de compostos fenólicos por sua alta polaridade (ANDREO, JORGE, 2006).

A solubilidade apresentada por um composto orgânico, no caso os compostos fenólicos, parece estar relacionada positivamente com sua estrutura, polaridade e espécie química; sendo que, normalmente substâncias apolares ou fracamente polares são solúveis em solventes polares e, substâncias apolares, como no caso do metanol, do etanol, da acetona e da água (ANDREO, JORGE, 2006), solúveis em solventes polares (MARTINS, *et.al*, 2013).

4.1 Metanol

De forma química CH₃OH, o metanol é caracterizado por ser um líquido claro, incolor, volátil, com odor característico e altamente polar; sendo miscível em água, álcool e éter. Sua larga utilização como solvente se deve ao fato de sua alta miscibilidade com solventes orgânicos (COPENOR- COMPANHIA PETROQUÍMICA DO NORDESTE, 2015).

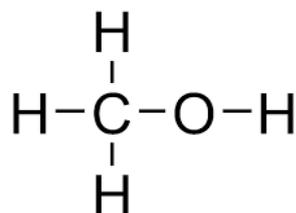


Figura 1 – Estrutura química metanol

4.2 Acetona

Também conhecida como propanona e de forma química CH_3COCH_3 , a acetona é a cetona mais comumente utilizada como solvente, sendo completamente miscível em água e dissolvendo uma grande variedade de compostos orgânicos (MARTINS, *et.al.*, 2013). Constitui um solvente de caráter polar e, devido a isso é bastante utilizada na indústria alimentícia na extração de gorduras e óleos (CRUZ, [s/d]).

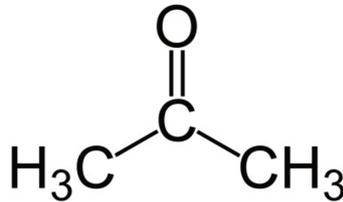


Figura 2 – Estrutura química acetona

4.3 Água

Sendo considerada solvente universal, é a única substância encontrada nos três estados da matéria – gasoso, líquido e sólido – na natureza de forma natural e possui fórmula química H_2O (MORTIMER, 1996). Entretanto, se utilizada de maneira isolada, os resultados podem sofrer interferências de impurezas como ácidos orgânicos, açúcares e proteínas solúveis, não permitindo uma correlação fidedigna com o objetivo de identificação e quantificação de compostos fenólicos (CHIRINOS *et. al.*, 2007). Porém, quando utilizada de maneira conjunta com outros solventes orgânicos, a água contribui para a extração de compostos fenólicos ao criar um meio menos polar que água pura (LAPORNIK *et. al.*, 2005).

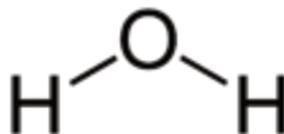


Figura 3 – Estrutura química água

4.4 Etanol

De forma química C_2H_5OH , o etanol se caracteriza como um solvente polar e infinitamente solúvel em água com interações dipolo-dipolo na mesma ordem de grandeza às apresentadas pela água (MARTINS, *et.al.*,2013).

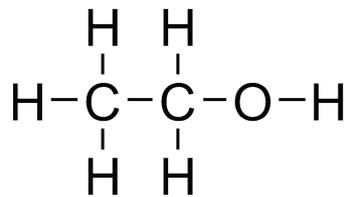


Figura 4 – Estrutura química etanol

A técnica que utiliza solvente como extrator, também é conhecida como extração líquido-líquido (ELL) e tem como característica a transferência de solutos entre duas fases que constituem um sistema heterogêneo (FACCHIN, PASQUINI, 1997).

Além da importância da escolha dos solventes na hora da extração, os compostos fenólicos também variam em concentrações e tipos dependendo das variedades das frutas e das hortaliças (ALMEIDA *et al.*, 2006), safra, condições e locais de extração. Para tanto, os principais compostos fenólicos/antioxidantes descritos na literatura para os alimentos analisados nos estudos foram:

4.5 Flavonóides

Os flavonoides são compostos que se originam a partir dos metabólitos das plantas e, são sintetizados pela combinação dos compostos fenilalanina e ácido acético (WINKEL-SHIRLEY, 2001).

Como constitui uma família, os subprodutos dos flavonóides são classificados segundo a sua estrutura e solubilidade. Ou seja, flavonóides com

núcleo com dois anéis fenólicos e um anel pirano heterocíclico são classificados como flavanóis (catequinas) ou um anel antocianidinas ou pirona no caso dos flavonóis, flavonais, isoflavonas e flavanonas (HUBER,2008). Presentes especialmente na Goiaba (IHA *et al.*, 2008).

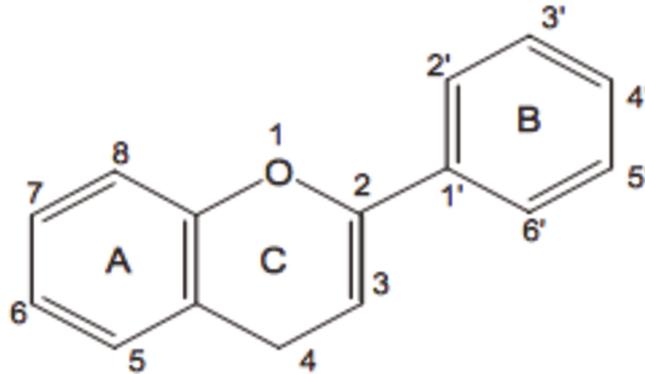


Figura 5 – Estrutura química flavonoides . Fonte: HUBER (2008)

4.6 Antocianinas

Encontradas em grandes concentrações no mirtilo (SEVERO *et. al*, 2009), na amora e no morango (JANIKUES, 2013), as antocianinas fazem parte da família dos subprodutos dos flavonoides, sendo derivada das antocianidinas. São de característica polar (LAPORNIK, 2005) e são responsáveis pela pigmentação encontrada em alimentos e flores vermelhos, laranjas, roxo e suas vertentes, sendo um composto solúvel em água (BROUILLARD,1983). Além de que, por meio do seu açúcar, as antocianinas são capazes de proporcionar maior solubilidade aos pigmentos, se comparados as antocianidinas (TERCI, 2004).

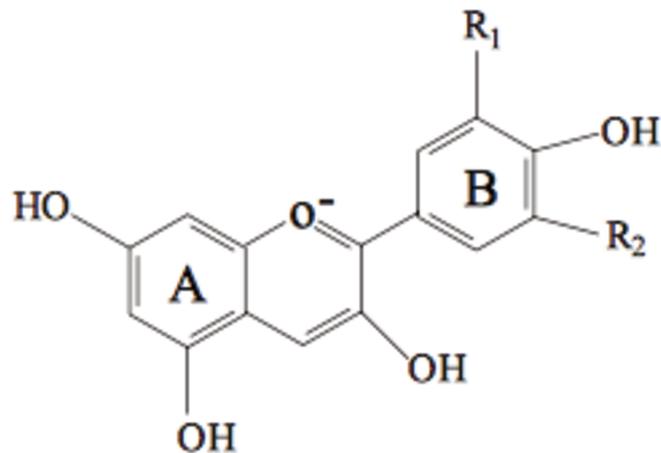


Figura 6 – Estrutura química antocianinas. Fonte: DELGADO-VARGAS (2000).

4.7 Flavonóis

Os flavonóis são encontrados na cebola, na uva (JANIQUE, 2013) e constituem parte da família dos subprodutos dos flavonoides e, assim como as antocianinas constituem um importante pigmento de alimentos, que possui como função primordial o recrutamento de polinizadores e dispersores de sementes, além de possível potencial antibacteriano (WINKEL-SHIRLEY, 2001). Por causa da sua estrutura com uma hidroxila no C3, se constitui de um importante oxidante mais potente que as flavonas (PIETTA, 2000).

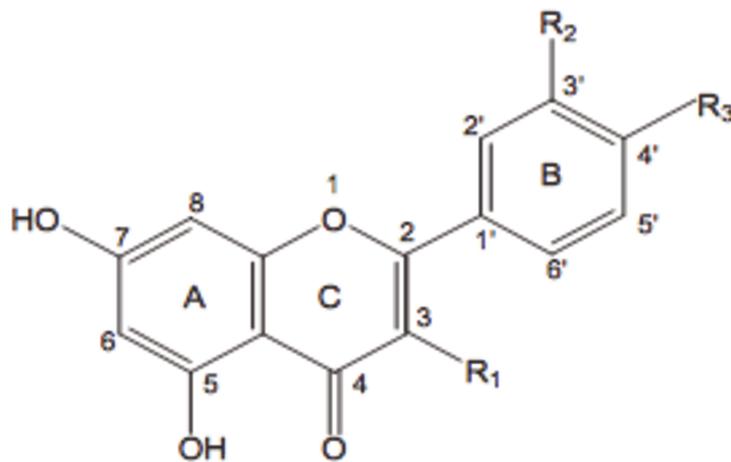


Figura 7 – Estrutura química Flavonóis. Fonte: HUBER, 2008.

Diante do exposto, foram analisados diferentes trabalhos com intuito de tentar elucidar qual o melhor solvente para extração dos compostos fenólicos descritos, por meio dos resultados da concentração de fenólicos totais.

4.8 Solventes mais eficientes

Como ilustrado no Quadro 2 temos resultados que divergem em relação ao melhor solvente:

Vasco (2008) obteve o resultado de 462mg GAE/100g na extração de compostos fenólicos totais em goiabas com acetona 70%, o melhor resultado em comparação com Allothman (2009) que obteve 191mg GAE/100g com acetona 90% e 185mg em metanol 90%, valor muito próximo ao encontrado por Melo (2006) 186,68mg CAE/100g com extração em metanol 80%, e Vieira (2011) com 104,76mg em extração aquosa, valor muito abaixo do encontrado por Allothman (2009), 153mgGAE/100g de peso fresco.

O mirtilo obteve os valores mais altos de extração de compostos fenólicos, seu melhor valor foi 2970mg GAE/100g encontrado por Kahkonen (2014) em extração com acetona 70%, seguido por Miletic (2014) com 2592,24mg em metanol e o valor mais baixo foi 840mg em extração com metanol 99,9% encontrado por Fredes (2014).

Os compostos fenólicos de morangos em extração com acetona 70% realizada por Kahkonen (1999) resultaram em 2370mg GAE/100g como melhor valor obtido, seguida pela extração metanólica de Fredes (2014) com 850mg e Lester (2012) encontrou apenas 32,72mg em extração com metanol 70% na análise de cinco cultivares de morango em duas datas de colheita e 178,56mg em segundo lugar também por extração em metanol estudada por Batiston (2013).

Em amoras, a acetona 70% apresentou o melhor resultado de extração 2210mg GAE/100g, que foi obtido por Lutz (2005) em que o conteúdo de fenólicos totais foi 35-89,6% maior que nas demais frutas frescas analisadas. A água obteve o terceiro melhor valor de extração (1515,9mg) obtido por Haminiuk (2012) e por Batiston (2013), o metanol o menor valor (200,37mg).

Para cebolas, o melhor resultado foi obtido na extração com metanol 80% (250mgGAE/100g) por Kahkonen (2014). Entre os vegetais analisados, os melhores

resultados do estudo foram encontrados para o pepino (380mgGAE/100g), batata e beterraba (430 e 430mgGAE/100g, respectivamente); a cebola obteve resultados intermediários de extração.

O melhor valor encontrado para compostos fenólicos em uvas foi obtido por Rockenbach (2006) 7950mg em Acetona 70%, que ficou muito acima do segundo melhor resultado encontrado por Miletic (2014), 400,37mg em Metanol e os valores mais baixos foram 83,59mg (CHUN *et. al.*, 2005) e 62,19mg (MELO *et. al.*, 2006) em metanol 80%.

Quadro 2 - Teor de Compostos Fenólicos Totais de Frutas e Hortaliças

Autor	Unidade	Solvente	Amora ^A	Cebola ^B	Goiaba ^C	Mirtilo ^D	Morango ^E	Uva ^F
² ALOTHMAN et al, 2009	mg GAE/100g	Acetona 90%			191			
² BATISTON et al, 2013	mg GAE/100g	Metanol	200,37		83,43		178,56	
² CHUN et al, 2005	mg GAE/100g	Metanol 80%		24,27			225	83,59
² FALCÃO et al, 2007	mg GAE/100g	Acetona 70%						235,4
² FREDES et al, 2014	mg GAE/100g	Metanol 99,9%*	740			840	850	
¹ HAMINIUK et al, 2012	mgGAE/1L	Metanol ^G	A ¹ 1515,9 ^H	B ¹ 216,7 ^H			E ¹ 363,7 ^H	F ¹ 234,8*
¹ KAHKONEN et al, 1999	mg GAE/100g	Acetona 70%		250 ^I		D ¹ 2970	2370	
² KARADENUZ et al, 2005	mg CAE/100g	Metanol 70%		53,6				202,5
² LESTER et al, 2012	mgGAE/100g	Metanol 70%					32,72	
² LUTZ et al, 2015	mg GAE/100g	Acetona 70%	2210			1440		
² MELO et al, 2006	mg CAE/100g	Metanol 80%		82,16	186,68			62,19
² MELO et al, 2008	mg/mL	Água/Acetona			799,69			
³ MILETIC et al, 2014	mg GAE/100g	Metanol				D ¹ 2592,24		400,37
² RIMPARA et al, 2007	mgGAE/100g	Metanol 90%	980			1040	350	
³ ROCKENBACH et al, 2006	mg GAE/100g	Acetona 70%						7950
² SOARES, 2008	mg GAE/100g	Acetona 75%						196,83
¹ SRIVASTA et al, 2013	mg GAE/100g	Metanol		152,9				
² VASCO et al, 2008	mg GAE/100g	Acetona 70%	2167		462		238	
² VIEIRA et al, 2011	mg/100g	Água			104,76			
² VIZZOTTO, 2011	mg/100g	Acetona	1022					
Número total de artigos por tipo de alimento								
			7	6	6	5	8	8

Legenda – Amostra: ¹Pó liofilizado; ²Peso fresco; ³Peso seco. Unidade: mgGAE/100g. Solvente: ^G0,1% HCl; ^HÁgua; ^I80% Metanol. Frutas: ^ABlackberry; ^{A1}Mulberry, Lin & Tang (2007); ^BOnion; ^{B1}White Onion, Lin & Tang (2007); ^CRed Guava; ^DBlueberry; ^{D1}Bilberry; ^EStrawberry; ^{E1}Strawberry, Lin & Tang (2007); ^FGrape; ^{F1}Grape, Orak (2006).

Devido aos fatores interferentes já demonstrados acima, nem todos os compostos fenólicos primordialmente encontrados nos alimentos, segundo a literatura, são necessariamente os que foram extraídos em maior quantidade por meio da reação com o solvente mais eficiente. Entretanto, durante a análise dos artigos selecionados nessa revisão bibliográfica, observou-se que a acetona e o metanol, como demonstra o quadro 2, mostraram-se como os solventes mais eficientes durante as extrações dos compostos fenólicos estudados.

Conforme descrição anterior, a solubilidade de um composto orgânico está relacionada positivamente, entre outros fatores, com a sua polaridade (MARTINS, *et.al.*,2013). Assim, um dos principais motivos pelo qual pode-se justificar a eficiência da acetona e do metanol nas extrações apresentadas nos artigos, é o fato de que tanto esses solventes como a maior parte dos flavonoides são solúveis em água e apresentam dipolo - vetor de atração de elétrons diretamente proporcional às diferenças de eletronegatividade - próximo ao apresentado por essas substâncias (MARTINS,*et.al.*,2013) auxiliando no processo de extração de compostos fenólicos que possuem maior afinidade à água. O etanol, também utilizado em algumas extrações, tem sua polaridade muito alta (MARTINS,*et.al.*,2013), fato que pode ter dificultado a sua boa atuação quando comparado ao metanol e acetona.

Entretanto, nem todos os artigos analisados utilizaram água pura como um solvente extrator. Assim, não foi possível avaliar se o uso de água é mais eficiente que os demais solventes. Além disso, sabe-se que nem todos os compostos fenólicos encontrados nos alimentos são de natureza hidrofílica, e utilizar a água como solvente excluiria em parte a extração de demais compostos o que poderia minimizar a quantidade final de compostos fenólicos como exemplificado por Chirinos *et. al.* (2007). O uso da água pura como solvente pode trazer consigo impurezas dificultando a fidedigna quantificação dos compostos fenólicos, além de que, os extratos utilizados para análises não contém puramente apenas uma classe de compostos fenólicos (Chirinos *et. al.*, 2007), assim nunca haverá, pelo menos em uma primeira etapa, a solubilização completa desses compostos utilizando-se de apenas um solvente extrator (SARTORI, *et al.*, 2013).

A água combinada com solventes orgânicos cria um ambiente moderadamente polar que favorece a extração dos compostos fenólicos (LAPORNIK *et al.*, 2005; LIYANA-PATHIRANA; SHAHIDI, 2005), que, em sua maioria são

altamente polares. Esses compostos possuem uma ou mais ligações de oxigênio que deixam as moléculas mais negativas ao seu redor, criando uma força de atração e repulsão na molécula. Rockenbach (2008) demonstrou que a extração com 100% água resultou em 1,48g, 100% Acetona 1,82g e 50% Acetona em 7,95g GAE/100g de peso seco em extrato de bagaço de uvas. Alothman (2009) observou que a extração em 100% água resultou em 34,7mg e 50% acetona com o melhor resultado de 54,1 mg GAE/100g de peso fresco de abacaxi.

A solubilidade dos compostos fenólicos pode depender também de reação química (por exemplo, na reação ácido-base) e envolver somente as forças intermoleculares (LAPORNIK et al., 2005; LIYANA-PATHIRANA; SHAHIDI, 2005; MARTINS *et al*, 2013), sendo comum também a acidificação com HCl (0,1%) (FREDES; MILETIC (2014); HAMINIUK (2012); MELO (2006); ROCKENBACH; SOARES (2008), entre outros).

Além do tipo de solvente, outros fatores podem influenciado nos resultados descritos. Ou seja, um mesmo alimento, utilizando um mesmo tipo de solvente, pode ter apresentado divergências de valores, conforme visualizado no Quadro 2. Nesse caso, além do tipo de solvente, a temperatura e a forma como o extrato é preparado, podem afetar a qualidade e a eficiência das extrações e são fatores que devem ser levados em consideração na hora do planejamento de estudos de extração de compostos fenólicos (Quadro 3). De acordo com a descrição do Quadro 3, observa-se que parte dos autores (LUTZ *et. al.*, 2015; KAHKONEN *et. al.*, 1999; MILETIC *et. al.*, 2014) que obtiveram os melhores resultados de extração em relação a outros (VIZZOTTO, 2011; FREDES *et. al.*, 2014; MELO *et. al.*, 2006), utilizaram frutas desidratados para as análises. O consumo de alimentos com essas características provavelmente apresenta maior concentração de compostos fenólicos ainda que sofram perdas durante as desidratações.

Dentre as condições ideais para extração de compostos fenólicos destacam-se: abrigo da luz, utilização de amostras frescas e secagem para preservar o material contra diferentes tipos de degradação (HAMINIUK et al, 2012). Os resultados mais expressivos quando analisadas amostras de uva, apresentados no Quadro 2, foram obtidos em amostras com quantificação em peso fresco (KAHKONEN, 1999; LUTZ, 2015 e MELO, 2008) e em amostra liofilizada (ROCKENBACH, 2006 e MILETIC, 2014). Segundo Lutz *et al* (2015) é necessário um estudo específico para determinar os impactos do tempo e temperatura

utilizados no tratamento inicial da amostra na concentração final de fenólicos no extrato.

O numero de repetição das extrações também influencia na quantidade final de compostos fenólicos, variando de duas extrações até o numero suficiente para que o solvente extrator esteja límpido. Para tanto, os estudos utilizam ultrassom, homogeneizador, banho-maria, liquidificação simples, agitação magnética em placa quente, agitação simples, filtração simples, filtração sob vácuo, evaporação rotativa.

As quantidades de solventes e reagentes são fundamentais para a extração e quantificação dos fenólicos em alimentos, quanto mais solventes e reagentes disponíveis por miligrama de alimento melhor extraídos e identificados serão esses compostos (ORAK, 2007; LUTZ, 2015)

Quadro 3 - Principais particularidades das extrações mais eficientes em relação às de menores eficiências

Alimento	Solvente mais eficiente	Maior Valor*	Menor valor*	Autor com maior resultado	Autor com menor resultado	Particularidades
Amora	Metanol	1515,9	200,37	HAMINIUK et al, 2012	BATISTON et al, 2013	TC
	Acetona	2210	1022	LUTZ et al, 2015	VIZZOTTO, 2011	ED, Temp.
Cebola	Metanol	152,9	24,27	SRIVASTA et al, 2013	CHUN et al, 2005	TH, Temp.
	Acetona**	250	DI	KAHKONEN et al, 1999	DI**	ED
Goiaba	Metanol	186,68	83,43	MELO et al, 2006	BATISTON et al, 2013	NP
	Água	799mg/mL	104,76	MELO et al, 2008	VIEIRA et al, 2011	TH
Mirtilo	Metanol	2592,24	840	MILETIC et al, 2014	FREDES et al, 2014	ED (AA), TH
	Acetona**	2970	DI	KAHKONEN et al, 2014	DI**	ED
Morango	Metanol	850	32,72	FREDES et al, 2014	LESTER et al, 2012	AO
	Acetona**	2370	DI	KAHKONEN et al, 2014	DI**	ED
Uva	Metanol	400,37	62,19	MILETIC et al, 2014	MELO et al, 2006	ED (AA)
	Acetona	7950	196,83	ROCKENBACH et al, 2006	SOARES, 2008	IE, AD, TH

Legenda: *mg GAE/100g. **Não há outro estudo com o mesmo solvente para análise comparativa. AA = amostra envolta em açúcar; AD = amostra desengordurada; AO = alimento Orgânico; DI = Dado inexistente; ED = Extrato desidratado; EHF = Extrato hidratado ou fresco; IE = Inativação enzimática; NP = não possui; PH = controle de Ph durante a extração; TC = tempo de centrifugação; Temp. = controle de temperatura no preparo dos extratos ou durante extração; TH = alimento triturado e homogeneizado.

5 CONCLUSÃO

Os alimentos selecionados apresentaram, segundo a literatura consultada, a maior parte dos compostos fenólicos representados pelos flavonoides e seus subprodutos. O solvente orgânico com maior eficiência para extração dos fenólicos foi a acetona, seguido do metanol. Portanto, foi possível concluir acetona e metanol parecem ser os solventes mais eficientes para extração dos compostos fenólicos dos alimentos avaliados, sendo que a maior parte continha flavonoides e/ou seus subprodutos. Contudo, observou-se que são necessários mais estudos na área, uma vez que existem diversas metodologias e condições que podem alterar o resultado final, além da influência de variáveis como estrutura química e sensibilidade às condições de extração.

REFERÊNCIAS

- ALOTHMAN, M.; A KARIM, A.; BHAT, R.. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. **Food Chemistry**. Malasya, p. 785-788. dez. 2008.
- ANDRADE, C. A. et al. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don, Leguminosae-mimosoideae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Brasil, v. 17, n. 2, p.231-235, abr./jun. 2007.
- ANDREO, D.; JORGE, N.. Antioxidantes naturais:técnicas de extração. **B. Ceppa**, Curitiba, v. 24, n. 2, p.319-336, jul./dez. 2006.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N.. Compostos fenólicos em alimentos: Uma Breve Revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, Brasil, v. 66, n. 1, p.1-9, 2007.
- ANTOLOVICH, M. et al. Sample Preparation in the Determination of Phenolic Compounds in Fruits. **The Royal Society Of Chemistry**. Austrália, p. 989-1009. abr. 2000.
- ARTS, I. Cw; HOLLMAN, P. Ch. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. **The American Journal Of Clinical Nutrition**. Usa, p. 317S-325S. 2005.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quím. Nova**, Bahia, v. 29, n. 1, p.113-123.2006.
- BATISTON, W. P. et al. Total phenolic content and antioxidant capacity of methanolic extracts of ten fruits. **Acta Scientiarum. Technology**, Maringá, v. 35, n. 3, p.581-585, jul.-set. 2013.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G.. Radicais Livres e os Principais Antioxidantes da Dieta. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 12, n. 2, p.123-130, maio/agost. 1999.

BROUILLARD, R.. The In Vivo Expression Of Anthocyanin Colour In Plants. **Phytochemistry**, Grã Bretanha, v. 22, n. 6, p.1311-1323.1983.

CHAVAN, U. D.; SHAHIDI, F.; NACZK, M.. Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) as affected by different solvents. **Food Chemistry**, Canadá, v. 75, p.509-512, maio 2001.

CHIRINOS, R. et al. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) tubers. **Separation And Purification Technology**, Peru, v. 55, p.217-225.2007.

CHUN, O. K. et al. Daily consumption of phenolics and total antioxidant capacity from fruit and vegetables in the American diet. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**. Geneva-usa, p. 1715-1724. mar. 2005.

COPENOR- COMPANHIA PETROQUÍMICA DO NORDESTE (Nordeste). **Metanol:** Informações Técnicas. Disponível em: <<http://www.copenor.com.br/compos.php?m=site.pagina&pag=168&idioma=br>>. Acesso em: 27 out. 2015.

CRUZ, G. L.. Sociedade Brasileira de Química. **Acetona, C₃H₆O**. Disponível em: <http://qnint.s bq.org.br/qni/popup_visualizarMolecula.php?id=GxMKPr07VG2saYkP27BcOzN8Je-GJLTwYFItdtBjgOQPIEzy-xuxJT2CMXbWaJD_3a_GCzs0Ajh_i3jS2LxvRw==>>. Acesso em: 27 out. 2015.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O.. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains — Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**. -, p. 173-289. 2000.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da Atividade Antioxidante Utilizando Sistema B-Caroteno/Ácido Linoléico e Método de Sequestro de Radicais DPPH•1. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 2, p.446-452, abr./jun. 2006.

FACCHIN, I.; PASQUINI, C.. Extração líquido-líquido em sistemas de fluxo. **Química Nova**, Campinas, v. 21, n. 1, p.60-68.1998.

FALCÃO, A. P. et al. Índice de polifenóis, antocianinas totais e atividade antioxidante de um sistema modelo de geléia de uvas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 27, n. 3, p.637-642, ago. 2007.

FREDES, C. et al. Comparison of the total phenolic content, total anthocyanin content and antioxidant activity of polyphenol-rich fruits grown in Chile. **Ciencia e Investigación Agraria**, Chile, v. 41, n. 1, p.49-60. 2014.

GIADA, Maria de Lourdes Reis; MANCINI FILHO, Jorge. Importância dos Compostos Fenólicos da Dieta na Promoção da Saúde Humana. **Uepg Ci. Bio. Saúde**, Ponta Grossa, v. 12, n. 4, p.7-15, dez. 2006.

HAMINIUK, C. W. I. et al. Phenolic compounds in fruits – an overview. **International Journal Of Food Science And Technology**. [s.i.], p. 2023-2044. abr. 2012.

HAIDA, K. S. et al. Compostos Fenólicos Totais e Atividade Antioxidante de Duas Variedades de Goiaba e Arruda. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, Brasil, v. 28, n. 9, p.11-19, abr./jun. 2011.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.. Flavonóis e Flavonas: Fontes Brasileiras e Fatores que Influencia a Composição em Alimentos. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 19, n. 1, p.97-108, jan./mar. 2008.

IHA, S. M. et al. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Brasil, v. 18, n. 3, p.387-393, jul./set. 2008.

JANIKUES, A. G. P. R. et al. Phenolic compounds: possible applicability in chronic kidney disease. **Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr. J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, São Paulo, SP, v. 38, n. 3, p. 322-337, dez. 2013.

KÄHKONEN, M. P. et al. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. **J. Agric. Food Chem.** Finland, p. 3954-3962. set. 1999.

KARADENİZ, F. et al. Antioxidant Activity of Selected Fruits and Vegetables Grown in Turkey. **Turk J Agric For.** Turquia, p. 297-303.2005.

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

LESTE, G. E. et al. Comparative analysis of strawberry total phenolics via Fast Blue BB vs. Folin–Ciocalteu: Assay interference by ascorbic acid. **Journal Of Food Composition And Analysis.** Eua, p. 102-107. 2012.

LIN, J.-Y.; TANG, C.-Y. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. **Food Chemistry**, Taiwan, v. 101, p.140-147, 2007.

LIMA, V. L. A. G. et al. Fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato aquoso de broto de feijão-mungo (*Vigna radiata* L.). **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 17, n. 1, p.53-57, jan./mar. 2004.

LIYANA-PATHIRANA, C.; SHAHIDI, F.. Optimization of extraction of phenolics compounds from wheat using response surface methodology. **Food Chemistry.** Washington, v. 93, p. 45-56. 2005.

LUTZ, M.; HERNÁNDEZ, J.; HENRÍQUEZ, C.. Phenolic content and antioxidant capacity in fresh and dry fruits and vegetables grown in Chile. **Cyta - Journal Of Food.** Chile, p. 541-547. fev. 2015.

MARTINS, C. R.; LOPES, W. A.; ANDRADE, J.. Solubilidade das Substâncias Orgânicas. **Química Nova**, Salvador, v. 36, n. 8, p.1248-1255. 2013.

MELO, E. A. et al. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Pernambuco, v. 44, n. 2, p.193-200, jun. 2008.

MELO, E. A. et al. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciênc. Technol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 3, p.639-644, jul. 2006.

MELO, E. A. et al. Polyphenol, Ascorbic Acid and Total Carotenoid Contents in Common Fruits and Vegetables. **Brazilian Journal Of Food Technology**. Recife, p. 89-94. abr.-jun. 2006.

MILETIC, N. et al. Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Dried and Candied Fruits Commonly Consumed in Serbia. **Czech J. Food Sci.** Serbia, p. 360-368.2014.

MORTIMER, E. F.. H₂O=Água?: O significado das fórmulas químicas. **Química Nova na Escola**, Brasil, n. 3, p.19-21, maio 1996.

NASCIMENTO, K. O. et al. Teor de Compostos Fenólicos Totais em Diferentes Extratos de Romã (*Punica Granatum L.*). **Higiene Alimentar**, Brasil, v. 27, n. 218/219, p.1638-1641, mar/abr. 2013.

OLIVEIRA, G. L. S.. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. **Rev. Bras. Pi. Med.**, Campinas, v. 17, n. 1, p.36-44 . 2015.

ORAK, H. H.. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. **Scientia Horticulturae**, Turquia, v. 111, n. 3, p.235-241, fev. 2007.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**. Espanha, p. 791-800. fev. 2006.

PIETTA, P. G.. Flavonoids as Antioxidants. **J. Nat. Prod.**. Estados Unidos, v. 63, n. 7, p. 1035-1042. maio 2000.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, p. 3396-3402, 2000.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G.. Structure-Antioxidant Activity Relationships Of Flavonoids And Phenolic Acids. **Free Radical Biology & Medicin**, Usa, v. 20, n. 7, p.993-957, 1996.

RIMPAPA, Z. et al. Total Content Of Phenols And Anthocyanins In Edible Fruits From Bosnia. **Bosnian Journal Of Basic Medical Sciences**. Bosnia, p. 119-122. 2007.

ROESLER, R. et al . Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas , v. 27, n. 1, p. 53-60, Mar. 2007 .

ROCHA, D. S.; REED, E.. Pigmentos Naturais em Alimentos e Sua Importância Para a Saúde. **Estudos**, Goiania, v. 41, n. 1, p.76-85, jan./jun. 2014.

ROCKENBACH, I. I. et al. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 28, n. -, p.238-244, dez. 2008.

SELLÉS, A. J. N.. Antioxidant therapy: myth or reality?. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**. Cuba, p. 669-710.jul. ago. 2005.

SEVERO, J. et al. Avaliação de compostos fenólicos, antocianinas, vitamina C e capacidade antioxidante em mirtilo armazenado em atmosfera controlada. **Brazil Journal Of Food Technology**. Brasil, p. 65-70. jan. 2009.

SILVA, M. L. C. et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p.669-682, jul./set. 2010.

SOARES, M. et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca das uvas Niágara e Isabel. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 30, n. 1, p.59-64, mar. 2008.

SOUZA-SARTORI, J. A. et al. Parâmetros de Influência na Extração de Compostos Fenólicos de Partes Aéreas da Cana-de Açúcar com Atividade Antioxidante Total. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 29, n. 2, p.297-307, mar./abr. 2013.

SPAGOLLA, L.C. et al. Extração alcoólica de fenólicos e flavonóides totais de mirtilo “Rabbiteye” (*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Piracicaba, v. 30, n. 2, p.187-191, 2009.

SRIVASTAVA, M. P.; POPPI, Ronel Jesus; SHARMA, N.. Assessment of phenol and flavonoid content in the plant materials. **Journal On New Biological Reports**. Índia, p. 163-166. jun. 2013.

SUCUPIRA, N. R. et al. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **Unopar Cient Ciênc Biol Saúde**, Ceará, v. 14, n. 4, p.263-269, 2012.

TERCI, D. B. L.. **Aplicações analíticas e didáticas de antocianina extraídas de frutas.**. 2004. 224 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004. Disponível em: <<http://biq.iqm.unicamp.br/arquivos/teses/vtIs000363992.pdf>>. Acesso em: 27 out. 2015.

TOMEI, R. R.; SALVADOR, M. J.. **Metodologias analíticas atuais para avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais.** In: XI ENCONTRO LATINO

AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E VII ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO. Paraíba: -, 2011. p. 1963 - 1967.

VALVERDE, I. M.; PERIAGO, M. J.; ROS, Gaspar. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 50, n. 1, mar. 2000.

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

VIEIRA, L. M. et al. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 33, n. 3, p.888-897, jul. 2011.

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C.. Amora-preta (*Rubus* sp.): Otimização do processo de extração para determinação de compostos fenólicos antioxidantes. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 33, n. 4, p.1209-1214, dez. 2011.

WINKEL-SHIRLEY, B.. Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. **Plant Physiology**, Virgínia-EUA, v. 126, p.485-493, jun. 2001.