



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA**

Isadora Costa Celestino

**Vida-de-prateleira acelerada e bioativos em polpa de *Passiflora setacea*
pasteurizada**

BRASÍLIA, 2019

Isadora Costa Celestino

**Vida-de-prateleira acelerada e bioativos em polpa de *Passiflora setacea*
pasteurizada**

Monografia de Conclusão de Curso apresentada
como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutico
na Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia.

Orientador (a): Prof(a). Livia de Lacerda de Oliveira

Co-orientador (a): Prof(a). Eliana Fortes Gris

BRASÍLIA, 2019

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

CIS74v Costa Celestino, Isadora
Vida-de-prateleira acelerada e bioativos em polpa de
Passiflora setacea pasteurizada / Isadora Costa Celestino;
orientador Livia de Lacerda de Oliveira; co-orientador
Eliana Fortes Gris. -- Brasília, 2019.
80 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de
Brasília, 2019.

1. Vida-de-prateleira acelerada. 2. Pasteurização. 3.
Vitamina C. 4. Capacidade antioxidante. 5. Passiflora
setacea. I. de Lacerda de Oliveira, Livia , orient. II.
Fortes Gris, Eliana , co-orient. III. Título.

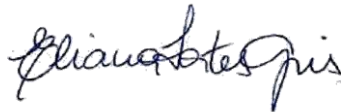
Isadora Costa Celestino

**Vida-de-prateleira acelerada e bioativos em polpa de *Passiflora setacea*
pasteurizada**

BANCA EXAMINADORA



Orientador(a): Prof(a). Dra. Livia de Lacerda de Oliveira
Departamento de Nutrição – Universidade de Brasília – UnB



Co-Orientador(a): Prof(a). Dra. Eliana Fortes Gris
Faculdade de Ceilândia – Universidade de Brasília – UnB

Dra. Daniele Bobrowski Rodrigues

Prof(a). Dra. Daniela Castilho Orsi
Faculdade de Ceilândia – Universidade de Brasília - UnB

BRASÍLIA, 2019

*“Existe uma versão sua no futuro que está orgulhosa
por você estar enfrentando suas dificuldades sem desistir.”*

(Autor desconhecido)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que estiveram ao meu lado nessa caminhada, a Deus e as energias positivas.

A minha família, principalmente minha mãe, Sônia, meu pai, Klecius, meus irmãos, Júlia e Miguel, minha avó Ivone, minhas tias e tios, especialmente as tias Cleudsonia e Fabiola, e aos meus primos, principalmente Ana Clara, que me apoiaram em todos os sentidos a estar nesse momento, sempre investindo em mim e confiando no meu potencial.

A todos meus amigos de longa data, principalmente a Amanda, Carla, Helena, Júlia Torres, Kaifer, Maiara, Mateus Saraiva, Mateus Monte e Renata.

Aos amigos que conheci na faculdade, que sempre me apoiaram e ajudaram a concluir cada fase, especialmente ao Arthur, Giovanna, Isis, Jhon, João Pedro, Maria Beatriz, Maria Cecília, Mayumi, Verônica e Vitor.

Aos professores, professoras, técnicos, mestrandos e doutorandos que continuamente trabalharam para ajudar na minha formação, em especial a Alejandra que me permitiu fazer parte do seu projeto, e com esse foi possível a realização desse trabalho de conclusão de curso.

RESUMO

Passiflora setacea, conhecida como Maracujá-do-Cerrado, é uma espécie do Cerrado que se destaca por sua composição funcional, contendo compostos fenólicos, principalmente flavonoides, e vitamina C. O uso contínuo na alimentação como fonte de bioativos é limitado pela sazonalidade, sendo necessário processamento dos frutos para manter a disponibilidade da polpa. O objetivo desse trabalho foi avaliar o teor dos bioativos e atividade antioxidante de polpa de *P. setacea* após processo de pasteurização e assim estipular sua validade. Os frutos utilizados foram BRS Pérola do Cerrado fornecido pela Embrapa Cerrados (Planaltina-DF). O processo de pasteurização utilizado foi HTST na temperatura de 82°C por 20 segundos. Para análises microbiológicas, foram avaliados mesófilos, coliformes, leveduras e fungos filamentosos e *Salmonella* sp. Foram determinados os teores de vitamina C e flavonoides por HPLC. A capacidade antioxidante foi determinada pelo método FRAP utilizando espectrofotometria e fluorescência para ORAC. Após os experimentos, foi estipulado a vida-de-prateleira do produto observando a diferença entre os tratamentos. Nos resultados foi observado o aumento na validade do produto no critério microbiológico, mostrando que a pasteurização foi eficaz. Entretanto os bioativos foram afetados, demonstrando redução de 8,61% de vitamina C, 59,37% para isoorientina, 7,31% para orientina, 35,50% para vitexina, 57,24% para isovitexina e 15,35% para epicatequina. Houve também uma diminuição de 97,44% e 20,75% de atividade antioxidante da polpa, medida respectivamente por ORAC e FRAP. Mesmo que tenha diminuição dos bioativos após pasteurização, a utilização da polpa ainda é viável pela indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética para o desenvolvimento de novos produtos.

Palavras-Chave: Vida-de-prateleira acelerada. Pasteurização. Vitamina C. Capacidade antioxidante. *Passiflora setacea*.

ABSTRACT

Passiflora setacea is a wild passion fruit from Brazilian savannah, that stands out for its functional composition, containing levels of phenolic compounds, vitamin C and flavonoids. Continuous use in food as a source of bioactive compounds is limited by seasonality, so the food processing is required to preserve and maintain pulp availability. The objective of this work was to evaluate the bioactive compounds and antioxidant activity of *P. setacea* pulp after pasteurization process and estimate its shelf life. The fruits used were from the cultivar BRS Pérola do Cerrado. The pasteurization process used was the HTST at 82°C for 20 seconds. For the microbiological analysis, it was assessed mesophiles, coliforms, yeasts and molds and *Salmonella* sp. The vitamin C and flavonoids were analysed by HPLC. The antioxidant activity was determined by FRAP method using spectrophotometry and fluorescence was used ORAC method. After the experiments, the shelf life of the product was calculated, observing the difference between the treatments. In the results it was observed the increase in the shelf life of the pulp in the microbiological criterion, showing that the pasteurization was effective. However, bioactive compounds were affected, showing a 8.61% reduction for vitamin C, 59.37% for isoorientine, 7.31% for orientine, 35.50% for vitexine, 57.24% for isovitexine and 15.35% for epicatechin. There was also a 97.44% and a 20.75% decrease in the antioxidant activity, measured respectively by ORAC and FRAP. Even though there was a decrease of pulp bioactive compounds after pasteurization, its use still viable by the food, pharmaceutical and cosmetic industries for the development of new products from the pulp.

Keywords: Accelerated shelf-life tests. Pasteurization. Vitamin C. Antioxidant activity *Passiflora setacea*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fruto de <i>Passiflora setacea</i> – BRS Pérola do Cerrado	19
Figura 2 – Biossíntese do metabolismo vegetal secundário	21
Figura 3 – Molécula base dos flavonoides	23
Figura 4 – Molécula do ácido L-ascórbico, ascorbato, ácido dehidroascórbico e ácido D-isoascórbico	27
Figura 5 – Sistema de pasteurização HTST	37
Figura 6 – Efeito do processamento na variável flavonoide	56
Figura 7 – Cromatograma obtido por HPLC-DAD da polpa de Maracujá-do-Cerrado <i>in natura</i> na variável flavonoides	58
Figura 8 – Cromatograma obtido por HPLC-DAD da polpa de Maracujá-do-Cerrado pasteurizada na variável flavonoides	59
Figura 9 – Cromatograma obtido por HPLC-DAD da polpa de Maracujá-do-Cerrado <i>in natura</i> na variável vitamina C	63
Figura 10 – Cromatograma obtido por HPLC-DAD da polpa de Maracujá-do-Cerrado pasteurizada na variável vitamina C	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análises microbiológicas e vida-de-prateleira em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos <i>in natura</i> e pasteurizado	50
Tabela 2 – Teor de isoorientina em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos <i>in natura</i> e pasteurizado	51
Tabela 3 – Teor de orientina em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos <i>in natura</i> e pasteurizado	52
Tabela 4 – Teor de orientina em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos <i>in natura</i> e pasteurizado	54
Tabela 5 – Teor de isovitexina em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos <i>in natura</i> e pasteurizado	55
Tabela 6 – Teor de epicatequina em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos <i>in natura</i> e pasteurizado	57
Tabela 7 – Vida-de-prateleira dos flavonoides em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos <i>in natura</i> e pasteurizado	57
Tabela 8 – Teor de ácido ascórbico (AA) e vida-de-prateleira em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos <i>in natura</i> e pasteurizado	60
Tabela 9 – <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i> e vida-de-prateleira em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos <i>in natura</i> e pasteurizado	64
Tabela 10 – <i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i> e vida-de-prateleira em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos <i>in natura</i> e pasteurizado	66

LISTA DE ABREVIATURAS

AA – Ácido ascórbico
AAPH – *2,2'-Azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride*
ANIVSA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Cal – Calorias
CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DAD – Detector de arranjo de diodos
DHA – Ácido Dehidroascórbico
DTA – Doenças Transmitidas por Alimentos
DVA – Doenças Vinculadas a Alimentos
EDTA – *Ethylenediamine tetraacetic acid*
EHEC – *Escherichia coli* Enterohemorrágica
EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ERNS – Espécies Reativas de Nitrogênio
EROS – Espécies Reativas de Oxigênio
FAO – *Food and Agriculture Organization of the United Nations*
FRAP – *Ferric Reducing Antioxidant Power*
HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*
HTST – *High Temperature and Short Time*
IDRs – Índices Recomendados Diários
IFST – *Institute of Food Science & Technology*
IN – Instrução Normativa
IOM – *Institute of Medicine*
Ln – Logaritmo natural
LTLT – *Low Temperature and Long Time*
MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MERCOSUL – Mercado Comum do Sul
NMP – Número Mais Provável
ORAC – *Oxygen Radical Absorbance Capacity*
P. – *Passiflora*
RDC – Resolução da Diretoria Colegiada
TAVP – Testes Acelerados de Vida-de-prateleira
UFC – Unidades Formadoras de Colônia

USDA – *U.S. Department of Agriculture*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1. As <i>Passifloras</i> e o Cerrado	16
2.2. <i>Passiflora setacea</i> e a cultivar BRS Pérola do Cerrado	18
2.3. Espécies reativas e capacidade antioxidante	20
2.4. Compostos bioativos	21
2.4.1. Compostos fenólicos	22
2.4.1.1. Flavonoides	23
2.4.2. Vitamina C	26
2.5. Pasteurização	28
2.6. Testes acelerados para vida-de-prateleira.....	30
3. JUSTIFICATIVA	34
4. OBJETIVOS	35
4.1. Objetivo geral	35
4.2. Objetivos específicos	35
5. MÉTODOS	36
5.1. Obtenção das amostras.....	36
5.2. Pasteurização	37
5.3. Vida-de-prateleira acelerada	37
5.4. Determinação de TAVP	38
5.5. Análises microbiológicas	39
5.5.1. Contagem total de mesófilos aeróbios em placas	39
5.5.2. Contagem de coliformes totais e coliformes termotolerante.....	40
5.5.3. Contagem de bolores e leveduras	40
5.5.4. Detecção de <i>Salmonella</i> sp.	40
5.6. Preparo de extratos para determinação de perfil de flavonoides	41
5.7. Determinação do perfil de flavonoides	41
5.8. Preparo de extratos para quantificação de vitamina c	42
5.9. Quantificação de vitamina c	42
5.10. Preparo de extratos para determinação de atividade antioxidante por ORAC e FRAP	43
5.11. Determinação de FRAP – <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>	44

5.12. Determinação de ORAC – <i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>	45
5.13. Análise estatística	46
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
6.1. Análises microbiológicas	47
6.2. Flavonoides	51
6.3. Vitamina C	60
6.4. Atividade antioxidante	64
7. CONCLUSÃO	69
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70

1. INTRODUÇÃO

A Família Passifloraceae está presente em diversos países, com mais de 500 espécies conhecidas (MUSCHNER et al., 2012). No Brasil, em todos os biomas, incluindo o Cerrado, existem diferentes espécies, e entre elas, a *Passiflora setacea* (BRAGA; JUNQUEIRA; FALEIRO, 2006).

As Passifloras são reconhecidas popularmente por suas ações ansiolíticas e sedativas, que em grande parte, tem como sua droga vegetal folhas ou partes aéreas (BRASIL, 2018). A *P. setacea*, apesar de ser conhecida como Maracujá-do-Cerrado, não ocorre apenas nesse bioma, mas também na Caatinga, Semi-árido e Norte mineiro. A espécie destaca-se por atrair grande interesse de inserção no mercado pelas suas propriedades medicinais, incluindo ansiolítica e modulação do sistema imune, e pelo seu sabor exótico, doce e agradável (ATAÍDE et al., 2012), além de ser um fruto com grande potencial de cultivo no Brasil (ROSSI, 1998).

O cultivar BRS Pérola do Cerrado é advindo do melhoramento genético por processo massal utilizando policruzamento com frutos silvestres de *Passiflora setacea* de diferentes origens, visando principalmente o melhoramento no cultivo (BRASIL, EMBRAPA, 2013).

Estudos sensoriais prévios demonstraram grande aceitação sensorial ao néctar de BRS Pérola do Cerrado (CARVALHO; OLIVEIRA; MELO, 2018), além de suas propriedades funcionais procedentes dos seus bioativos, como vitamina C, flavonoides e compostos fenólicos (CARVALHO; OLIVEIRA; COSTA, 2018), demonstrando, assim, o potencial da *Passiflora setacea* para aplicação nas indústrias alimentícias, farmacêuticas e cosméticas.

Entretanto essa espécie é caracterizada por colheita sazonal, o que compromete seu uso durante processo produtivo de possíveis insumos ao decorrer do ano, sendo assim necessário que sua polpa passe por processos que garantam sua qualidade funcional e microbiológica para o uso.

Além disso, um dos maiores problemas relacionados a alimentos são as altas cargas microbianas (OLIVEIRA et al., 2010). Estes levam a graves problemas de saúde pública, como as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), que podem causar diarreias, vômitos, náuseas, dores de estômago, febre e até levar ao óbito

dependendo do patógeno e das condições prévias de saúde do hospedeiro (BRASIL, SVS, 2010). De acordo com a Secretaria de Vigilância Sanitária a *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. estão entre as bactérias que mais causam DTAs (BRASIL, SVS, 2010).

Dentre os processos tecnológicos utilizados nas indústrias alimentícias para diminuir a carga microbiana e conservar o alimento está a pasteurização, criada em 1864 por Louis Pasteur. A técnica consiste em utilizar temperaturas menores que 100°C durante um certo período de tempo, pelo qual o calor emitido no alimento diminui a carga de bactérias patogênicas e deterioradoras, porém podendo afetar a funcionalidade.

Com a mudança nos hábitos alimentares da população brasileira, os alimentos saudáveis e “*on-the-go*” ganharam força nos últimos anos pela conveniência e praticidade (EMBRAPA, 2014), e a manutenção da funcionalidade de alimentos processados pode ser um diferencial, sendo a polpa pasteurizada de *P. setacea* para o preparo de bebidas rápidas uma alternativa para esse mercado consumidor.

Deste modo avaliar a manutenção dos compostos bioativos funcionalidade e a vida-de-prateleira da polpa de *P. setacea* após processo de pasteurização é de grande interesse e importância para as indústrias farmacêuticas, alimentícias e cosméticas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 As *Passifloras* e o Cerrado

A família Passifloraceae é composta por 19 gêneros, sendo o *Passiflora* constituído por cerca de 400 espécies (BRAGA; JUNQUEIRA; FALEIRO, 2006), concentradas principalmente nos Trópicos e Subtropicais (IMIG; CERVI, 2014; ULMER; MACDOUGAL, 2004). No Brasil existem aproximadamente 130 espécies sendo mais de 80 nativas dos Biomas Brasileiros (BERNACCI et al., 2014), porém são poucas as espécies que têm estudos concretos e validados, dentre esses *Passiflora edulis* Sims é a que recebe mais destaque (MELETTI, 2011; BERNACCI et al., 2014). O cultivo ocorre em todas as regiões do país, com prevalência da região Nordeste (MELETTI, 2011), e o consumo da *P. edulis* Sims tem grande impacto econômico e social (JANICK, 2008), atraindo também a atenção e interesse das indústrias de alimentos, cosméticos e fármacos para outras espécies de *Passiflora*.

As *Passifloras* são reconhecidas popularmente por suas ações ansiolíticas e sedativas, que em grande parte, têm como sua droga vegetal folhas ou partes aéreas (BRASIL, 2018). Além disso, existem estudos que relatam ação antioxidante, anti-inflamatória e anticarcinogênica de suas polpas (GADIOLI et al., 2017).

O Cerrado é um dos Biomas com maior diversidade em flora (FILARDI et al., 2018), com escassez de chuvas, temperaturas elevadas e baixas umidades. Esses estresses fazem com que as plantas produzam alguns fitoquímicos em grande quantidade.

O Cerrado possui grande incidência de *Passifloras*, sendo mais de 40 espécies no Bioma natal ou em áreas de transição. Entre as espécies estão *P. quadrangulares*, *P. alata*, *P. nitida*, *P. serrato-digitata*, *P. cincinnata* e *P. setacea* (BRAGA; JUNQUEIRA; FALEIRO, 2006). A ocorrência dessas espécies em estado silvestre não garante alta produtividade ou qualidade dos frutos, sendo assim necessário, em geral, o melhoramento genético para que seja possível suprir a necessidade dos mercados consumidores.

Essas espécies vêm sendo consumidas em forma de suco, doce, geléia, medicamento ou ornamentalmente (BRAGA; JUNQUEIRA; FALEIRO, 2006), e ganhando uma grande importância na suplementação alimentar, comercial

farmacêutica e cosméticas industriais em virtude dos compostos bioativos presentes, principalmente a *Passiflora setacea* (SOZO, et al. 2016).

2.2 *Passiflora setacea* e a cultivar BRS Pérola do Cerrado

A *Passiflora setacea* é popularmente conhecida como Maracujá-do-Cerrado, Maracujá-do-sono, Maracujá-sururuca ou Maracujá-de-boi. Ocorre no Cerrado, Caatinga, Semi-árido e Norte mineiro, com colheita entre setembro e outubro (BRAGA; JUNQUEIRA; FALEIRO, 2006).

A *Passiflora setacea* se caracteriza por ser:

“Uma espécie trepadeira, vigorosa, resistente à seca. Os frutos são ovalados ou oblongos, com até 7 cm de comprimento por 4 cm em diâmetro e pesam de 30 a 125 gramas. Possuem casca verde-claro com listras verde-escuro em sentido longitudinal. Quando maduros, os frutos exibem aroma intenso e agradável.” (BRAGA, JUNQUEIRA, FALEIRO, 2006, p.219).

O cultivar BRS Pérola do Cerrado é oriundo do melhoramento genético por processo massal, utilizando policruzamento com frutos silvestres de *Passiflora setacea* de diferentes origens, visando principalmente o aumento do tamanho dos frutos e sua qualidade (BRASIL, 2013).

De acordo com Viana, Costa e Celestino (2015) os dados físico-químicos da polpa de BRS Pérola do Cerrado apresenta 80% de umidade; sólidos solúveis totais de 13,57° Brix; pH médio de 3,43; 86,8 Kcal em 100 gramas de polpa; 0,95% de proteína; 1,5% de fibras; 4,35 mg de sódio por 100 gramas de polpa e 0,68% de cinzas. Com esses dados é possível observar que consiste em uma polpa ácida com alto teor de umidade.

A polpa de BRS Pérola do Cerrado vem sendo utilizada *in natura* para produção de sucos e néctares. Carvalho et al. (2016) relatam 96,8% de aceitação do néctar feito a partir do BRS Pérola do Cerrado, o que é considerado alto pelos parâmetros usados, que levam em consideração índice maior ou igual a 85% (FNDE, 2006). Estudos prévios de análise sensorial também mencionaram alto teor de aceitação do néctar de BRS Pérola do Cerrado *in natura*, podendo ser consumido por um possível mercado consumidor (CARVALHO; OLIVEIRA; MELO, 2018).

No estudo de Carvalho, Costa e Oliveira (2018) foi demonstrado que o teor dos principais bioativos do BRS Pérola do Cerrado são influenciados pela época da

colheita e pela idade da planta.



Figura 1 – Fruto de *Passiflora setacea* – BRS Pérola do Cerrado (BOBROWSKI; CELESTINO, 2019).

2.3 Espécies reativas e capacidade antioxidante

Radicais livres são normalmente produzidos pelo metabolismo celular, porém quando há um desequilíbrio causado por doenças, processos infecciosos, desordens de inúmeras origens ou pela presença de algum agente xenobiótico, estas moléculas são produzidas em excesso levando a injúrias e danos teciduais, podendo causar malefícios aos sistemas (KEHRER; KLOTZ, 2015). O excesso de radicais livres pode levar a doenças como câncer, doenças neurodegenerativas, processos inflamatórios e desenvolvimento de doenças autoimunes, doenças cardiovasculares e síndromes metabólicas (KEHRER; KLOTZ, 2015; MAGALINGAM; RADHAKRISHNAN; HALEAGRAHARA, 2015).

Os principais átomos que compõem os radicais livres são o Oxigênio e o Nitrogênio, sendo nomeados de espécies reativas de oxigênio e espécies reativas de nitrogênio, respectivamente de EROS e ERNS, isso se deve a capacidade desses serem altamente reativos por terem números ímpares em sua camada de valência, desta forma deixando um elétron desemparelhado, geralmente formados durante reações de oxido-redução. Alguns exemplos de EROS são radicais superóxido, hidroperoxilas, peróxidos de oxigênio e outros (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

O corpo humano produz enzimas que combatem estes radicais livres, entre as enzimas estão a superóxido dismutase, glutathione peroxidase e entre outras (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). Além das enzimas produzidas pelo corpo, também é possível a utilização de moléculas que impedem a ação maléfica dos radicais livres, chamados de antioxidantes.

Os antioxidantes têm diversas procedências, incluindo origens vegetais e animais. Estudos demonstram a utilização de moléculas extraídas de secreção cutânea de *Physalaemus nattereri*, um sapo, como potentes antioxidantes (BARBOSA et al., 2018), além disso também são usadas moléculas presentes nas plantas, como os compostos fenólicos, que são compostos bioativos que possuem com inúmeras variedades de estrutura e representantes.

Os bioativos com ação antioxidante estão presentes em diversos gêneros do reino vegetal, incluindo plantas que são utilizadas na dieta, possibilitando a ingestão destas substâncias diariamente, deste modo é essencial o entendimento e a quantificação dos seus teores nos alimentos.

2.4 Compostos bioativos

Os compostos bioativos são moléculas produzidas geralmente pelo metabolismo secundário vegetal e apresentam ação biológica ao serem ingeridos pela dieta (CARVALHO; GOOSMAN; SCHENKEL, 2002). Existem várias classes representantes com numerosas moléculas. Cada composto bioativo tem sua rota metabólica de produção pela planta (Figura 1) modulado por inúmeros fatores.

Dependendo da lipofilicidade do metabólito, a molécula será armazenada em diferentes estruturas celulares. Moléculas hidrofílicas são estocadas em vacúolos, enquanto moléculas lipofílicas, em membranas e organelas como plastídios (CARVALHO; GOOSMAN; SCHENKEL, 2002).

As moléculas produzidas dependem do gênero e espécie da planta, assim como suas quantidades dependerão de inúmeros outros fatores, entre eles fatores sazonais e de estresse. Temperaturas máximas e mínimas, umidade, solo, tempo de colheita e incidência solar afetam mais os compostos fenólicos, entre eles os flavonoides (CARVALHO; COSTA; OLIVEIRA, 2018).

Dentre os bioativos encontrados no maracujá BRS Pérola do Cerrado, estão os compostos fenólicos, principalmente os flavonoides, e vitamina C (CARVALHO; COSTA; OLIVEIRA, 2018).

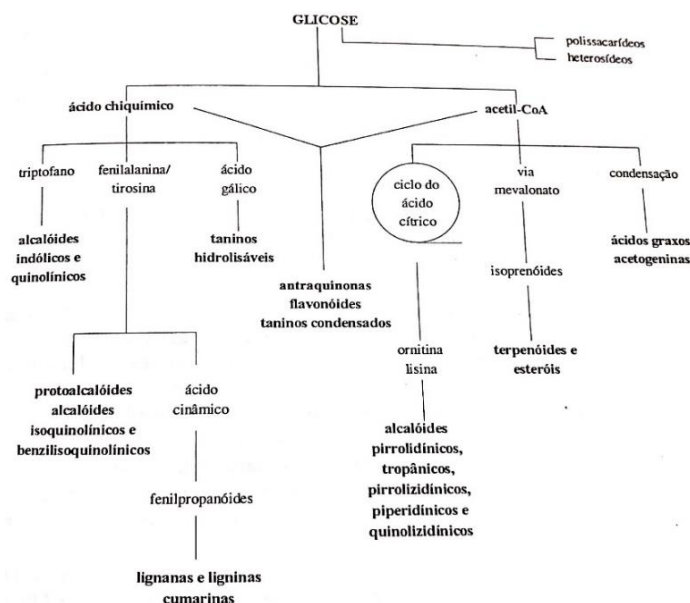


Figura 2 – Biossíntese do metabolismo vegetal secundário (SANTOS, 2002).

2.4.1 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são moléculas que contêm o anel benzoico e abrangem inúmeras classes de bioativos, como flavonoides, ácidos fenólicos, cumarinas e lignanas (ROCHA et al., 2011; CARVALHO; GOOSMAN; SCHENKEL, 2002). São produzidos pelo metabolismo secundário vegetal da planta a partir ácido chiquímico na via dos fenilpropanoides (LIN et al., 2016), ou pela via do acetato-polimalato. Moléculas produzidas a partir da via do ácido chiquimico possuem um grupamento hidroxila na posição *orto* do anel benzoico como o ácido cinâmico, enquanto as que são obtidas a partir da via mista são compostos com grupos hidroxilas em *meta*, como os flavonoides que são encontrados na natureza ligados a ésteres ou açúcares (CARVALHO; GOOSMAN; SCHENKEL, 2002).

Essa estrutura química garante a ação farmacológica de atividade antioxidante e anti-inflamatória (KUMAR; PANDEY, 2013; SOARES, 2002). Além disso, estudos recentes indicam que o consumo de dietas ricas em compostos fenólicos podem diminuir o risco do desenvolvimento de Diabetes tipo II e de doenças cardiovasculares (LIN et al., 2016), e também redução de tumores de pulmão (MULLER et al., 2019), porém são necessários mais estudos.

2.4.1.1 Flavonoides

Os flavonoides são uma classe de moléculas que pertence ao grupo dos compostos fenólicos, sintetizados a partir da via dos fenilpropanoides, pela via metabólica mista entre ácido chiquimico e acetil-CoA (KUMAR; SINGH; VERMA, 2015). São moléculas que derivam de uma molécula base constituída de 15 carbonos em sua estrutura, sendo formada por 3 anéis (A, B e C) insaturados e grupamentos hidroxilas (Figura 2). Ao total existem 6 subclasses, sendo essas flavononas, flavonas, isoflavonas, flavonóis, antocianinas e taninos condensados (VOGT, 2010), com diferenças a partir da estrutura principal. Podem ocorrer na forma aglicona, glicosilada e derivados metilados. (KUMAR; PANDEY, 2013).

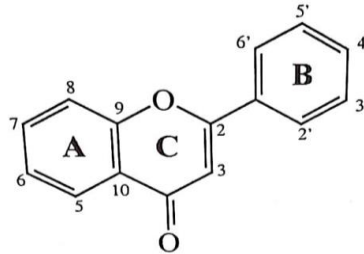


Figura 3 – Molécula base dos flavonoides (ZUANAZZI, 2002).

As características moleculares dos flavonoides têm sido associadas aos potenciais ações biológicas decorrentes da ingestão destes compostos na dieta como antioxidante, anti-inflamatório, hepatoprotetor, antibacteriano, antiviral, antitumoral e hormonal (SOARES, 2002). Estas atividades trazem benefícios a saúde por manter a homeostase dos processos bioquímicos e evitar a ocorrência de doenças degenerativas, entre elas as doenças neurodegenerativas, como doença de Parkinson e Alzheimer (MAGALINGAM; RADHAKRISHNAN; HALEAGRAHARA, 2015).

Os flavonóis têm uma insaturação no anel heterocíclico com um átomo de oxigênio no carbono 4 e um grupo hidroxila no carbono 3 (ambos no anel C), sendo os principais componentes dessa subclasse o kaempferol, quercetina e miricetina.

As flavonas apresentam uma estrutura molecular parecida aos flavonóis, a única diferença é que neste último há ausência do grupo hidroxila no carbono 3. Exemplos de moléculas são a luteolina e apigenina.

Os isoflavonoides têm uma estrutura em que o anel B é ligado ao anel C pelo carbono 3. As antocianinas têm um estado oxidado do sal flavilium. Os taninos têm

uma massa molecular alta, e são diferenciados em condensados e hidrolisados. Os taninos condensados são flavonoides poliméricos com muitos anéis, insaturações e grupamentos hidroxila (OLIVEIRA; CARVALHO; MELO, 2014), o que garante à molécula uma grande capacidade antioxidante.

Os representantes principais de cada classe podem sofrer modificações em sua estrutura como a isomerização. Alguns exemplos são a isoorientina (6-C-gli-luteolina) e a orientina (8-C-gli-luteolina) que são moléculas derivadas da luteolina, enquanto a vitexina (8-C-gli-apigenina) e isovitexina (6-C-gli-apigenina) são moléculas derivadas da apigenina.

A absorção destas moléculas depende do tamanho, lipofilicidade, pKa e configuração espacial. A maioria é absorvida no intestino, sendo transportada por SGLT1 ou LPH (beta-glicosidase presente na membrana do intestino delgado) (KUMAR; PANDEY, 2013).

Após a absorção, a molécula sofre reações de conjugação (fase II) no fígado por glucoronidação, sulfatação ou metilação. É excretada pela bile, e não é possível uma reabsorção pois a microbiota intestinal quebra os anéis da estrutura do flavonoide (KUMAR; PANDEY, 2013).

Esses compostos bioativos oferecem ações biológicas diversas com diferentes mecanismos de ação, porém a maioria está ligado à sua estrutura química.

Como citado anteriormente, existem muitos mecanismos de ação para o mesmo efeito farmacológico. Em relação a atividade antioxidante os flavonoides podem agir no estresse oxidativo das células imunes, aumentando fatores genéticos para a maior produção de enzimas antioxidantes endógenas, inibindo a peroxidação lipídica e inibindo a produção de EROS (espécies reativas de oxigênio). Por esses motivos, esta classe de bioativos também desempenha função hepatoprotetora (KUMAR; PANDEY, 2013).

A atividade antioxidante depende da subclasse, pois dependendo da modificação estrutural é possível ter uma maior atividade antioxidante, sendo a configuração do anel B a mais significativa em relação a esta ação nos EROS.

A quercetina tem capacidade de quelar íons metálicos e estabilizá-los, enquanto a epicatequina é um grande “*radicals scavengers*” e inibidor da peroxidação lipídica (KUMAR; PANDEY, 2013).

A atividade anti-inflamatória é reflexo da atividade antioxidante por agir nos

mediadores pro-inflamatórios, nas células do sistema imune e conseguir reparar os tecidos injuriados pela inflamação.

Existem relatos que os flavonoides agem na expressão de ácido nítrico, COXs (ciclooxigenases), lipooxigenase e PDEs (fosfodiesterases), fatores essenciais no processo inflamatório (KUMAR; PANDEY, 2013).

A atividade antitumoral dessas moléculas é possível devido à infraregulação de proteína mutantes e células, com capacidade de regular os ciclos celulares, disposição de se ligar a receptores estrogênicos e inibição da expressão de algumas proteínas mediadoras dos tumores (KUMAR; PANDEY, 2013).

A atividade antimicrobiana é descrita pela inibição das enzimas associadas ao ciclo de vida viral, inativação de adesinas e enzimas ligadas a infecções bacterianas (KUMAR; PANDEY, 2013).

2.4.2 Vitamina C

A vitamina C tem grande importância na indústria, sendo utilizado como aditivo em alimentos e em cosméticos. Além disso, é produzido pelas indústrias farmacêuticas como suplemento alimentar.

O nome vitamina C é amplamente usado para todas as moléculas que derivam do ácido ascórbico, sendo elas, o ácido L-ascórbico, ascorbato, ácido dehidroascórbico e ácido D-isoascórbico (Figura 3). Porém, o ácido dehidroascórbico e o ácido D-isoascórbico não apresentam atividade antioxidante (PENTEADO, 2003). O ácido D-isoascórbico, também chamado de ácido eritórbico ocorre em microrganismos e é amplamente utilizado na indústria alimentícia como estabilizante (BALL, 1998; BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998).

O ácido ascórbico é absorvido no intestino por transporte ativo Na^+ /Vitamina C pela SVCT 1 e logo chega ao sangue e é distribuído. Quando grandes quantidades são ingeridas causam desconforto intestinal e diarreia, sendo assim a dose usual entre 30 a 180 mg/dia (PENTEADO, 2003).

O ácido ascórbico é produzido pelo metabolismo vegetal oriundo da via metabólica do Ascorbato e Aldarato. Tem grande importância na alimentação humana, já que é um micronutriente essencial nas reações metabólicas (VAN GORKOM et al., 2019), podendo sua carência causar doenças como escorbuto. Além disso, demonstra ação antioxidante, em doenças neurodegenerativas (MORETTI; FRAGA; RODRIGUES, 2017; VAN GORKOM et al., 2019), mas também garante a homeostase dos tecidos na produção de colágeno e a reciclagem da vitamina E (PENTEADO, 2003).

Existem estudos que defendem o uso do ácido ascórbico como possível medicação em tratamentos para câncer (KUMAR; SINGH; VERMA, 2015), porém são necessários mais estudos.

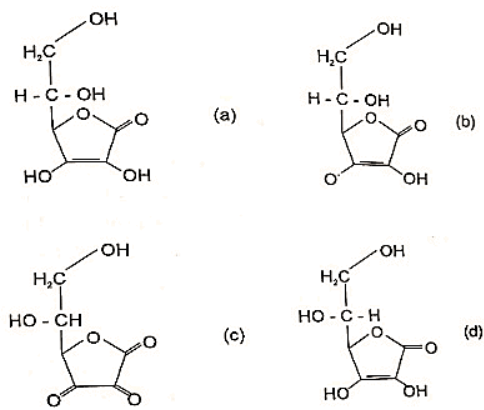


Figura 4: a) _ ácido L-ascórbico; b) _ ascorbato; c) _ ácido dehidroascórbico; d) _ ácido D-isoascorbico (PENTEADO, 2003).

2.5 Pasteurização

Alimentos *in natura* são produtos que não passaram por processos tecnológicos, sendo mais suscetíveis ao crescimento microbiano. As Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) ou Doenças Veiculadas a Alimentos (DVAs) constituem graves problemas de saúde pública. Essas são doenças causadas por microrganismos patogênicos ou alta carga microbiana em alimentos devido à falta de boas práticas de manipulação dos alimentos (BRASIL, SVS, 2010). As DVAs podem causar diarreias, vômitos, náuseas, dores de estômago, febre e outros problemas gastrointestinais (BRASIL, SVS, 2010). Dependendo do patógeno contaminante ou do indivíduo contaminado, pode levar a morte, como por exemplo EHEC (*Escherichia coli* Enterohemorrágica) sorotipo O157:H7 que causa síndrome hemolítica urêmica e colite hemorrágica (MITTELSTAEDT; CARVALHO, 2006). De acordo com a Secretaria de Vigilância Sanitária a *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. estão entre as bactérias que mais causam Doenças Vinculadas a Alimentos no Brasil (BRASIL, SVS, 2010).

Quando há o crescimento microbiano no alimento, além da contaminação, existe também a mudança de características sensoriais, mudando aspectos como cor, odor e textura, além de aspectos nutricionais.

O BRS Pérola do Cerrado tem colheita sazonal, que vai de julho a outubro, o que compromete seu consumo e uso contínuos na forma *in natura*. Desta forma, a utilização de processo tecnológico de conservação da polpa desenvolvido pela indústria alimentícia é necessária para que haja insumos ao decorrer do ano. Além disso, a polpa *in natura* é facilmente colonizada por micro-organismos pela alta atividade de água, o que tornaria inviável o seu uso a longo prazo. Desta forma, uma possibilidade de estender sua qualidade microbiológica é a utilização do processo de pasteurização.

A pasteurização é um processo térmico de conservação criado em 1864 por Louis Pasteur. Consiste na utilização de temperaturas até 100 °C durante um curto período nos alimentos. A temperatura emitida no alimento, levará a morte bacteriana por desnaturação das proteínas, mas também pode levar a diminuição da funcionalidade do produto (CELESTINO; SANCHEZ, 2018), sendo assim necessário para que não ocorra a degradação química do alimento, a utilização de temperaturas

brandas (CELESTINO; SANCHEZ, 2018).

Existem dois tipos de pasteurização utilizados geralmente, sendo elas a com baixas temperaturas e lentas (LTLT – *Low Temperature and Long Time*) e a com altas temperaturas e rápidas (HTST – *High Temperature and Short Time*). Em geral, o LTLT é utilizado por pequenos produtores rurais pelo seu baixo custo, porém é necessário a utilização de equipamentos resfriadores logo depois do processo, enquanto o HTST tem um preço mais elevado, porém o processo de resfriamento é acoplado ao pasteurizador (CELESTINO; SANCHEZ, 2018).

O processo HTST geralmente utiliza temperaturas maiores ou iguais a 72 °C por pequenos períodos de tempo, sendo considerada uma pasteurização alta (CELESTINO; SANCHEZ, 2018; VICENTE; CENZANO; J.M. VICENTE, 1996). É um equipamento constituído por 3 fases, sendo aquecimento, manutenção da temperatura de pasteurização e resfriamento.

Cada alimento necessita de uma pesquisa em relação a quais temperaturas e períodos são necessários na pasteurização para que se alcance o objetivo do processamento térmico sem, contudo, causar a degradação dos compostos do alimento e o impacto negativo nas suas características sensoriais (CELESTINO; SANCHEZ, 2018).

2.6 Testes acelerados para vida-de-prateleira

Existem fatores intrínsecos e extrínsecos que afetam a validade de um alimento. Exemplos de fatores extrínsecos são processamento, métodos de resfriamento, tipo de embalagem, temperatura de armazenamento, além das condições durante a distribuição, armazenamento, exibição no varejo e armazenamento pelo consumidor. Os intrínsecos levam em conta a natureza e qualidade das matérias-primas, formulação e estrutura do produto e disponibilidade de oxigênio e potencial redox (ANVISA, 2018).

Outros mecanismos também podem afetar a vida-de-prateleira de um produto, como a atividade de água e umidade, temperatura e pH que são itens essenciais na predição de crescimento microbiano, além de agentes de oxidação e redução e luz que levam a uma aceleração das reações de oxidação do alimento, podendo levar a perdas de moléculas, como os bioativos, entre elas a Vitamina C (ANVISA, 2018).

Vida-de-prateleira pode ser definida segundo a IFST (1993) como o tempo que o alimento é considerado seguro para a nutrição humana nas condições químicas, físicas, microbiológicas e sensoriais. É um método utilizado para determinar o tempo que o produto, conservado em temperaturas pré-estabelecidas, não sofre alterações a ponto de modificar as características do mesmo (MOURA, 2007), pelo qual normalmente são necessários estudos que podem durar até 200 dias em condições de temperaturas refrigeradas e ambientes, sendo estas respectivamente 5 °C, 25°C e 35°C.

A vida-de-prateleira acelerada (TAVP) é um método onde se consegue determinar a vida-de-prateleira em um menor período de tempo, geralmente com a utilização de fatores de aceleração de temperatura (GRIZOTTO et al., 2006), geralmente utilizando temperaturas maiores, como 45°C, com duração máxima que pode chegar à um mês. O TAVP leva em consideração uma relação conhecida e validada entre as características de um produto, de forma que ao alterar condições básicas e aumentar fatores que levam a uma deterioração mais rápida do alimento, podem ser definida uma relação preditiva entre a vida-de-prateleira relacionada à condições ambientes ou de armazenamento, por meio de modelos matemáticos (KILCAST E SUBRAMANIAM, 2000).

Para se obter a vida-de-prateleira, os modelos matemáticos utilizados são

necessários para observar a diferença, sendo linear ou não, entre os testes em tempo real e os acelerados, e assim podendo aplicar qualquer processo de deterioração que possua um modelo cinético válido, podendo ser químico, físico, bioquímico ou microbiano.

Cada parâmetro analisado no alimento, pode ter uma velocidade de reação, esta depende da cinética das reações, que são definidas por diferentes leis. Desta forma, encontrar a velocidade da reação é importante para entender o comportamento daquela variável no alimento durante sua deterioração.

Geralmente são utilizados modelos matemáticos que levam em consideração inúmeros parâmetros para conseguir prever qual será o comportamento da deterioração do alimento para tal parâmetro, incluindo a descoberta de qual ordem é a reação, podendo essa ser de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem (TEIXEIRA NETO, et al., 2004).

De acordo com a ordem da reação, o modelo matemático mudará, mudando assim as suas dependentes. Por exemplo, para reação de ordem zero, a velocidade não depende da concentração dos reagentes.

O sinal negativo nas reações é usado quando ocorre uma perda do fator de qualidade, por exemplo a deterioração de algum composto bioativo, como os flavonoides e vitamina C, e é usado o sinal positivo quando ocorre o contrário, dizendo assim que há um aumento do fator de qualidade.

É possível dizer que nas reações de ordem zero, se obtêm reações em linhas retas quando construídos em formato de gráfico com os eixos concentração vs tempo de reação, e isso é possível por seguir uma escala linear, sendo a inclinação da reta a constante de velocidade da reação (ARABSHARI; LUND, 1985), deste modo em uma equação linear representada de modo genérico $y=ax+b$, o a é a constante de velocidade da reação.

Quando citamos alimentos, alguns exemplos de reações de ordem zero são degradação enzimática de frutas e escurecimento não enzimático (AYLWARD; HAISMAN, 1969).

Assim como na ordem zero, ao se plotar um gráfico com os eixos concentração vs tempo de reação, é obtido uma equação da reta, pelo qual a inclinação da reta representa a velocidade de reação (ARABSHARI; LUND, 1985; MARTINS, 2009). Estas reações são comuns quando há um crescimento e morte de microrganismos e

a diminuição de vitaminas (MOURA, et al. 2007; MARTINS, 2009).

Como já citado, nos alimentos, as ordens de reação podem variar de ordem zero até a segunda, sendo possível encontrar diferentes ordens para diferentes componentes dos alimentos. Por exemplo, em um alimento pasteurizado, é esperado que o tratamento térmico mesmo que diminua a carga microbiana, também diminua de forma branda alguns ativos, como vitamina C, que é representada pela reação de ordem zero com sinal negativo (TEIXEIRA NETO, et al., 2004; MARTINS, 2009).

Quando um alimento entra para o mercado de varejo, é necessário saber quais os efeitos que o fator temperatura tem sobre as velocidades de reações, visto que esta pode acelerar a deterioração física, química, microbiológica e sensorial do produto, e assim modificando a sua validade. Deste modo, o modelo matemático que se aproxima na predição destes efeitos é a equação de Arrhenius (VITALI, et al., 2004; MARTINS, 2009):

$$\frac{d(\ln K)}{dT} = \frac{E}{R \times T^2} \quad (1)$$

Sendo:

T = temperatura absoluta;

E = energia de ativação aparente (cal. K⁻¹. mol⁻¹.);

R = constante dos gases (cal. K⁻¹. mol⁻¹.);

k = constante da velocidade de reação.

Integrando a equação acima, obtém-se:

$$\ln K = \frac{-E}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right) + \ln K_0 \quad (2)$$

Sendo,

E= energia de ativação (kcal/mol);

T= temperatura absoluta final (Kelvin);

T₀= temperatura absoluta de referência (Kelvin);

k= constante de velocidade da reação.

Após a obtenção da energia de ativação, é preciso achar o valor de Q_{10} . Esse coeficiente permite estimar a vida-de-prateleira do alimento, diminuindo a cada vez que multiplicado pela vida-de-prateleira já encontrada 10 °C. Desta forma é possível prever a validade do alimento para aquela variável 10 °C a menos da temperatura utilizada, para cada vez que multiplicada. Desta forma a equação de Q_{10} é apresentada de acordo com a seguinte equação:

$$Q_{10} = \frac{K_T}{K_{T-10}} = \frac{V.P (T-10)}{V.P (T)} \quad (3)$$

Ao se utilizar temperaturas altas, em sua maioria, maiores que 100 °C, pode ocorrer erros na estimativa da validade do alimento pelos modelos matemáticos de ordem das reações, pois é possível que ocorra reações oxidativas que levem a uma alteração na energia de ativação, sendo assim a utilização da reação de Arrhenius (Equação 1) e logo em seguida a aplicação do Q_{10} (Equação 3), permitem que se obtenha resultados mais confiáveis, principalmente para produtos que sofreram pasteurização (FARIA, 1990; MARTINS, 2009).

Sendo assim, é possível estimar a validade de um produto utilizando o teste de vida-de-prateleira acelerada. Como dito anteriormente, é importante este processo por perdurar durante um menor período de tempo, e obter, através dos experimentos e o uso dos modelos matemáticos, os mesmos resultados do que um experimento de vida-de-prateleira em métodos tradicionais.

Com a mudança nos hábitos alimentares da população brasileira, os alimentos saudáveis e “*on-the-go*” ganharam força nos últimos anos pela conveniência e praticidade (EMBRAPA, 2014), e a manutenção da funcionalidade de alimentos processados pode ser um diferencial, sendo a polpa pasteurizada de *P. setacea* para o preparo de bebidas rápidas uma alternativa para esse mercado consumidor, mas antes disso, é necessário a estimativa da vida-de-prateleira da polpa, para que após estes resultados seja possível uma futura elaboração destas bebidas.

3. JUSTIFICATIVA

A demanda por alimentos funcionais *in natura* e industrializados é crescente, assim como a procura por alimentos da biodiversidade brasileira. O maracujá BRS Pérola do Cerrado apresenta propriedades funcionais devido aos seus bioativos, sendo assim uma alternativa para os consumidores. O estudo da manutenção desses compostos após o tratamento térmico garante a qualidade da polpa pasteurizada e de produtos desenvolvidos a partir dessa, bem como contribui para a ingestão contínua de fontes sazonais de compostos bioativos.

4. OBJETIVO

4.1 Objetivo geral

Avaliar a manutenção da funcionalidade e da vida-de-prateleira da polpa de *P. setacea* BRS Pérola do Cerrado após processo de pasteurização.

4.2 Objetivos específicos

Determinar os teores de vitamina C e o teor e perfil de flavonoides de polpa de *P. setacea* antes e após a pasteurização;

Determinar a capacidade antioxidante do extrato hidrofílico da polpa de *P. setacea* antes e após a pasteurização;

Determinar a carga microbiana do produto após o processo de pasteurização;

Determinar a vida-de-prateleira acelerada da polpa pasteurizada.

5. MÉTODOS

Os frutos de maracujá BRS Pérola do Cerrado utilizados foram cultivados no campo experimental da Embrapa Cerrados, Planaltina-DF.

O processo de pasteurização foi realizado no Laboratório de química de alimentos localizado na Embrapa Cerrados, Planaltina-DF no período de agosto/2018.

Os experimentos de análise microbiológica e vida-de-prateleira acelerada foram realizados na Universidade de Brasília (UnB) e na Universidade Católica de Brasília (UCB).

Os experimentos de perfil de flavonoides e quantificação de vitamina C foram realizados no Laboratório de Medicamentos, Alimentos e Cosméticos situado no prédio da Faculdade de Saúde na sala AC 109, Universidade de Brasília, Campus Darcy Ribeiro no período de outubro/2018. Os experimentos de Atividade Antioxidante foram realizados no laboratório de Biologia Molecular do Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, Campus Darcy Ribeiro no período dezembro/2018. Os experimentos de vida-de-prateleira acelerada foram realizados no laboratório de Higiene de Alimentos, localizado no Bloco M, sala M 109, Universidade Católica de Brasília no período de setembro/2018.

5.1 Obtenção das amostras

Os frutos de BRS Pérola do Cerrado utilizados para a obtenção das amostras foram cultivados no campo experimental da Embrapa Cerrados, Planaltina-DF. Foi feito o plantio no sistema de condução espaldeira (2,10 cm altura x 1,90 cm de comprimento) com 70 cm de intervalo entre as plantas. A época de colheita foi em junho de 2018. A irrigação foi realizada se houvesse um período maior que 5 dias sem chuva.

Os frutos foram higienizados em solução de Hipoclorito de Sódio (100 ppm) por 15 minutos e, após esse período, foi feito um enxágue em água corrente. Em seguida os frutos foram abertos e foi retirado a polpa que passou por peneira para obtenção da polpa sem semente.

Estas amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e nomeados, após isto colocados em ultrafreezer para seguir para pasteurização.

Foram separadas alíquotas in natura utilizadas como controle dos estudos realizados.

5.2 Pasteurização

A polpa foi descongelada e pasteurizada no sistema construído na temperatura de 82 °C no tempo de 20 segundos. O sistema foi constituído por três estágios: aquecimento, retenção de temperatura e resfriamento.

Dois litros de polpa a 25°C foram colocados no recipiente. Água quente foi colocada em um segundo recipiente, que foi utilizada para a estabilização da vazão do sistema.

A polpa foi bombeada e entrou no estágio de aquecimento, onde circulou em um *chiller* cilíndrico a uma vazão de saída de 33,3 mL/s, sendo o tempo de residência de 7 segundos. Após sair do estágio de aquecimento, a polpa entrou no estágio de manutenção de temperatura, constituído por um banho de água e *chillers* cilíndricos. Após a pasteurização, a polpa foi imediatamente resfriada no terceiro estágio (estágio de resfriamento). A polpa pasteurizada foi bombeada para o interior de um *chiller* cilíndrico na forma de serpentina o qual estava mergulhado numa solução aquosa de álcool 40% a -5 °C. A temperatura de saída da polpa desse estágio foi de 6 a 8 °C. O sistema foi sanitizado com ácido peracético a 3% antes e depois das pasteurizações (Figura 5).

Este sistema foi feito de acordo com Celestino e Sanchez (2018), desenvolvido na Embrapa Cerrados, Planaltina-DF.

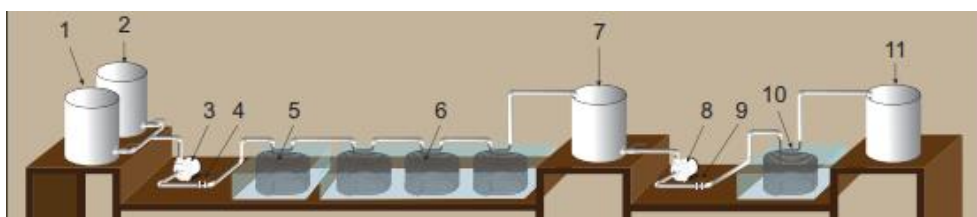


Figura 5 – Sistema de pasteurização HTST (CELESTINO; SANCHEZ, 2018).

5.3 Vida-de-prateleira acelerada

Os estudos foram realizados de acordo com os Testes Acelerados de Vida-de-Prateleira (TAVP), guiados de acordo com Vitali et al. (2004). Para isso as polpas

de BRS Pérola do Cerrado pasteurizadas sob o binômio tempo - temperatura 82 °C /20 s e *In natura* foram armazenadas em câmaras nas temperaturas de 0 °C (controle), 25°C, 35°C e 45°C, por 12 dias, sendo avaliadas a cada 2 dias quanto às variáveis microbiológicas (coliformes termotolerantes, *Salmonella* sp, mesófilos totais, bolores e leveduras), atividade antioxidante por ORAC e FRAP, perfil de flavonoides e vitamina C.

5.4 Determinação de TAVP

Foi conduzido de acordo com Vitali et al. (2004), Martins (2009) e Teixeira Neto et al. (2004).

Os resultados obtidos nos testes de vida-de-prateleira foram tabulados e calculados para achar seus respectivos teores das variáveis. Após isso, foram estabelecidos teores de redução máximas.

Para os padrões microbiológicos, os valores utilizados foram de acordo com a RDC n° 12 de 02 de Janeiro de 2001 da ANVISA e IN n° 1 de 7 de Janeiro de 2000. Para os flavonoides foi levado em consideração um teor de corte de 50% do valor inicial. Para ácido ascórbico o teor máximo de redução foi de 25% do valor inicial. Para atividade antioxidante os teores máximos de redução foram de 64% do valor inicial.

Após isso, para determinar a vida-de-prateleira, foi levado em consideração os valores de corte de cada parâmetro, e assim plotado gráficos tratamentos vs a função do tempo, resultando em uma equação da reta e a um R². A partir da equação da reta, foi encontrada a validade respectiva para cada temperatura.

Após isso foi utilizado a equação de Arrhenius, levando em consideração a inclinação da equação da reta como a constante de velocidade, e quando aplicado encontrado a energia de ativação de cada reação para cada temperatura em cada variável.

Sendo assim utilizado Logaritmo Natural da constante de velocidade, a temperatura de referência como 288,15 K (-15°C), e a constante dos gases ideais 1,98722 cal. K⁻¹. mol⁻¹.

Foi utilizado a temperatura de referência como 288,15 K pois foi necessário achar a vida-de-prateleira de -15 °C, que é a temperatura em que as polpas de fruta são geralmente comercializadas.

Ao descobrir o valor da energia de ativação, foi calculado o valor Q_{10} correspondente a cada temperatura. Logo em seguida, utilizou-se o valor já estimado da validade e estes foram multiplicados pelo valor de Q_{10} até chegar à temperatura desejada de $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$, já que quando este é multiplicado pela vida-de-prateleira, é decaído 10°C na estimativa da validade.

5.5 Análises Microbiológicas

Para fazer a diluição inicial foram retiradas amostras de 25 mL e homogeneizadas em 225 mL de água peptonada tamponada a 0,1% para obter a diluição 10^{-1} . A partir desta, foram feitas diluições decimais sucessivas até 10^{-5} em tubos de ensaio com 9 mL de água peptonada tamponada 0,1%. A partir das diluições decimais do caldo inicial foi feita a contagem total de mesófilos, coliformes totais e termotolerantes, leveduras e bolores e detecção de *Salmonella* sp., segundo metodologia proposta por SILVA et al. 2010.

Todos resultados obtidos foram comparados ao aceite pelos parâmetros da Instrução Normativa nº 1 de 7 de Janeiro de 2000, presente no Anexo 1 (Regulamento Técnico Geral Para Fixação Dos Padrões De Identidade E Qualidade Para Polpa De Fruta) subtítulo 8 (Higiene) e RDC nº 12 de 02 de Janeiro de 2001 da ANVISA.

5.5.1 Contagem total de aeróbios mesófilos em placas

A partir das diluições decimais, alíquotas de 0,1 mL foram transferidas para placas com Ágar Padrão para Contagem e espalhadas com alça de Drigalski em Cabine de Segurança Biológica Classe II tipo B2. Foram transferidas para estufa a 37°C por 48 horas. Logo após este processo foi feita a contagem de UFC (Unidades Formadoras de Colônia)/ grama de polpa, levando em consideração a diluição utilizada.

5.5.2 Contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes

A partir das diluições decimais, alíquotas de 1 mL foram transferidas para séries de três tubos com 10 mL Caldo Lauril Sulfato Triptose contendo tubos de Durham, que foram colocados em estufa a 35°C por 24 horas. Após, foi observada se houve a produção de gás no interior de tubo de Durham, caso houvesse produção de gás, estes seriam transferidos com uma alçada para dois tubos, um com Caldo Verde Brilhante Bile 2% e outro com Caldo Escherichia coli. Estes foram incubados em 45°C por 48 horas e examinados se houve ou não produção e gás. Os resultados foram expressos em NMP (Número Mais Provável)/ grama de polpa, levando em consideração os resultados obtidos pelas diluições realizadas.

5.5.3 Contagem de bolores e leveduras

A partir das diluições decimais, alíquotas de 0,1 mL foram transferidas para placas com Ágar Batata Dextrose (BDA) e espalhadas com alça de Drigalski. Foi incubado a 25°C por 5 dias e feito a contagem de UFC (Unidades Formadoras de Colônia)/ grama de polpa, levando em consideração a diluição utilizada.

5.5.4 Detecção de *Salmonella* sp.

Foram homogeneizados 25 mL de amostra em 225 mL de Água Peptonada pré-enriquecida. Após, 24 horas incubado a 37°C, foi transferido 0,1 mL para um tubo com 10 mL do Caldo Rappaport Vassiliadis (RV) que ficou incubado por mais 24 horas a 41°C. Da cultura em RV, foi estriado uma alçada (estrias de esgotamento) em Ágar Xilose Lisina Desoxicolato que foi incubado a 37°C por 24 horas e observado assim seu resultado. Os resultados foram expressos em UFC (Unidades Formadoras de Colônia)/ grama de polpa, levando em consideração a diluição utilizada, e a cor que estas culturas ficaram.

5.6 Preparo dos extratos para determinação de composição de flavonoides

A metodologia empregada para a obtenção dos extratos etanólicos foi de acordo com Larrauri et al. (1997), com ajustes.

Foram pesados 5 g de polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado em tubo Falcon 50 mL, adicionados 10 mL de etanol 50% e homogeneizados em mesa agitadora por 30 minutos, foi levado ao banho ultrassom por 10 minutos e novamente a mesa agitadora por 15 minutos.

A mistura de extração foi acondicionada em temperatura ambiente ao abrigo de luz por 24 horas.

Posteriormente o extrato foi centrifugado por 15 minutos a 5000 rpm, filtrado com fibra de lã de vidro e transferido para vidros âmbar com tampa e foram armazenados em ultrafreezer a -80 °C até dia da análise.

5.7 Determinação da composição de flavonoides

Para análise foram pipetados 1 mL de extrato e adicionado 0,25 mL de solução ácido clorídrico; metanol 30%; BHT (12:87:1) em tubo Eppendorf de 2 mL. Após este processo, os tubos foram levados por 10 minutos ao banho ultrassom imersos em água destilada. Posteriormente foram filtrados com filtros MiliPore (HV millex em polietileno) 0,45 µm para vial âmbar.

Para identificação e quantificação foi utilizado Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE/HPLC), com separação por coluna C18 Synergi 4µ Fusion RP (250 x 4,6 mm; 4 µm) (Phoenomenex, EUA), bomba quaternária e detector de arranjo de diodo (DAD), controlados pelo software LabSolutions.

A fase móvel foi constituída de (A) água:tetrahidrofurano:ácido trifluorácetico (98: 2: 0,1) (B) Acetonitrila.

No método foi utilizado gradiente 80% de A e 20% de B, com fluxo de 0,5 mL/minuto por 25 minutos. Os padrões utilizados neste método foram orientina, vitexina, isovitexina, isoorientina e epicatequina obtidos de Sigma Chemicals co. Os cromatogramas foram detectados a λ 280 nm. As análises foram realizadas em quadruplicata por amostra.

Para a curva padrão de cada flavonoide, foi realizado solução estoque de 0,1

mg/mL e as seguintes concentrações (10, 20, 40, 60, 80 e 100%). Foram filtrados com filtros MiliPore (HV millex em polietileno) 0,45 µm para vial âmbar, e realizada as leituras a λ 280 nm de acordo com o fluxo e tempo de cada método correspondente.

Os teores de flavonoides foram expressos em mg de flavonoide por 100 gramas de polpa de fruta úmida de maracujá BRS Pérola do Cerrado.

5.8 Preparo dos extratos para quantificação de vitamina C

A metodologia empregada para a extração do ácido ascórbico foi executada de acordo com Campos et al. (2009).

Foram pesadas 5 g das amostras de polpa de maracujá BRS Perola do Cerrado e posteriormente foram acrescentados 10 mL da Solução Extratora (Ácido metafosfórico 3% + ácido acético 8% + ácido sulfúrico 0,3 N + EDTA 1 mM). Vale ressaltar que as amostras foram protegidas contra a luz solar ou artificial, utilizando-se material de vidro âmbar.

5.9 Quantificação de vitamina C

Para realizar a análise, foi empregada a metodologia descrita por Franke et al. (2004), com alterações.

A fase móvel foi composta por 1 mM de fosfato monobásico de sódio, pesando 0,2759 gramas para 100 mL, e 1 mM de EDTA, pesando 0,8089 gramas para 100 mL. O pH foi ajustado para 3,0 com o auxílio do ácido fosfórico.

A conversão de DHA em AA foi procedida de acordo com a metodologia abordada em Campos et al. (2009).

Para quantificar Ácido Ascórbico Total foi utilizado 1mL de extrato e adicionar 1 mL de solução Trizma (0,5 M) contendo DTT 40mM, espera-se 15 minutos em vidro âmbar, ao abrigo de luz para ocorrer a reação. A amostra foi filtrada em unidade filtrante MiliPore (HV millex em polietileno) 0,45 µm para vial âmbar.

Para quantificar Ácido Ascórbico, foi realizado o mesmo processo de reação para AAT, porém após os 15 minutos, foi adicionado 0,5 mL de solução de Ácido Sulfúrico 0,4 M, e então a amostra foi filtrada em unidade filtrante MiliPore (HV millex em polietileno) 0,45 µm para vial âmbar.

Todos os extratos e conversões foram realizados ao abrigo de luz com temperatura média de 5 °C mantidos por gelo em caixa de isopor.

Foi utilizada para as análises a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência HPLC\CLAE acoplado ao detector de arranjo de diodo, com a coluna C18 Synergi 4µ Fusion RP 250 x 4,6 mm; 4 µm (Phoemenex, EUA). Além disso, o fluxo foi adequado para 1 mL/ min, em método isocrático. A detecção foi ajustada para ser realizada a 245 nm.

Para poder identificar o ácido ascórbico nas amostras obtidas, foi comparado o tempo de retenção constatado nas amostras com os obtidos pelo padrão de ácido ascórbico grau HPLC obtido de Sigma Chemicals co.

A curva padrão foi feita nas seguintes concentrações de solução de ácido ascórbico a 1 mg/mL (0, 6,5 ,12,5 ,25, 50, 75 e 100%).

O DHA (dehidroascórbico) foi quantificado pela diferença de conteúdo AAT (ácido ascórbico total) com AA (ácido ascórbico). É importante enfatizar que a injeção cromatográfica foi efetuada imediatamente após esta reação de conversão, foi realizada em triplicata.

Os dados de vitamina c foram expressos em mg de ácido ascórbico/100 gramas de polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado, além disso foi obtido o % de redução do bioativo, que é calculado por: $100 - (\text{mg bioativo pasteurizado}/\text{mg de bioativo } in\ natura)*100$.

5.10 Preparo de extrato para determinação de atividade antioxidante por ORAC e FRAP

Foi feita de acordo com Larrauri et al. (1997), com ajustes.

Foram pesados aproximadamente 5 gramas de polpa de BRS Pérola do Cerrado em um Falcon de 15 mL, após isto, foi adicionado 10 mL de Metanol 50%, que foram colocados em ultrassom por 5 minutos. Seguida de homogeneização em mesa agitadora por 30 minutos e deixados em geladeira a 5°C por 24 horas ao abrigo de luz.

No dia seguinte, foi centrifugado a 4000 rpm por 15 minutos e recolhido o sobrenadante.

Após este processo, foi adicionado 10 mL de Acetona 70%, que foi

homogeneizado em mesa agitadora por 30 minutos e centrifugado a 4000 rpm por 15 minutos. Este processo foi repetido 4 vezes. Sendo assim recolhidos aproximadamente 50 mL de sobrenadante.

Depois de recolher todo o sobrenadante, a amostra foi avolumada em balão volumétrico âmbar de 50 mL com água destilada, que após isto foi filtrado com lã de fibra de vidro e transferido para vidro âmbar identificado e acondicionado em ultrafreezer até dia da análise.

5.11 Determinação de FRAP – *Ferric Reducing Antioxidant Power*

A metodologia *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) é utilizada para determinar o poder antioxidante da amostra na redução do ferro presentes em fluídos biológicos e meios aquosos, podendo ser usado na análise de alimentos, como em bebidas e polpas (PLUIDO et. al, 2000). Esta análise é importante pois os íons ferro são potentes oxidantes, já que levam a formação de espécies reativas do metabolismo do oxigênio (ERMOs), podendo acarretar ao aumento do estresse oxidativo (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

Foi conduzida de acordo com Pluido et. al (2000), com modificações. Para determinação da atividade antioxidante por FRAP (Atividade Antioxidante por Redução do Ferro) foi necessário fazer três diluições seriadas (100%, 80% e 50%) em triplicata de cada amostra.

Após esta diluição realizada, foi necessário transferir 90 µL de cada para um respectivo tubo de ensaio identificado. Foi adicionado 270 µL de água destilada, e 2700 µL de reagente FRAP – Tampão Acetato 0,3 M, Solução TPTZ 10 mM e Solução Aquosa de Cloreto Ferrico 20 mM (8:1:1).

A solução foi homogeneizada e mantida em banho maria a 37°C por 30 minutos. Todos estes processos foram realizados ao abrigo de luz.

Foi utilizado espectrofotômetro UV-vis. A leitura foi realizada a 595 nm após a amostra ser retirada do banho maria. O reagente FRAP foi o branco.

Para a curva padrão foi utilizado solução mãe de Trolox a 0,001 g/mL. A partir da Solução Mãe, foi realizada diferentes concentrações (50, 100, 200, 300, 500 e 800 µM) que foram completadas com Metanol. Foi realizado o mesmo processo para o preparo da amostra para leitura, e a leitura feita no mesmo comprimento de onda.

Os resultados obtidos no método FRAP foram expressos em μmol equivalente de Trolox por 100 gramas de polpa de BRS Pérola do Cerrado, além disso foi obtido o % de redução, que é calculado por: $100 - (\text{mg pasteurizado}/\text{mg } in\ natural) * 100$.

5.12 Determinação de ORAC – *Oxygen Radical Absorbance Capacity*

A metodologia *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC) é utilizada para determinar a capacidade da amostra em absorver e diminuir os radicais oxigênio livres. Assim como FRAP, este método pode ser utilizado tanto em fluidos biológicos, quanto em alimentos. Esta análise é importante pois por meio de decaimento da fluorescência ao longo do tempo, consegue quantificar a capacidade que a amostra tem em absorver os radicais de oxigênio, visto que estes em excesso levam ao estresse oxidativo dos tecidos, prejudicando a homeostase dos sistemas (ALBARICI; FREITAS; PESSOA, 2009).

Realizada de acordo com Albarici, Freitas e Pessoa (2009), com modificações.

Para análise ORAC (Capacidade de Absorção do Radical Oxigênio) foi utilizado leitor de microplaca (Spectramax®), empregando Fluorescência e método Cinético com placa 96 poços preta (Lumox®).

Foi pipetado 150 μL de Fluoresceína 63 mmol/L , seguido por 25 μL de amostra, após isto, a placa foi incubada no equipamento a 37°C por 5 minutos. Logo em seguida, foi acrescentado 125 μL de solução AAPH 178 mmol/L e incubado por mais 10 minutos no equipamento.

As mensurações foram feitas a cada minuto com $\lambda_{\text{ex}}485\text{nm}$ e $\lambda_{\text{em}}520\text{nm}$ por 50 minutos, ou até decair toda fluorescência da amostra. Foi realizado triplicata de cada amostra.

O branco utilizado foi Tampão Fosfato. Para o padrão foi necessário preparar uma solução mãe de Trolox a 2,051 mg/mL , após isto, diluir 500 μL em 50 mL de solução Tampão Fosfato. A curva padrão foi realizada nas seguintes concentrações: 40, 30, 20 e 10 $\mu\text{mol/L}$.

Os resultados obtidos no método ORAC foram expressos em μmol equivalente de Trolox por 100 gramas de polpa de BRS Pérola do Cerrado, além disso foi obtido o % de redução, que é calculado por: $100 - (\text{mg pasteurizado}/\text{mg } in\ natural) * 100$.

5.13 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados por análise de variância (ANOVA) com aplicação do teste de Tukey para comparação das médias ($p < 0,001$). Essas análises foram feitas com o auxílio do software XLSTAT (ADDINSOFT, New York, NY).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Análises Microbiológicas

Para a discussão dos resultados das análises microbiológicas, foram levados em conta a RDC nº 12 de 02 de Janeiro de 2001 da ANVISA que regulariza o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, além da Instrução Normativa nº 1 de 7 de Janeiro de 2000 do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que regulariza os padrões de identidade e qualidade das polpas de fruta comercializadas no Brasil.

De acordo com a RDC nº 12 da ANVISA, para frutas frescas, produtos de frutas ou similares “*in natura*”, com exceção do morango, acorda um limite aceitável de 5×10^2 NMP/g para coliformes termotolerantes e ausência de *Salmonella* sp. para 25 g de produto, porém se este produto passou por algum processo térmico, como a pasteurização, o limite para coliformes termotolerantes diminui para 1×10^2 NMP/g, e para *Salmonella* sp./25g também deverá ser ausente.

A Instrução Normativa nº 1 do MAPA, regulariza que a soma de bolores e leveduras não deve ultrapassar 5×10^3 UFC/g de polpa para alimentos “*in natura*”, já para aquele que sofreu algum tratamento térmico, não se deve ultrapassar 2×10^3 UFC/g. Além disso, a IN nº 1 de 2000 afirma que a polpa só será aceita e poderá ser comercializada seguindo os parâmetros de qualidade microbiológica se tiver máximo de 1 NMP/g para coliformes e ausência de *Salmonella* sp., tenha este produto passado ou não por processamento térmico.

Levando em consideração as legislações vigentes descritas a cima, é possível observar para bolores e leveduras que o processo de pasteurização diminuiu a carga microbiana, como esperado, quando comparados os resultados obtidos no dia 0, já que o tratamento *in natura* demonstrou um crescimento de 3×10^2 UFC/g, enquanto após a pasteurização não houve nenhum crescimento, porém mesmo que tenha tido esse resultado nas amostras *in natura*, esta segue e respeita os limites estabelecidos com a IN nº 1.

Ao decorrer dos dias de experimento de vida-de-prateleira é possível analisar que houve aumento da carga microbiana de bolores e leveduras em ambos tratamentos, porém é observável que houve uma estabilização do crescimento em

1x10¹UFC/g até o dia 6 nas amostras pasteurizadas em todas temperaturas, após este período houve crescimento na temperatura 35°C e 45°C, chegando respectivamente a 5x10⁶ e 2x10⁷ UFC/g no último dia de análise (Tabela 1).

Para as amostras *in natura* nas análises de bolores e leveduras (Tabela 1), estas seriam aceitas de acordo com a IN n° 1, o máximo de culturas para polpas deste tratamento não deve ultrapassar 5x10³ UFC/g, até o dia 2 para a temperatura de 25° C (3x10³ UFC/g de polpa), até o dia 4 para a temperatura de 35°C (4x10³ UFC/g de polpa) e até o dia 8 para a temperatura 45°C (3x10³ UFC/g de polpa). Porém quando analisadas as amostras pasteurizadas para bolores e leveduras (Tabela 1), estas seriam aceitas de acordo com a IN n° 1, o máximo de culturas para polpas deste tratamento não deve ultrapassar 2x10³ UFC/g pois sofreu tratamento térmico, até o dia 12 para a temperatura de 25° C (1x10¹ UFC/g de polpa), até o dia 8 para a temperatura de 35°C (3x10² UFC/g de polpa) e até o dia 10 para a temperatura 45°C (1x10¹ UFC/g de polpa).

Sendo assim, é demonstrado que o processo de pasteurização foi eficaz quando levado em consideração os resultados de bolores e leveduras (Tabela 1). Estes resultados são utilizados para determinar a vida-de-prateleira do produto.

Para mesófilos aeróbios (Tabela 1) é possível observar que houve diminuição considerável de microrganismos quando comparado o dia 0 do tratamento *in natura* (8x10¹ UFC/g de polpa) e o pasteurizado (3x10⁰ UFC/g de polpa), confirmando que o processo de pasteurização foi eficaz.

Não há legislação brasileira vigente que leve em consideração os mesófilos aeróbios, porém é interessante analisa-los para se ter uma ideia geral de bactérias mesófilas presentes no produto, já que essas são as que conseguem se proliferar na temperatura em torno de 37°C, que é a do corpo humano, porém as mesofílicas que são mais patogênicas presentes em alimentos são os gêneros *Enterobacter* sp., *Escherichia* sp., *Klebsiella* sp., *Shigella* sp. e *Salmonella* sp., sendo as três primeiras citadas consideradas coliformes. Deste modo a análise de coliformes se torna essencial, assim como a de detecção de *Salmonella* sp.

Segundo as legislações RDC n° 12 o máximo de coliformes que podem estar presentes 5x10² NMP/g de polpa em amostra *in natura*, e 1x10² NMP/g de polpa para as que sofreram tratamento térmico, enquanto a IN n° 1 coloca como limite aceitável de coliformes 1 NMP/g, independente se a amostra passou ou não por algum

processamento. Entretanto, nas amostras de ambos tratamentos (Tabela 1) não houve produção de gás em nenhum tubo de Durham, não havendo a presença de coliformes, sendo representado por <3 NMP/g de polpa.

Em ambos os tratamentos, independentes dos dias decorridos nos experimentos para determinar a vida-de-prateleira, não houve crescimento para *Salmonella* sp. (Tabela 1), como é demandado pela RDC nº 12 e IN nº 1.

Para determinar a vida-de-prateleira da polpa de BRS Pérola do Cerrado na variável microbiológica foram utilizados como parâmetro os valores estabelecidos pela RDC nº 12 e IN nº 1 do quesito bolores e leveduras, utilizando os cálculos chegou-se a 120 dias para polpa *in natura* e 180 dias para polpa pasteurizada para – 15°C (Tabela 1), que é a temperatura utilizada para a distribuição, armazenamento, exibição no varejo e armazenamento pelo consumidor de polpas congeladas. Deste modo, é possível observar que há uma maior duração do produto para parâmetros microbiológicos quando pasteurizado.

Deste modo, de forma geral e levando em consideração os resultados obtidos (Tabela 1), é possível concluir que o processo de pasteurização foi eficaz, conseguindo diminuir a carga microbiana e aumentando a validade final do produto, quando comercializado e armazenado a -15° C, em 60 dias.

Tabela 1 – Análises microbiológicas e vida-de-prateleira em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos *in natura* e pasteurizado.

Análises Microbiológicas						
Bolores e Leveduras (UFC/g)						
Dia/Tratamento	<i>In natura</i>			Pasteurizado		
	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C
0	3,00E+02	3,00E+02	3,00E+02	0	0	0
2	3,00E+03	3,00E+03	0,00E+00	0	0	1,00E+01
4	1,00E+04	4,00E+03	4,00E+01	1,00E+01	1,00E+01	1,00E+01
6	3,00E+04	4,00E+05	7,00E+02	1,00E+01	1,00E+01	1,00E+01
8	1,00E+07	4,00E+05	3,00E+03	1,00E+01	3,00E+02	1,00E+01
10	2,00E+07	1,00E+06	6,00E+03	1,00E+01	2,00E+06	1,00E+01
12	2,00E+07	INCONTAVEL	INCONTAVEL	1,00E+01	5,00E+06	2,00E+07
Mesofilos aeróbios (UFC/g)						
Dia/Tratamento	<i>In natura</i>			Pasteurizado		
	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C
0	8,00E+01	8,00E+01	8,00E+01	3	3	3
2	8,00E+02	9,00E+02	4,00E+01	3,00E+00	3,00E+00	0,00E+00
4	1,00E+03	1,00E+03	2,00E+03	3,00E+02	3,00E+00	0,00E+00
6	1,00E+04	6,00E+04	2,00E+03	1,00E+01	5,00E+00	3,00E+00
8	2,00E+06	2,00E+05	2,00E+03	3,00E+02	4,00E+02	5,00E+00
10	1,00E+07	3,00E+05	4,00E+04	2,00E+05	5,00E+05	3,00E+03
12	INCONTAVEL	INCONTAVEL	1,00E+05	3,00E+03	7,00E+05	5,00E+06
Coliformes totais e termotolerantes (NMP/g)						
Dia/Tratamento	<i>In natura</i>			Pasteurizado		
	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C
Dias 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12.	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
<i>Salmonella sp.</i>						
Dia/Tratamento	<i>In natura</i>			Pasteurizado		
	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C
Dias 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12.	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Vida-de-prateleira – Análises Microbiológicas						
Vida-de-prateleira com armazenamento a -15 °C	<i>In natura</i>			Pasteurizado		
	120 dias			180 dias		

6.2 Flavonoides

Foram quantificados 5 padrões de flavonoides e estipulado a vida de prateleira caso a amostra fosse armazenada a -15 °C para cada um, com perda máxima de 50% do índice inicial. Os resultados foram obtidos em mg/100g de polpa úmida de BRS Pérola do Cerrado.

Em isoorientina (Tabela 2) foi possível observar que a pasteurização afeta significativamente ($p < 0,001$) o teor, com perda 59,37% do índice inicial, quando a polpa estava *in natura*.

Quando observado as concentrações na polpa durante o experimento de vida de prateleira, o tratamento *in natura* apresentou comportamento diferente que o pasteurizado.

Tabela 2 - Teor de isoorientina em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos *in natura* e pasteurizado.

Dias/Tratament	Isoorientina (mg/100g)								
	<i>In natura</i>			Pasteurizado			% de redução		
	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C
0	152,07	152,07	152,07	61,78	61,78	61,78			
0	Aa	Aa	Aa	Ba	Ba	Ba	59,3	59,3	59,3
	± 3,60	± 3,60	± 3,60	± 0,55	± 0,55	± 0,55	7	7	7
	148,25	139,01	123,83	53,66	52,35	45,56			
2	Ab	Bb	Cb	Db	Db	Eb	63,8	62,3	63,2
	± 0,57	± 0,48	± 0,90	± 0,42	± 2,66	± 1,87	0	4	0
	144,66	138,49	120,10	52,07	51,20	43,27			
4	Ac	Bb	Cbc	Db	Db	Ec	64,0	63,0	63,9
	± 2,21	± 0,47	± 4,7	± 2,61	± 2,36	± 0,33	0	2	7
	138,36	125,61	118,79	47,13	51,17	30,95			
6	Ad	Bc	Cc	Ec	Db	Ed	65,9	59,2	73,9
	± 1,13	± 3,02	± 3,66	± 1,64	± 0,72	± 0,61	3	6	4
	131,04	117,73	114,24	36,79	19,70	29,31			
8	Ae	Bd	Bd	Cd	Ec	Dde	71,9	83,1	74,3
	± 2,25	± 4,77	± 1,13	± 0,45	± 0,93	± 0,48	2	8	4
	74,71	73,32	87,76	33,26	17,47	28,49			
10	Af	Ae	Be	Ce	Ed	Def	55,4	76,1	67,5
	± 1,97	± 0,39	± 3,83	± 0,60	± 0,36	± 0,88	8	7	3
	69,90	71,20	82,16	25,56	14,13	27,09			
12	Cg	Bf	Af	Df	Ee	Df	63,4	80,1	67,0
	± 0,84	± 0,39	± 3,60	± 1,56	± 0,39	± 1,29	3	5	2

**Letras maiúsculas diferentes na horizontal indicam diferença estatística ($p < 0,001$) no teor de isoorientina entre os tratamentos *in natura* e pasteurizado, nas temperaturas 25°C, 35°C e 45°C. Letras minúsculas diferentes na vertical indicam diferença estatística ($p < 0,001$) no teor de isoorientina do mesmo tratamento em relação aos dias de vida-de-prateleira. Valor p de acordo com Teste de Tukey ($p < 0,001$) utilizando o software XLSTAT (ADDINSOFT, New York, NY).

As amostras sem o processamento térmico (Tabela 2) que ficaram armazenadas na temperatura 25°C apresentaram diferença estatística entre todos os dias ($p < 0,001$). Na temperatura 35°C também houve diferença estatística ($p < 0,001$)

em quase todas as amostras, menos entre os dias 2 e 4. Contudo, na temperatura 45°C não houve diferença estatísticas ($p \geq 0,001$) entre os dias 2 e 4 e os dias 4 e 6, enquanto nos outros foi observada diferença estatística ($p < 0,001$).

As amostras que passaram pelo processamento térmico (Tabela 2) que ficaram armazenadas na temperatura 25°C apresentaram diferença estatística entre todos os dias ($p < 0,001$), menos entre os dias 0 e 2. Na temperatura 35°C também houve diferença estatística ($p < 0,001$) em quase todas as amostras, menos entre os dias 2, 4 e 6, que não apresentaram diferença ($p \geq 0,001$). Entretanto, na temperatura 45°C não houve diferença estatística ($p \geq 0,001$) entre os dias 6 e 8, os dias 8 e 10 e os dias 10 e 12, enquanto nos outros foi observada diferença estatística ($p < 0,001$).

As porcentagens de redução variaram de 59,20% até 83,18%, ambos armazenados na temperatura 35°C, porém nos dias 6 e 8 respectivamente (Tabela 2).

Tabela 3 - Teor de orientina em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos *in natura* e pasteurizado.

Dias/Tratamento	Orientina (mg/100g)								
	<i>In natura</i>			Pasteurizado			% de redução		
	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C
0	13,80	13,80	13,80	12,79	12,79	12,79	7,31	7,31	7,31
	Aa	Aa	Aa	Ba	Ba	Ba			
	± 0,94	± 0,94	± 0,94	± 0,12	± 0,12	± 0,12			
2	13,65	13,60	13,53	12,28	11,20	9,75	10,03	17,64	27,93
	Aab	Aa	Aa	Ba	Cb	Db			
	± 2,11	± 0,23	± 2,23	± 0,31	± 0,05	± 1,28			
4	12,32	9,67	13,15	11,58	9,02	9,62	6,00	6,72	26,84
	Bb	Db	Aa	Cb	Dc	Db			
	± 0,28	± 0,21	± 1,95	± 1,29	± 1,33	± 0,47			
6	11,50	8,41B	8,82	7,27	7,80	8,41	36,78	7,25	4,64
	Ac	Cc	Bb	Dc	Dd	BCc			
	± 0,49	± 1,08	± 0,06	± 0,93	± 0,66	± 0,98			
8	8,66	6,88	7,61	7,22	0,52	1,54	16,62	92,44	79,76
	Ad	Cd	Bc	Bc	Ee	Dd			
	± 0,41	± 0,09	± 1,68	± 0,83	± 0,00	± 0,00			
10	7,31	5,74	6,65	0,33	0,05	0,33	95,48	99,12	95,034
	Ae	Ce	Bd	Dd	Ef	De			
	± 0,02	± 0,34	± 0,15	± 0,03	± 0,00	± 0,07			
12	6,74	5,18	5,90	0,25	0,00	0,00	96,29	100	100
	Af	Be	Be	Ce	Dg	Df			
	± 0,12	± 0,44	± 0,48	± 0,03	± 0,00	± 0,00			

**Letras maiúsculas diferentes na horizontal indicam diferença estatística ($p < 0,001$) no teor de orientina entre os tratamentos *in natura* e pasteurizado, nas temperaturas 25°C, 35°C e 45°C. Letras minúsculas diferentes na vertical indicam diferença estatística ($p < 0,001$) no teor de orientina do mesmo tratamento em relação aos dias de vida-de-prateleira. Valor p de acordo com Teste de Tukey ($p < 0,001$) utilizando o software XLSTAT (ADDINSOFT, New York, NY).

Para orientina (Tabela 3) foi observado que a pasteurização diminuiu significativamente as suas concentrações na polpa ($p < 0,001$), porém a sua redução é menor que se comparado com seu isômero isoorientina. Enquanto em orientina a

redução foi de 7,31%, em isoorientina foi de 59,37%, porém ao longo do experimento de orientina foi observado uma perda de 100% de seus teores, enquanto nas mesmas condições, isoorientina chegou a uma perda máxima de 83,18%. Esses resultados levantam hipótese sobre a estabilidade da molécula, sendo necessário mais estudos sobre ela, mas com os resultados prévios obtido neste trabalho, é possível levar em consideração que orientina é extremamente instável a oxidação e exposição a temperaturas altas por tempo prolongado.

As amostras *in natura* (Tabela 3) armazenadas na temperatura 25 °C apresentaram diferença estatística entre todos os dias ($p < 0,001$), menos entre os dias 0 e 2 e dias 2 e 4. Na temperatura 35°C também houve diferença estatística ($p < 0,001$) em quase todas as amostras, menos entre os dias 0 e 2. Contudo, na temperatura 45°C não houve diferença estatísticas ($p \geq 0,001$) entre os dias 0, 2 e 4, enquanto entre os outros foi observada diferença estatística ($p < 0,001$).

As amostras pasteurizadas (Tabela 3) que ficaram armazenadas na temperatura 25 °C apresentaram diferença estatística entre todos os dias ($p < 0,001$), menos entre os dias 0 e 2 e dias 6 e 8. Na temperatura 35°C houve diferença estatística ($p < 0,001$) entre todos os dias. Entretanto, na temperatura 45°C não houve diferença estatística ($p \geq 0,001$) entre os dias 2 e 4, enquanto entre os outros foi observada diferença estatística ($p < 0,001$).

Quando analisado a molécula vitexina (Tabela 4) é observado que, assim como ocorreu em isoorientina e orientina, houve diferença estatística entre os tratamentos, demonstrando que assim como os outros, a pasteurização afeta o teor de vitexina, demonstrando uma perda de 35,30%.

Amostras do tratamento *in natura* (Tabela 4) demonstraram maior concentração, porém estes valores vão diminuindo ao longo do tempo e de acordo com a temperatura em que foi armazenada para a realização dos testes de vida-de-prateleira. Na temperatura de armazenamento 25°C, foi observada diferença estatística ($p < 0,001$) entre o decorrer de todos os dias. Em 35°C não houve diferença estatística ($p \geq 0,001$) apenas entre os dias 10 e 12. Todavia, quando analisada o comportamento do flavonoide em 45°C não houve diferença estatística ($p \geq 0,001$) entre os dias 2 e 4, 6 e 8 e 10 e 12.

As amostras em que houve o processamento térmico (Tabela 4) demonstraram

que em 25°C não houve diferença estatística ($p \geq 0,001$) entre as amostras dos dias 6 e 8 e 10 e 12, enquanto na temperatura 35 °C não apresentou diferença estatística ($p \geq 0,001$) entre os dias 2 e 4 e 6 e 8. Contudo, em 45° C não houve diferença ($p \geq 0,001$) entre os dias 0 e 2, 2 e 4 e 8 e 10.

Vitexina (Tabela 4) apresentou valores de redução entre 14,37% chegando a 65,76%, ambos em 45°C nos dias 4 e 12 respectivamente, sendo possível analisar que o comportamento do flavonoide não segue um % de perda linear, dependendo da temperatura e quantidade de dias decorridos no armazenamento.

Tabela 4 - Teor de orientina em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos *in natura* e pasteurizado.

Dias/Tratamento	Vitexina (mg/100g)								
	<i>In natura</i>			Pasteurizado			% de redução		
	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C
0	8,90	8,90	8,90	5,74	5,74	5,74	35,50	35,50	35,50
	Aa	Aa	Aa	Ba	Ba	Ba			
	± 0,16	± 0,16	± 0,16	± 0,20	± 0,20	± 0,20			
2	7,47	7,25	6,47	3,60	3,62	5,54	51,80	50,06	14,37
	Ab	Ab	Bb	Db	Db	Cab			
	± 0,03	± 0,48	± 0,02	± 0,09	± 0,12	± 0,03			
4	6,63	5,25	6,26	3,10	3,57	5,34	53,24	32,00	14,69
	Ac	Bc	Ab	Cc	Cb	Bb			
	± 0,34	± 0,01	± 0,01	± 0,26	± 0,10	± 0,03			
6	5,25	4,99	5,56	2,85	2,62	4,05	45,71	47,49	27,15
	ABd	Bd	Ac	Dd	Dc	Cc			
	± 0,03	± 0,28	± 0,01	± 0,27	± 0,05	± 0,37			
8	3,92	4,21	5,45	2,68	2,50	2,84	31,63	40,61	47,88
	Ce	Be	Ac	Dd	Dc	Dd			
	± 0,05	± 0,07	± 0,72	± 0,10	± 0,05	± 0,14			
10	3,34	3,36	3,72	1,87	2,13	2,71	44,01	36,60	27,15
	Af	Af	Ad	De	Cd	Bd			
	± 0,01	± 0,32	± 0,33	± 0,04	± 0,15	± 0,12			
12	2,76	3,23	3,71	1,64	1,33	1,27	40,57	58,82	65,76
	Bg	Af	Ad	Ce	CDe	De			
	± 0,01	± 0,01	± 0,35	± 0,13	± 0,01	± 0,01			

**Letras maiúsculas diferentes na horizontal indicam diferença estatística ($p < 0,001$) no teor de vitexina entre os tratamentos *in natura* e pasteurizado, nas temperaturas 25°C, 35°C e 45°C. Letras minúsculas diferentes na vertical indicam diferença estatística ($p < 0,001$) no teor de vitexina do mesmo tratamento em relação aos dias de vida-de-prateleira. Valor p de acordo com Teste de Tukey ($p < 0,001$) utilizando o software XLSTAT (ADDINSOFT, New York, NY).

Quando é analisado o isômero de vitexina, a isovitexina (Tabela 5) é observável que demonstra uma perda maior, de 57,24%, do que vitexina, de 35,50%, quando levado em consideração o processo de pasteurização. Porém, a variação do teor entre os dias de armazenamento é parecida, podendo se dizer que a isovitexina é mais sensível apenas ao processo térmico inicial, pois ao decorrer do processo de estimativa de vida de prateleira teve um comportamento semelhante à vitexina.

Em isovitexina (Tabela 5) é apresentado que no armazenamento de 25 °C nas

amostras *in natura* não houve diferença estatística ($p \geq 0,001$) apenas entre duas amostras, sendo essas os dias 2 e 4, enquanto em 35°C não houve diferença ($p \geq 0,001$) só entre os dias 4 e 6. Em 45°C, diferentemente das outras temperaturas, houve diferença estatística entre todas as amostras ($p < 0,001$).

Tabela 5 - Teor de isovitexina em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos *in natura* e pasteurizado.

Dias/Tratamento	Isovitexina (mg/100g)								
	<i>In natura</i>			Pasteurizado			% de redução		
	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C
0	33,59	33,59	33,59	14,36	14,36	14,36	57,24	57,24	57,24
	Aa	Aa	Aa	Ba	Ba	Ba			
	± 3,19	± 3,19	± 3,19	± 0,11	± 0,11	± 0,11			
2	28,10	30,84	30,48	12,93	14,33	12,92	53,98	52,98	57,61
	Bb	Ab	Ab	Db	Cb	Db			
	± 0,57	± 1,04	± 1,67	± 0,16	± 0,46	± 0,44			
4	28,08	12,45	29,00	11,96	9,51	11,62	57,40	23,61	59,93
	Bb	Cc	Ac	Dc	Ec	Dc			
	± 3,96	± 0,14	± 3,50	± 0,31	± 0,70	± 0,42			
6	26,01	12,23	27,54	11,94	8,53	10,86	54,09	30,25	60,56
	Bc	Cc	Ad	Dc	Fd	Ed			
	± 0,23	± 0,80	± 1,24	± 1,08	± 0,47	± 0,94			
8	13,90	11,91	21,05	11,10	6,53	10,86	20,14	45,17	48,40
	Bd	Cd	Ae	Cc	Ee	Dd			
	± 0,41	± 0,76	± 1,48	± 0,64	± 0,42	± 0,57			
10	10,23	8,24	11,84	4,42	3,83	9,09	56,79	53,51	23,22
	Be	De	Af	Ed	Ff	Ce			
	± 0,46	± 0,16	± 0,12	± 0,44	± 0,14	± 0,36			
12	6,75	5,10	5,89	4,38	3,63	4,26	35,11	28,82	27,67
	Af	Cf	Bg	De	Ff	Df			
	± 0,47	± 0,26	± 0,55	± 0,70	± 0,06	± 0,19			

**Letras maiúsculas diferentes na horizontal indicam diferença estatística ($p < 0,001$) no teor de isovitexina entre os tratamentos *in natura* e pasteurizado, nas temperaturas 25°C, 35°C e 45°C. Letras minúsculas diferentes na vertical indicam diferença estatística ($p < 0,001$) no teor de isovitexina do mesmo tratamento em relação aos dias de vida-de-prateleira. Valor p de acordo com Teste de Tukey ($p < 0,001$) utilizando o software XLSTAT (ADDINSOFT, New York, NY).

Na tabela 5, foi observado o teor de isovitexina nas amostras pasteurizadas e seu comportamento durante a armazenagem para estimar a validade do produto. Ao observar o comportamento na temperatura de 25°C é colocado que não houve diferença estatística ($p \geq 0,001$) apenas entre as amostras dos dias 4, 6 e 8, enquanto em 35°C não houve diferença ($p \geq 0,001$) entre os dias 10 e 12. Na temperatura de armazenagem 45°C é observável que não houve diferença ($p \geq 0,001$) apenas entre os dias 6 e 8. Fora estes dias, todos os outros houveram diferença estatística entre eles ($p < 0,001$).

Em epicatequina (Tabela 6) foi observado que a pasteurização afeta estatisticamente as suas concentrações ($p < 0,001$), com uma diminuição de 15,35%, isso se deve ao calor utilizado pelo processamento térmico. Os percentuais de

redução variaram de acordo com a temperatura e os dias de armazenagem, e estão entre 4,31% até 29,99%.

Amostras do tratamento *in natura* (Tabela 6) demonstraram maior concentração, porém estes valores vão diminuindo ao longo do tempo e de acordo com a temperatura em que foi armazenada para a realização dos testes de vida-de-prateleira. Na temperatura de armazenamento 25°C, foi observada diferença estatística ($p < 0,001$) entre o decorrer dos dias, exceto entre os dias 2 e 4. Em 35°C não houve diferença estatística ($p \geq 0,001$) entre os dias 2 e 4 e entre 4 e 6. Todavia, quando analisada o comportamento do flavonoide em 45°C não houve diferença estatística ($p \geq 0,001$) entre os dias 4 e 6.

As amostras que passaram pelo tratamento térmico (Tabela 6) que ficaram armazenadas na temperatura 25°C e 45°C apresentaram diferença estatística entre todos os dias ($p < 0,001$). Contudo, em 35°C também houve diferença estatística ($p < 0,001$) em quase todas as amostras, menos entre os dias 6 e 8, que não apresentaram diferença ($p \geq 0,001$).

De acordo com a figura 6 é possível observar graficamente que os dados já discutidos anteriormente, que apresenta diferença estatística ($p < 0,001$) entre os teores dos flavonoides quantificados quando comparados os valores encontrados nas amostras *in natura* e após a pasteurização. O maior índice inicial de redução foi observado em isoorientina, com cerca de 59,37%, e o menor de 7,31% em orientina. Deste modo, é demonstrado que o processamento térmico afeta os flavonoides estudados.

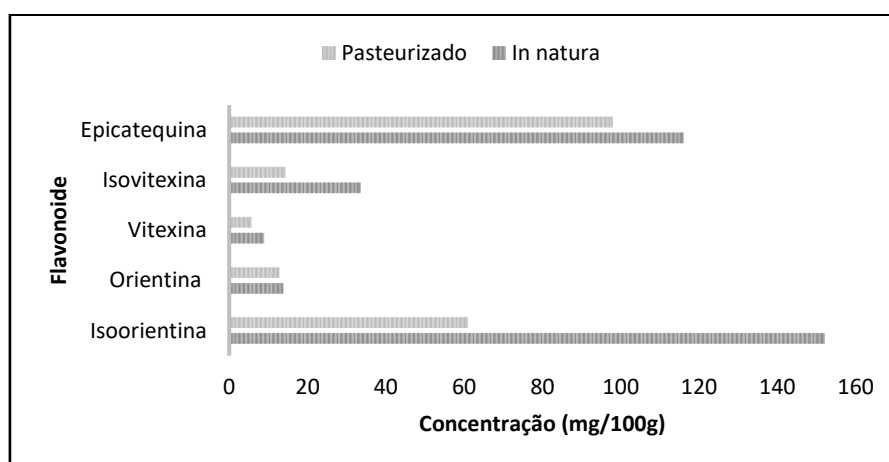


Figura 6 – Efeito do processamento na variável flavonoide.

Tabela 6 - Teor de epicatequina em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos *in natura* e pasteurizado.

Dias/Tratamento	Epicatequina (mg/100g)								
	<i>In natura</i>			Pasteurizado			% de retenção		
	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C
Dia 0	116,30	116,30	116,30	98,44	98,44	98,44	15,35	15,35	15,35
	Aa	Aa	Aa	Ba	Ba	Ba			
Dia 2	± 0,41	± 0,41	± 0,41	± 3,75	± 3,75	± 3,75	18,45	27,00	25,47
	111,13	102,44	98,37	92,25	74,78	73,31			
Dia 4	± 0,18	± 0,32	± 0,05	± 0,97	± 0,29	± 1,03	21,98	29,65	28,15
	111,02	102,35	95,82	86,61	72,00	68,70			
Dia 6	± 0,10	± 0,25	± 0,08	± 4,49	± 1,26	± 2,71	16,54	30,10	29,99
	100,45	101,30	95,66	83,83	70,80	66,97			
Dia 8	± 0,37	± 0,08	± 5,32	± 3,43	± 0,51	± 0,25	13,96	23,98	30,36
	95,84	92,61	92,37	82,46	70,40	64,32			
Dia 10	± 4,67	± 0,09	± 1,18	± 4,91	± 0,83	± 0,25	7,28	25,37	19,25
	76,77	89,78	74,46	71,1	67,00	60,12			
Dia 12	± 3,54	± 0,34	± 0,50	± 0,31	± 0,79	± 0,26	4,31	25,63	16,76
	70,68	87,06	67,36	67,63	64,74	56,07			
	± 5,73	± 0,36	± 0,35	± 0,35	± 1,97	± 2,17			

**Letras maiúsculas diferentes na horizontal indicam diferença estatística ($p < 0,001$) no teor de epicatequina entre os tratamentos *in natura* e pasteurizado, nas temperaturas 25°C, 35°C e 45°C. Letras minúsculas diferentes na vertical indicam diferença estatística ($p < 0,001$) no teor de epicatequina do mesmo tratamento em relação aos dias de vida-de-prateleira. Valor p de acordo com Teste de Tukey ($p < 0,001$) utilizando o software XLSTAT (ADDINSOFT, New York, NY).

Na tabela 7 é analisado a estimativa da validade, de acordo com os testes de vida-de-prateleira se as amostras fossem armazenadas a -15 °C e levando em consideração uma perda de até 50% da concentração inicial achada em cada flavonoide. O tratamento *in natura* obteve maiores índices de vida-de-prateleira pela pasteurização afetar significativamente ($p < 0,001$), porém considerando todos os flavonoides, a estimativa vida de prateleira limite para o tratamento *in natura* é de 11 dias e para o tratamento pasteurizado é de 6 dias.

Tabela 7 – Vida-de-prateleira dos flavonoides em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos *in natura* e pasteurizado.

Vida-de-prateleira – Flavonoides		
Flavonoide	<i>In natura</i>	Pasteurizado
Isoorientina	55 dias	28 dias
Orientina	11 dias	8 dias
Viyexina	21 dias	17 dias
Isovitexina	13 dias	10 dias
Epicatequina	31 dias	6 dias

Em Koch et al. (2013) foi analisado a concentração de orientina, isoorientina, vitexina e isovitexina em *Aspalathus linearis* pasteurizados e *in natura*, e não foi encontrada diferença estatística ($p \geq 0,05$) entre estes tratamentos, demonstrando que a pasteurização feita não afetou os flavonoides.

Pacheco-palencia, Duncan e Talcott (2009) descreveu que não houve diferença estatística ($p \geq 0,05$) nas concentrações de orientina, isoorientina, vitexina, isovitexina e epicatequina entre as amostras pasteurizadas e *in natura* de polpas de *Euterpe oleracea* e *Euterpe precatoria*.

Mesmo que sejam resultados diferentes os feitos nestes estudos, que demonstraram diferença estatística ($p < 0,001$), e os apresentados em Koch et al. (2013) e Pacheco-palencia, Duncan e Talcott (2009) é importante ressaltar que são gêneros e espécies diferentes.

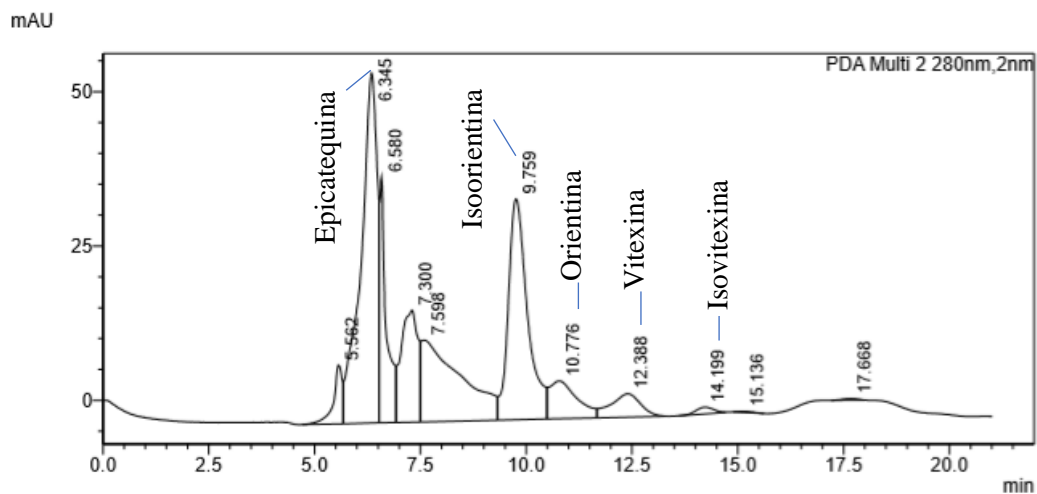


Figura 7 - Cromatograma obtido por HPLC-DAD da polpa de Maracujá-do-Cerrado *in natura* na variável flavonoides.

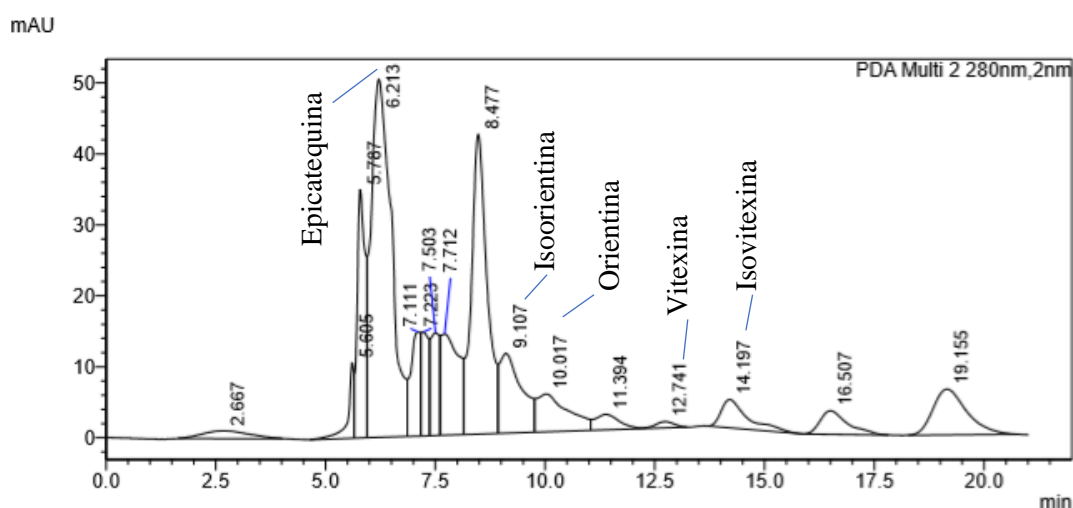


Figura 8 – Cromatograma obtido por HPLC-DAD da polpa de Maracujá-do-Cerrado pasteurizada na variável flavonoides.

Em Corrêa et al. (2015) foi analisado a quantidade de flavonoides e o perfil dos alimentos consumidos no Brasil. Foi revelado que os brasileiros ingerem cerca de 138,92 mg/ dia de flavonoides e que a maior fonte destes bioativos são dos legumes.

Não existem doses diárias recomendadas bem elucidadas para flavonoides até o momento, porém há estudos que descrevem os benefícios do consumo, por exemplo, em Balzer et. al (2008) chegaram à conclusão que uma única dose diária de 370 mg/ dia diminui problemas vasculares em pacientes diabéticos com riscos cardiovasculares pré-existent.

Sendo assim, o BRS Pérola do Cerrado constitui uma alternativa para incrementar o consumo de flavonoides na dieta brasileira de várias maneiras, mesmo pasteurizadas.

6.3 Vitamina C

Os teores de vitamina C foram quantificados em mg de ácido ascórbico/100 gramas de polpas úmida de maracujá BRS Pérola do Cerrado. Foram também estipulados a vida de prateleira caso as amostras dos tratamentos fossem armazenadas a -15 °C, com perda máxima de 25% do índice inicial.

É importante citar que o AA é uma molécula instável quando extraída da fonte, principalmente em meios aquosos, sendo facilmente oxidada pela luz e pelo oxigênio, além de ser degradada pela temperatura (BOBBIO et al., 1992; PEREIRA, 2009).

Tabela 8 – Teor de ácido ascórbico (AA) e vida-de-prateleira em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos *in natura* e pasteurizado.

Vitamina C (mg/100g)									
Dia/Tratamento	<i>In natura</i>			Pasteurizado			% redução		
	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C
0	24,04	24,04	24,04	21,97	21,97	21,97	8,61	8,61	8,61
	Aa	Aa	Aa	Ba	Ba	Ba			
	± 0,07	± 0,07	± 0,07	± 0,37	± 0,37	± 0,37			
2	23,50	20,96	20,86	21,13	20,71	20,61	10,08	1,19	1,19
	Ab	Cb	Cb	Ba	Cb	Cb			
	± 0,03	± 0,06	± 0,07	± 0,09	± 0,04	± 0,08			
4	20,71	20,63	20,35	20,47	20,49	20,29	1,15	0,67	0,29
	Ac	Ab	Ab	Ab	Ab	Ab			
	± 0,07	± 0,03	± 0,02	± 0,07	± 0,05	± 0,04			
6	20,18	19,74	19,65	19,80	19,34	19,02	1,88	2,02	3,20
	Ad	Bc	Bc	Bc	Bc	Bc			
	± 0,26	± 0,02	± 0,013	± 0,07	± 0,22	± 0,17			
8	19,58	19,35	19,33	18,69	18,60	18,50	4,54	3,87	4,29
	Ade	Ac	Ac	Bd	Bd	Bd			
	± 0,01	± 0,49	± 0,06	± 0,11	± 0,05	± 0,03			
10	19,27	19,11	18,99	18,45	18,48	18,32	4,25	3,29	3,52
	Ae	Ac	Bc	Bd	Bd	Bd			
	± 0,03	± 0,09	± 0,02	± 0,05	± 0,25	± 0,03			
12	18,85	18,56	18,14	18,25	18,15	17,86	3,18	2,20	1,54
	Af	Ad	Ad	Ad	Ad	Be			
	± 0,05	± 0,30	± 0,01	± 0,02	± 0,02	± 0,25			

Vida-de-prateleira – Vitamina C		
	<i>In natura</i>	Pasteurizado
Vida-de-prateleira com armazenamento a -15 °C	39 dias	39 dias

**Letras maiúsculas diferentes na horizontal indicam diferença estatística ($p < 0,001$) no teor de ácido ascórbico entre os tratamentos *in natura* e pasteurizado, nas temperaturas 25°C, 35°C e 45°C. Letras minúsculas diferentes na vertical indicam diferença estatística ($p < 0,001$) no teor de ácido ascórbico do mesmo tratamento em relação aos dias de vida-de-prateleira. Valor p de acordo com Teste de Tukey ($p < 0,001$) utilizando o software XLSTAT (ADDINSOFT, New York, NY).

De acordo com os resultados demonstrados (Tabela 8), é possível observar que houve diferença estatística ($p < 0,001$) entre os tratamentos no dia 0, com uma

redução de 8,61% do valor entre os teores da polpa *in natura* e pasteurizada, demonstrando que o processamento térmico afeta a quantidade de vitamina C da polpa.

No tratamento *in natura* na temperatura de 25°C é observado que há degradação estatisticamente significativa ($p < 0,001$), menos quando comparado os dias 6 e 8, e 8 e 10 que não houve diferença estatística entre esses teores. Na temperatura de 35°C e 45°C não houve diferença estatística ($p \geq 0,001$) em relação ao dia 2 e 4 e 6, 8 e 10.

Entretanto, as amostras pasteurizadas na temperatura de 25°C é observado que há degradação estatisticamente significativa ($p < 0,001$), menos quando comparado os dias 0 e 2, e 8, 10 e 12 que não houve diferença estatística entre esses teores. Na temperatura de 35°C não houve diferença estatística ($p \geq 0,001$) em relação ao dia 2 e 4 e 8, 10 e 12, enquanto em 45°C não houve diferença estatística ($p \geq 0,001$) em relação ao dia 2 e 4 e 8 e 10.

Além disso, a temperatura que apresentou maior % de redução foi a temperatura de 25°C. Levando em conta todas as % de redução, mesmo que tenha havido redução máxima de 10,08%, esta é considerada uma redução pequena, mesmo que haja diferença estatística ($p < 0,001$), podendo ainda assim que a polpa pasteurizada de BRS Pérola do Cerrado seja utilizada pelas indústrias como insumo.

Para determinar a vida-de-prateleira da polpa na variável vitamina C, foi utilizado como parâmetro uma perda de 25% do valor máximo encontrado na polpas, desta forma se chegando a 39 dias para polpa *in natura* e 39 dias para polpa pasteurizada quando considerado como parâmetro a temperatura de - 15 °C, já que esta é a utilizada para a distribuição, armazenamento, exibição no varejo e armazenamento pelo consumidor de polpas congeladas. Deste modo, é possível observar que mesmo que haja uma degradação de vitamina C ao realizar o processo de pasteurização, há uma desaceleração da degradação ao longo do tempo de vida-de-prateleira, e assim, ao utilizar os modelos matemáticos acarreta á tempos iguais na estimativa da validade do produto.

Amaro et al. (2002) comparou binômios de faixa de temperatura para pasteurização em polpa de *Passiflora edulis flavicarpa* Derp. e analisou a vida-de-prateleira convencional, e assim comprovou que existe diferença estatística ($p < 0,05$) em vitamina C entre os tratamentos, principalmente entre a polpa *in natura* e polpas

pasteurizadas na faixa de temperatura de 69 a 82 °C, assim como o presente estudo demonstrou. Entretanto, Amaro et al. (2002) demonstrou que quando pasteurizado a 77°C-82 °C e feita vida-de-prateleira convencional por 180 dias, houve 82,30% de redução, enquanto no presente estudo por meio de testes acelerados para vida-de-prateleira foram achadas reduções máximas de 10,08%.

Como a vitamina c é importante para a manutenção dos tecidos existem IDRs, índices diários recomendados, os seguintes índices descritos são para adultos acima de 19 anos. Segundo a RDC nº 269 de 22 de setembro de 2005 da ANVISA, a dose diária recomendada de vitamina C é de 45 mg, enquanto o Guia de Rotulagem Nutricional CAC/GL 2-1985 da FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*) e o Guia de Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados MERCOSUL/GMC/RES Nº 18/94 do Mercosul, as dose diária recomendada de vitamina C é de 60 mg, entretanto é descrito em United States (2000) pela IOM, doses de 90 mg para homens e 75 mg para mulheres.

Em Penteado et al. (2003) é descrito que *Malpighia emarginata*, conhecida popularmente como acerola, concentra cerca de 1700 mg de vitamina c /100 gramas de fruta, enquanto *Fragaria x ananassa*, o morango, tem 64 mg/100 gramas de fruta. Desta forma é possível observar que o maracujá BRS Pérola do Cerrado tem índices menores do que os apresentados por outras frutas, mas da mesma forma pode ser uma nova alternativa de adquirir o ácido ascórbico pela dieta.

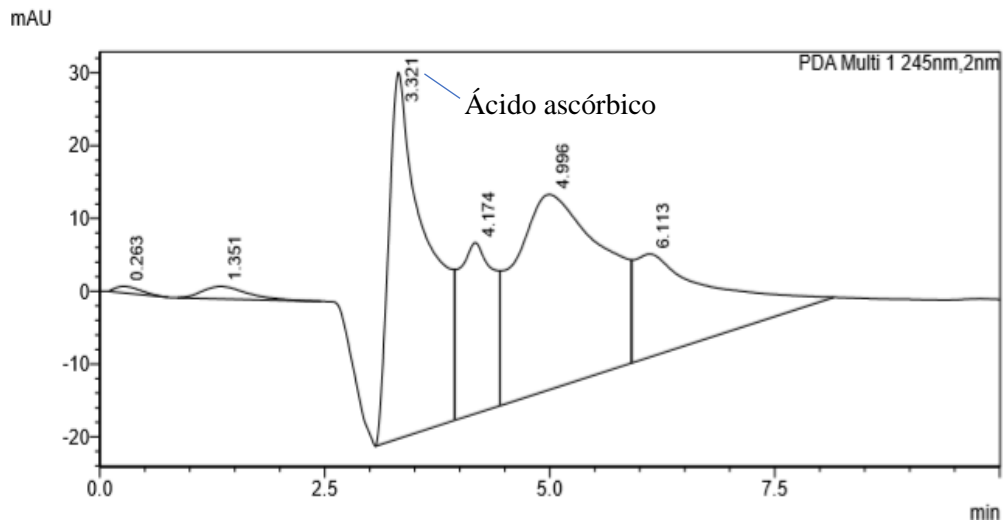


Figura 9 - Cromatograma obtido por HPLC-DAD da polpa de Maracujá-do-Cerrado *in natura* na variável vitamina C.

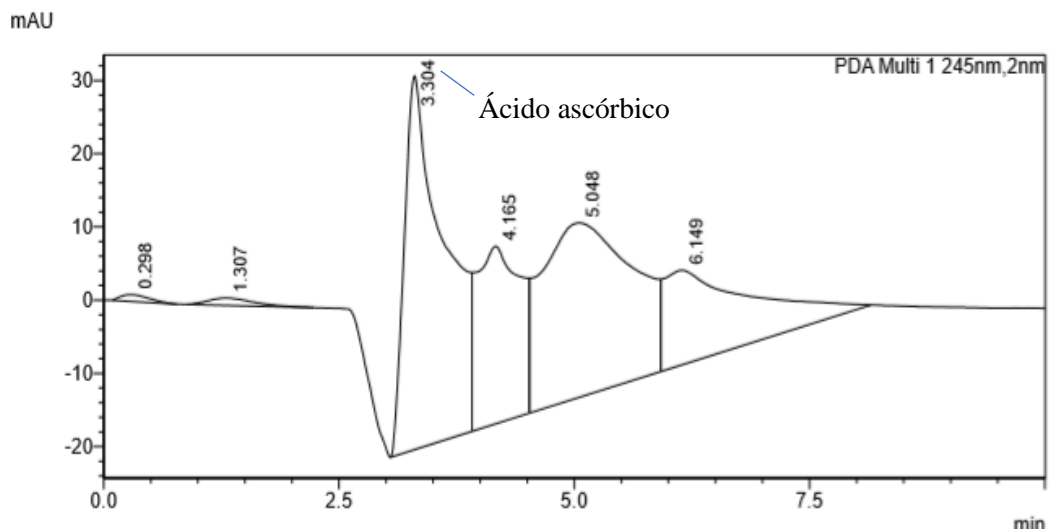


Figura 10 – Cromatograma obtido por HPLC-DAD da polpa de Maracujá-do-Cerrado pasteurizada na variável vitamina C.

6.4 Atividade Antioxidante

Com os resultados obtidos (Tabela 9) é possível analisar que o poder antioxidante de redução do ferro das amostras pasteurizadas são menores relação ao tratamento *in natura*, demonstrando diferença estatística ($p < 0,0001$) e 20,75% de redução máxima.

Tabela 9 – *Ferric Reducing Antioxidant Power* e vida-de-prateleira em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos *in natura* e pasteurizado.

FRAP ($\mu\text{mol equi. Trolox}/100\text{g}$)									
Dia/Tratamento	<i>In natura</i>			Pasteurizado			% redução		
	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C
0	255,69	255,69	255,69	202,63	202,63	202,63	20,75	20,75	20,75
	Aa	Aa	Aa	Ba	Ba	Ba			
	$\pm 7,26$	$\pm 7,26$	$\pm 7,26$	$\pm 16,33$	$\pm 16,33$	$\pm 16,33$			
2	227,50	208,75	180,69	180,97	171,66	164,44	20,45	17,76	8,99
	Ab	Bb	Cb	Cb	Db	Eb			
	$\pm 18,75$	$\pm 1,10$	$\pm 8,84$	$\pm 2,51$	$\pm 3,75$	$\pm 1,20$			
4	171,52	166,11	163,05	155,97	149,72	145,69	9,06	9,86	10,64
	Ac	Bc	Cc	Dc	Ec	Fc			
	$\pm 3,12$	$\pm 1,27$	$\pm 1,04$	$\pm 3,49$	$\pm 2,51$	$\pm 1,73$			
6	158,88	156,52	153,88	140,97	136,94	132,50	11,27	12,50	13,89
	Ad	Bd	Cd	Dd	Ed	Fd			
	$\pm 0,96$	$\pm 0,63$	$\pm 1,46$	$\pm 1,87$	$\pm 0,63$	$\pm 1,81$			
8	150,97	146,38	142,63	129,58	127,08	123,75	14,16	13,15	13,23
	Ae	Be	Ce	De	Ee	Fe			
	$\pm 0,86$	$\pm 1,04$	$\pm 1,46$	$\pm 1,10$	$\pm 0,41$	$\pm 0,83$			
10	138,05	133,88	130,13	119,86	116,94	112,22	13,17	12,65	13,76
	Af	Bf	Cf	Df	Ef	Ff			
	$\pm 1,87$	$\pm 0,96$	$\pm 2,09$	$\pm 1,87$	$\pm 0,48$	$\pm 2,83$			
12	125,83	121,66	115,13	107,77	105,00	99,44	14,35	13,69	13,62
	Ag	Bg	Cg	Dg	Eg	Fg			
	$\pm 1,50$	$\pm 1,66$	$\pm 2,54$	$\pm 1,57$	$\pm 0,41$	$\pm 3,75$			

Vida-de-prateleira – FRAP		
	<i>In natura</i>	Pasteurizado
Vida-de-prateleira com armazenamento a -15 °C	63 dias	35 dias

**Letras maiúsculas diferentes na horizontal indicam diferença estatística ($p < 0,001$) no teor de FRAP entre os tratamentos *in natura* e pasteurizado, nas temperaturas 25°C, 35°C e 45°C. Letras minúsculas diferentes na vertical indicam diferença estatística ($p < 0,001$) no teor de FRAP do mesmo tratamento em relação aos dias de vida-de-prateleira. Valor p de acordo com Teste de Tukey ($p < 0,001$).

No tratamento *in natura* e pasteurizado, em todas as temperaturas, é observado que há degradação significativa ($p < 0,001$) entre todos os dias ao decorrer destes na variável FRAP (Tabela 9), com porcentagens de redução entre 8,99 e 20,75.

Hartmann et al. (2008) analisou FRAP em suco de morango (*Fragaria* × ananassa var. Senga sengana) pasteurizado e *in natura* e analisou vida-de-prateleira durante 11 semanas a 8 °C, chegando a conclusão que houve redução de 27,80% de atividade após o processamento, e chegando a 31,20% na décima primeira semana. Mesmo que sejam gêneros diferentes, é importante a análise do percentual de redução do poder antioxidante de redução de ferro, principalmente no primeiro momento da pasteurização, para observar quanto há de perda.

Deste modo, é possível analisar que o método de pasteurização utilizado em Hartmann et al. (2008) levou a maior redução da atividade antioxidante pelo método FRAP quando comparado a redução presente na tabela 9.

Para determinar a vida-de-prateleira da polpa na variável *Ferric Reducing Antioxidant Power*, foi utilizado como parâmetro uma redução de 64% do valor máximo encontrado na polpas, desta forma se chegando a 63 dias para polpa *in natura* e 35 dias para polpa pasteurizada quando considerado como parâmetro a temperatura de – 15 °C, já que esta é a utilizada para a distribuição, armazenamento, exibição no varejo e armazenamento pelo consumidor de polpas congeladas. Deste modo, é possível observar há uma degradação da variável antioxidante, ao realizar o processo de pasteurização, levando a teores maiores do tratamento *in natura*, e assim acarretando a uma maior vida-de-prateleira nas amostras que não sofreram processamento térmico.

Com os resultados descritos de Capacidade de Absorção do Radical Oxigênio (Tabela 10) é observado que existe diferença estatística ($p < 0,001$) entre as concentrações achadas no dia 0 em relação aos tratamentos, assim como em FRAP, porém em ORAC é relatado uma redução da atividade antioxidante maior, de 97,44%, entre as amostras *in natura* e pasteurizada.

Além disso, esses altos valores percentuais entre os tratamentos são vistos durante todo o experimento de vida-de-prateleira, variando de 97,44%, representando o dia zero, até 98,99%, representando a temperatura de 45°C no decimo segundo dia (Tabela 10).

No tratamento *in natura* (Tabela 10) na temperatura 25°C é observado que não há diferença estatística ($p \geq 0,001$) na concentração quando entre os dias 0 e 2 e 8, 10 e 12, porém existe diferença ($p < 0,001$) entre os outros dias. Na temperatura 35°C, não existe diferença estatística ($p \geq 0,001$) entre o dia 0 e 2, dia 2 e 4, dia 6 e 8 e dia 8

e 10. Entretanto, na temperatura 45°C não há diferença estatística ($p>0,001$) entre o dia 0 e 2, dia 4 e 6 e dia 10 e 12.

Tabela 10 – *Oxygen Radical Absorbance Capacity* e vida-de-prateleira em polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado nos tratamentos *in natura* e pasteurizado.

ORAC ($\mu\text{mol equi. Trolox}/100\text{g}$)									
Dia/Tratamento	<i>In natura</i>			Pasteurizado			% redução		
	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C	25° C	35° C	45° C
0	45561,76	45561,76	45561,76	1165,12	1165,12	1165,12	97,4	97,4	97,4
	Aa	Aa	Aa	Ba	Ba	Ba	4	4	4
	$\pm 605,72$	$\pm 605,72$	$\pm 605,72$	$\pm 47,89$	$\pm 47,89$	$\pm 47,89$			
2	45537,90	45134,71	45323,05	1075,08	837,52	961,22	97,6	98,1	97,8
	Aa	Cab	Ba	Db	Fb	Eb	3	4	7
	$\pm 582,02$	$\pm 331,55$	$\pm 635,46$	$\pm 64,68$	$\pm 15,68$	$\pm 74,35$			
4	45191,84	45032,13	44730,35	1057,65	806,70	775,25	97,6	98,2	98,2
	Ab	Ab	Bb	Cb	Dbc	Ec	5	0	6
	$\pm 202,69$	$\pm 335,09$	$\pm 333,28$	$\pm 43,90$	$\pm 66,60$	$\pm 46,91$			
6	44998,28	44788,91	44650,58	1053,34	797,02	733,34	97,6	98,2	98,3
	Ac	ABc	Bb	Cb	Dc	Dc	5	2	5
	$\pm 246,21$	$\pm 124,79$	$\pm 226,43$	$\pm 32,12$	$\pm 18,86$	$\pm 47,39$			
8	44402,76	44686,52	44485,40	986,17	780,17	685,19	97,7	98,2	98,4
	Ad	Bcd	ABc	Cc	Dc	Ed	7	5	6
	$\pm 201,93$	$\pm 343,21$	$\pm 238,34$	$\pm 19,61$	$\pm 35,23$	$\pm 64,68$			
10	44200,55	44425,17	43697,35	812,13	599,80	609,94	98,1	98,6	98,6
	Bd	Ad	Cd	Dd	Fd	Ee	6	4	0
	$\pm 63,97$	$\pm 199,36$	$\pm 320,40$	$\pm 16,39$	$\pm 7,16$	$\pm 36,96$			
12	43765,73	43694,36	43179,94	626,88	504,10	432,18	98,5	98,8	98,9
	Ad	Ae	Bd	Ce	De	Ef	6	0	9
	$\pm 566,38$	$\pm 422,70$	$\pm 610,30$	$\pm 39,89$	$\pm 41,88$	$\pm 10,43$			

Vida-de-prateleira – ORAC		
	<i>In natura</i>	Pasteurizado
Vida-de-prateleira com armazenamento a -15 °C	84 dias	17 dias

**Letras maiúsculas diferentes na horizontal indicam diferença estatística ($p<0,001$) no teor de ORAC entre os tratamentos *in natura* e pasteurizado, nas temperaturas 25°C, 35°C e 45°C. Letras minúsculas diferentes na vertical indicam diferença estatística ($p<0,001$) no teor de ORAC do mesmo tratamento em relação aos dias de vida-de-prateleira. Valor p de acordo com Teste de Tukey ($p<0,001$).

No tratamento pasteurizado, a temperatura 25°C não apresentou diferença estatística ($p\geq 0,001$) entre os dias 2, 4 e 6. Na temperatura 35°C não há diferença estatística ($p\geq 0,0001$) entre os dias 2 e 4, 4 e 6, 6 e 8. No entanto, na temperatura 45°C apresenta diferença estatística ($p<0,001$) entre todos os dias, menos entre os dias 4 e 6.

Em United States (2010) é descrito as concentrações mínimas, máximas e as médias de ORAC em cada alimento, incluindo frutas e sucos encontrados nos Estados Unidos. A melancia, *Citrullus lanatus*, tem uma das menores médias e é descrita com

um valor de 142 μmol equi. Trolox/100g, enquanto em sucos de laranja, *Citrus x sinensis*, média de 726 μmol equi. Trolox/100g e em polpa de *Euterpe oleracea*, o açaí, 102700 μmol equi. Trolox/100g, que tem a maior concentração entre as polpas de fruta. Não existe nenhuma espécie de *Passiflora* descrita.

Mesmo que seja considerado um grande valor, a *Passiflora setacea in natura* tem 45561,76 μmol equi. Trolox/100g, que é cerca de 44,36% do valor total descrito para polpa de Açaí. Pelo observado na tabela, a variação máxima permitida entre os valores mínimos e máximos de ORAC irá depender de cada alimento, porém foram observados em específico os das frutas descritas a cima, e ao ver as concentrações, foi estabelecido uma porcentagem média de perda de 64%. Este valor foi utilizado para estimar a vida-de-prateleira para a variável *Oxygen Radical Absorbance Capacity*.

Deste modo, para determinar a vida-de-prateleira foi utilizado como parâmetro uma perda de 64% do valor máximo encontrado na polpas, desta forma se chegando a 84 dias para polpa *in natura* e 17 dias para polpa pasteurizada quando considerado como parâmetro a temperatura de $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$, já que esta é a utilizada para a distribuição, armazenamento, exibição no varejo e armazenamento pelo consumidor de polpas congeladas. Deste modo, é possível observar há uma redução da atividade antioxidante, assim como em FRAP, ao realizar o processo de pasteurização, levando a teores maiores do tratamento *in natura*, desta maneira acarretando a uma maior vida-de-prateleira nas amostras que não sofreram processamento térmico.

Ao analisar de maneira geral a atividade antioxidante é nítido que a temperatura utilizada para o processo de pasteurização, assim como o decorrer dos dias em que as amostras foram armazenadas em estufas para o experimento de TAVP, influenciaram o teor de antioxidantes. Isso se deve por estas moléculas terem inúmeros representantes, sendo alguns da classe dos compostos fenólicos que são sensíveis a temperatura e oxidação.

Em Corrêa et al. (2015) é descrito que o brasileiro consome uma média de 460 mg/dia de compostos fenólicos, o que é considerado pouco em comparação a outros países como a França, 1193 mg/dia. Nessa pesquisa, incluindo o Brasil, demonstrou que 48,90% dos compostos fenólicos digeridos são oriundos de bebidas, sendo que entre os mais consumidos estão o café, *Coffea* sp., que é o líder de consumo, seguido do suco de laranja, *Citrus* sp., e chá mate, *Ilex* sp. No Brasil, o consumo de café chega

a 40,90% do total consumido dos fenólicos.

Os compostos fenólicos são os responsáveis de maneira geral pela atividade antioxidante presente em um alimento (KUMAR; PANDEY, 2013; SOARES, 2002), desta maneira o maracujá BRS Pérola do Cerrado constitui uma alternativa para incrementar o consumo de compostos fenólicos na dieta brasileira de várias maneiras, já que a polpa demonstrou mesmo pasteurizada, atividade antioxidante. Desta forma, o desenvolvimento de novos produtos a partir dessa pode gerar grande interesse por indústrias.

7. CONCLUSÃO

As concentrações dos compostos bioativos de polpa de maracujá BRS Pérola do Cerrado *in natura* e pasteurizados foram quantificados, e as vidas-de-prateleira estimadas para cada variável, incluindo pelos parâmetros microbiológicos.

Com uma análise global dos dados, foi concluído que a pasteurização foi efetiva pois diminuiu a carga microbiana, porém afeta significativamente ($p < 0,0001$) todos os bioativos, incluindo flavonoides (orientina, isoorientina, vitexina, isovitexina e epicatequina), vitamina C e a atividade antioxidante (ORAC e FRAP). As reduções nas amostras pasteurizadas são maiores que nas *in natura*. Esta diferença se dá pela temperatura utilizada no processamento térmico, já que maioria destas moléculas são termo sensíveis e altamente oxidáveis.

Além disso, quando analisado estes mesmos compostos na metodologia de vida-de-prateleira, apresentam-se de forma geral, diferentes entre a estimativa na validade das amostras *in natura* e pasteurizadas, sendo justificada pela perda dos bioativos causada pelo tratamento térmico, em consequência a validade do produto demonstrou ser maior no tratamento *in natura*.

Entretanto, mesmo que o tratamento *in natura* tenha sido mais interessante em relação a concentração dos compostos bioativos, deve-se levar em consideração os resultados microbiológicos de vida-de-prateleira, pois este deve seguir as legislações vigentes de qualidade e higiene de alimentos. Por toda via, todas as estimativas encontradas nos teores de bioativos são menores do que os encontrados pelos testes microbiológicos, ou seja, é possível a garantia dos bioativos até a data estimada para cada um, dentro da validade microbiológica. Desta forma, as estimativas finais são de 120 dias, 4 meses, para a polpa *in natura* e 180 dias, 6 meses, para a polpa pasteurizadas, ambas comercializada e armazenadas em -15°C .

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA DO BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos Para Alimentos**. Brasília, DF.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA DO BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 269, de 22 de setembro de 2005. **Regulamento Técnico Sobre A Ingestão Diária Recomendada (idr) de Proteína, Vitaminas e Minerais**. 1. ed. Brasília, DF.

AHMED, Maruf; EUN, Jong-bang. Flavonoids in fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing: A review. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [s.l.], v. 58, n. 18, p.3159-3188, 16 out. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2017.1353480>.

ALBARICI, Tatiane Regina; FREITAS, Danieli Melo de; PESSOA, José Dalton Cruz. **Protocolos de análises para polpa de açaí**: : um guia prático de consulta. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2009. 48 p.

AMARO, Alessandra Padovane; BONILHA, Paulo Roberto Martins; MONTEIRO, Magali. Efeito do tratamento térmico nas características físico-químicas e microbiológica da polpa de maracujá. *Revista Alimentos e Nutrição de Araraquara*. v. 13, p.151-162 , 2002.

ARABBI, P. R.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 1124-1131, 2004. ISSN 0021-8561.

ARABSHARI, A.; LUND, D.B. Consideration in calculating kinetic parameters from experimental data. **Journal Food Process Engineering, Westport**, v. 7, n. 1, p. 239-251, Feb. 1985.

ATAÍDE, E. M.; et al. Florescimento e frutificação do maracujazeiro silvestre *P. setacea* D. C. cultivado em Jaboticabal, SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 34, n. 2, p.377-381.2012.

AYLWARD, F.X.; HAISMAN, D.R. Oxidation in fruits and vegetables. *Advances in Food Research*, San Diego, v.1, n.3, p. 17-28, Apr. 1969.

BALL, G.F.M. **Bioavailability and Analysis of Vitamins in Foods**. London:

Chapman & Hall, 1998, 416p.

BALZER, Jan et al. Sustained Benefits in Vascular Function Through Flavanol-Containing Cocoa in Medicated Diabetic Patients. **Journal Of The American College Of Cardiology**, [s.l.], v. 51, n. 22, p.2141-2149, jun. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2008.01.059>.

BARUFFALDI, R. & OLIVEIRA, M. N., **Fundamentos de Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1998, p.169.

BARBOSA, Eder Alves et al. Structure and function of a novel antioxidant peptide from the skin of tropical frogs. **Free Radical Biology And Medicine**, [s.l.], v. 115, p.68-79, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.11.001>.

BERNACCI, L.C.; CERVI, A.C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A.; NUNES, T.S.; IMIG, D.C.; MEZZONATO, A.C. 2015 *Passifloraceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB182>>. Acesso em: 17 jun. 2019.

BRAGA, Marcelo Fideles; JUNQUEIRA, Nilton Tadeu Vilela; FALEIRO, Fabio Gellape. **Frutas Nativas da Região Centro-Oeste do Brasil: MARACUJÁ-DO-CERRADO**. Brasília: Editora Embrapa, 2006. 320 p. Capítulo 13. Disponível em: <http://www.agabrasil.org.br/_Dinamicos/livro_frutas_nativas_Embrapa.pdf>. Acesso em: 17 jun. 2019.

BRANNSTROM, Christian et al. Land change in the Brazilian Savanna (Cerrado), 1986–2002: Comparative analysis and implications for land-use policy. **Land Use Policy**, [s.l.], v. 25, n. 4, p.579-595, out. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.landusepol.2007.11.008>.

BRASIL. ANVISA. **Guia para determinação de prazos de validade de alimentos**: Guia nº 16/2018 - Versão 1. Brasília: Anvisa, 2018. 76 p. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/5056443/Guia+16_2018+Prazo+de.pdf/e40032da-ea48-42ff-ba8c-a9f6fc7af7af>. Acesso em: 28 out. 2019

BRASIL. ANVISA. **Primeiro Suplemento do Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira**. Brasília, 2018. 160 p. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/259456/Suplemento+FFFB.pdf/478d1f83-7a0d-48aa-9815-37dbc6b29f9a>>. Acesso em: 17 jun. 2019.

BRASIL, EMBRAPA Cerrados. **Lançamento da cultivar de maracujazeiro**

silvestre BRS Pérola do Cerrado, 2013.

BRASIL, EMBRAPA. **Sustentabilidade e Sustentação da produção de alimentos no Brasil**. v.3, Brasília,2014.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, Secretaria de Vigilância Sanitária. 1 ed. Brasília: Editora Ms, 2010. 160 p. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos.pdf>. Acesso em: 17 jun. 2019.

BOBBIO, P. A. BOBBIO, F.O. Química do processamento de alimentos. 2.ed. São Paulo: Varela, 1992. 151p.

CAMPOS, F.M.; CHAVES, J.B.P.; DE AZEREDO, R.M.C.; OLIVEIRA, D.S.; PINHEIRO SANT'ANA, H.M.. Handling Practices to Control Ascorbic Acid and b-Carotene Losses in Collards (Brassica oleracea). **Food Sci Tech Int**, v. 15, n. 5, p. 445-452, 2009.

CARVALHO, José Carlos Tavares; GOSMANN, Grace; SCHENKEL, Eloir Paulo. Compostos fenólicos simples e heterosídeos. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4. ed. Porto Alegre: Editora Ufsc, 2002. Cap. 20. p. 443-459.

CARVALHO, Mariana Veras Oliveira de et al. Aceitabilidade de frutos de Passiflora setacea para o consumo in natura. In: XXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 24., 2016, São Luís. **Aceitabilidade de frutos de Passiflora setacea para o consumo in natura**. São Luís: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2016. p. 1 - 4. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1056465/aceitabilidade-de-frutos-de-passiflora-setacea-para-o-consumo-in-natura>>. Acesso em: 17 jun. 2019.

CARVALHO, Mariana Veras Oliveira de; OLIVEIRA, Livia de Lacerda de; COSTA, Ana Maria. Effect of training system and climate conditions on phytochemicals of Passiflora setacea , a wild Passiflora from Brazilian savannah. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 266, p.350-358, nov. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.097>.

CARVALHO,M.V.O.;PINELI,L.L.O; et al. Pre-harvest factors related to sensory profile of P. setacea nectars, a wild passion fruit from Brazilian savannah. Journal of the Science of Food and Agriculture,2018.

CARVALHO, Mariana Veras Oliveira de; OLIVEIRA, Livia de Lacerda de;

MELO, Lauro. Pre-harvest factors related to sensory profile of *Passiflora setacea* nectars, a wild passion fruit from Brazilian savannah. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**. Brasilia, p. 5711-5722. 8 maio 2018.

CELESTINO, Sonia Maria Costa; SANCHEZ, Beatriz Alejandra Ortega. **Construção e operação de um sistema de pasteurização de bancada para alimentos líquidos**: Comunicado Técnico. Planaltina - Df: Embrapa, 2018. 14 p. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/178881/1/CT-180-Sonia-Maria.pdf>>. Acesso em: 17 jun. 2019.

CORRÊA, Vanesa Gesser et al. Estimate of consumption of phenolic compounds by Brazilian population. **Revista de Nutrição**, [s.l.], v. 28, n. 2, p.185-196, abr. 2015. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1415-52732015000200007>.

FARIA, J.A.F. Estabilidade de alimentos em embalagens plasticas. Campinas: UNICAMP/FEA, 1990. 40p.

FERREIRA, A.I.a.; MATSUBARA, L.s.. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [s.l.], v. 43, n. 1, p.1-8, mar. 1997. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s0104-42301997000100014>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-42301997000100014&script=sci_arttext>. Acesso em: 04 nov. 2019.

FILARDI, Fabiana L. Ranzato et al. Brazilian Flora 2020: Innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 69, n. 4, p. 1513-1527, Dec. 2018.

FNDE, **Resolução/FNDE/CD nº 32 do FNDE de agosto de 2006**. Disponível em: <ftp://ftp.fnde.gov.br/web/resolucoes_2006/res032_10082006.pdf>. Acesso em: 18 jun 2019.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Cac/gl nº 2-1985, de 1985. **Guidelines On Nutrition Labelling**. 1. ed. Roma, ITÁLIA.

FRANKE, S.i.r et al. Study of antioxidant and mutagenic activity of different orange juices. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 88, n. 1, p.45-55, nov. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.021>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814604000597>>. Acesso em: 18 jun. 2019.

GADIOLI, Izabel Lucena et al. A systematic review on phenolic compounds in Passiflora plants: Exploring biodiversity for food, nutrition, and popular medicine. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [s.l.], v. 58, n. 5, p.785-807, 28 jun. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2016.1224805>. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2016.1224805>>. Acesso em: 17 jun. 2019.

GRIZOTTO, Regina Kitagawa et al. Estudo da vida-de-prateleira de fruta estruturada e desidratada obtida de polpa concentrada de mamão. **Food Science and Technology**, v. 26, n. 3, p. 709-714, 2006.

HARTMANN, Annetta et al. Influence of Processing on Quality Parameters of Strawberries. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.l.], v. 56, n. 20, p.9484-9489, 22 out. 2008. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf801555q>.

IFST. Shelf Life of Foods – Guidelines for its Determination and Prediction. London: **Institute of Food Science & Technology**, 1993.

IMIG, Daniela Cristina; CERVI, Armando Carlos. A new species of Passiflora L. (Passifloraceae), from Espírito Santo, Brazil. **Phytotaxa**, [s.l.], v. 186, n. 5, p.292-295, 4 dez. 2014. Magnolia Press. <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.186.5.7>. Disponível em: <<https://biotaxa.org/Phytotaxa/article/view/phytotaxa.186.5.7>>. Acesso em: 17 jun. 2019.

JULES JANICK (United Kingdom). **The Encyclopedia of Fruit and Nuts**. London: Cab International, 2006. Disponível em: <https://www.doc-developpement-durable.org/file/Arbres-Fruitiers/FICHES_ARBRES/Encyclopedia%20of%20Fruits%20&%20Nuts.pdf>. Acesso em: 17 jun. 2019.

KEHRER, James P.; KLOTZ, Lars-oliver. Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for Health. **Critical Reviews In Toxicology**, [s.l.], v. 45, n. 9, p.765-798, 7 set. 2015. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/10408444.2015.1074159>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26610815>>. Acesso em: 04 nov. 2019.

KILCAST, D.; SUBRAMANIAM, P. The stability and shelf-life of food. Woodhead. Publishing Limited, Cambridge. p. 1-12, 2000.

KOCH, I.s. et al. Impact of steam pasteurization on the sensory profile and phenolic composition of rooibos (*Aspalathus linearis*) herbal tea infusions. **Food Research International**, [s.l.], v. 53, n. 2, p.704-712, out. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.10.017>.

KUMAR, B. V. Sunil; SINGH, Satparkash; VERMA, Ramneek. Anticancer potential of dietary vitamin D and ascorbic acid: A review. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [s.l.], v. 57, n. 12, p.2623-2635, 19 out. 2015. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2015.1064086>. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2015.1064086>>. Acesso em: 17 jun. 2019.

KUMAR, Shashank; PANDEY, Abhay K.. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. **The Scientific World Journal**, [s.l.], v. 2013, n. 1, p.1-16, nov. 2013. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/162750>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24470791>>. Acesso em: 17 jun. 2019.

LARRAURI, J.A./ RUPEREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **J. Agric Food Chem**. v.45, p. 1390-1393 (1997).

LIN, Derong et al. An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. **Molecules**, [s.l.], v. 21, n. 10, p.1374-1393, 15 out. 2016. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules21101374>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27754463>>. Acesso em: 17 jun. 2019.

MAGALINGAM, Kasthuri Bai; RADHAKRISHNAN, Ammu Kutty; HALEAGRAHARA, Nagaraja. Protective Mechanisms of Flavonoids in Parkinson's Disease. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, [s.l.], v. 2015, n. 1, p.1-14, dez. 2015. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/314560>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26576219>>. Acesso em: 17 jun. 2019.

MARTINS, Glêndara Aparecida de Souza. **Determinação da vida-de-prateleira por testes acelerados de doce em massa de banana cv. prata**. 2009. 103 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

MELETTI, Laura Maria Molina. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v. 33, n. 1, p.83-91, out. 2011.

FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-29452011000500012>.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL. Instrução Normativa nº 1, de 07 de janeiro de 2000. **Regulamento Técnico Geral Para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade Para Polpas de Frutas**. 1. ed. Brasília, DF.

MITTELSTAEDT, Simone; CARVALHO, Vania Maria de. Escherichia coli enterohemorrágica (EHEC) O157:H7 - revisão. **Revista do Instituto de Saúde**, São Paulo, v. 24, n. 3, p.175-182, set. 2006.

MORETTI, Morgana; FRAGA, Daiane Bittencourt; RODRIGUES, Ana Lúcia S.. Preventive and therapeutic potential of ascorbic acid in neurodegenerative diseases. **Cns Neuroscience & Therapeutics**, [s.l.], v. 23, n. 12, p.921-929, 4 out. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/cns.12767>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28980404>>. Acesso em: 17 jun. 2019.

MOURA, S.C.S.R.; BERBARI, S.A.; GERMER, S.P.M; ALMEIDA, M.E.M; FEFIM, D.A. Determinação de vida-de-prateleira de maçã-passa por testes acelerados. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.27, n.1, p. 141-148, jan/fev. 2007.

MULLER, Ashley G. et al. Delivery of natural phenolic compounds for the potential treatment of lung cancer. **Daru Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], p.1-17, 21 maio 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s40199-019-00267-2>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31115871>>. Acesso em: 17 jun. 2019.

MUSCHNER, Valéria C. et al. Phylogeny, biogeography and divergence times in Passiflora (Passifloraceae). **Genetics And Molecular Biology**, [s.l.], v. 35, n. 41, p.1036-1043, 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-47572012000600019>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-47572012000600019>. Acesso em: 17 jun. 2019.

OLIVEIRA, Livia de Lacerda de; CARVALHO, Mariana Veras de; MELO, Lauro. Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food. **Revista Ceres**, [s.l.], v. 61, n. , p.764-779, dez. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0034-737x201461000002>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-737X2014000700002>. Acesso em: 18 jun. 2019.

PACHECO-PALENCIA, Lisbeth A.; DUNCAN, Christopher E.; TALCOTT, Stephen T.. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 115, n. 4, p.1199-1205, ago. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.034>.

PENTEADO, Marilene de Vuono Camargo. **Vitaminas: Aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. Barueri: Editora Manole, 2003. 612 p.

PEREIRA, Vinicius Rodrigues. **Ácido Ascórbico: características, mecanismos de atuação e aplicações na indústria de alimentos**. 2009. 40 f. TCC (Graduação) - Curso de Química, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2009. Disponível em: <<https://quimicadealimentos.files.wordpress.com/2009/08/acido-ascorbico.pdf>>. Acesso em: 05 nov. 2019.

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.

ROCHA, Wesley Silveira et al. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v. 33, n. 4, p.1215-1221, dez. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-29452011000400021>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-29452011000400021&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 17 jun. 2019.

SANTOS, Rosana Isabel dos. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4. ed. Porto Alegre: Editora Ufsc, 2002. Cap. 16. p. 333-364.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N. F. de A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 2. ed. São Paulo: Varela, 2010.

SOARES, Sergio Eduardo. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, [s.l.], v. 15, n. 1, p.71-81, jan. 2002. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-52732002000100008>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=s1415-52732002000100008&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 18 jun. 2019.

SOZO, Jenny Sumara et al. In Vitro Culture and Phytochemical Analysis of *Passiflora tenuifolia* Killip and *Passiflora setacea* DC (Passifloraceae). In: **Protocols for**

In Vitro Cultures and Secondary Metabolite Analysis of Aromatic and Medicinal Plants, Second Edition. Humana Press, New York, NY, 2016. p. 13-30.

TEIXEIRA NETO, R.O.; VITALI, A.A; MOURA, S.C.S.R. Introdução à cinética de reação em alimentos. In: MOURA, S.C.S.R.; GERMER, S.P.M. Reações de transformação e vida-de-prateleira de alimentos processados. 3. Ed. Campinas: ITAL, 2004. Cap.3, p. 75-81.

UNITED STATES. David B. Haytowitz And Seema Bhagwat. Nutrient Data Laboratory. **USDA Database for the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) of Selected Foods:** Release 2. 2. ed. Maryland: Maryland, 2010. 48 p. Disponível em: <http://www.orac-info-portal.de/download/ORAC_R2.pdf>. Acesso em: 05 nov. 2019.

UNITED STATES. INSTITUTE OF MEDICINE (US) PANEL ON DIETARY ANTIOXIDANTS AND RELATED COMPOUNDS. . **Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids.** Washington, D.c: National Academy Press, 2000. 530 p. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK225483/pdf/Bookshelf_NBK225483.pdf>. Acesso em: 09 nov. 2019.

ULMER, Torsten; MACDOUGAL, John Mochrie. **Passiflora: passionflowers of the world.** Timber Press (OR), 2004.

VAN GORKOM, Gwendolyn N.y. et al. The Effect of Vitamin C (Ascorbic Acid) in the Treatment of Patients with Cancer: A Systematic Review. **Nutrients**, [s.l.], v. 11, n. 5, p.977-992, 28 abr. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/nu11050977>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31035414>>. Acesso em: 17 jun. 2019.

VIANA, Marcelo Libindo; COSTA, Ana Maria; CELESTINO, Sonia Maria Costa. Composição nutricional da polpa do maracujá BRS Pérola do Cerrado. In: 11 SIMPOSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DOS ALIMENTOS, 11., 2015, Campinas. **Composição nutricional da polpa do maracujá BRS Pérola do Cerrado.** Campinas: 11 Slaca, 2015. v. 2, p. 1 - 2. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1031325/composicao-nutricional-da-polpa-do-maracuja-brs-perola-do-cerrado>>. Acesso em: 17 jun. 2019.

VICENTE, Antonio Madrid; CENZANO, I.; J.M.VICENTE. **Manual de indústrias dos alimentos.** São Paulo: Livraria Varela Ltda, 1996. 600 p.

VITALI, A. A.; TEIXEIRA NETO, R. O.; GERMER, S. P. M. Testes Acelerados de vida-de-prateleira de alimentos. In: REAÇÕES DE TRANSFORMAÇÃO E VIDA-DE-PRATELEIRA DE ALIMENTOS PROCESSADOS. Moura, S. C. S. R.; Germer, S. P. M. Campinas: ITAL. 3ª ed. p. 75-92, (Manual Técnico nº 6), 2004.

VOGT, Thomas. Phenylpropanoid Biosynthesis. **Molecular Plant**, [s.l.], v. 3, n. 1, p.2-20, jan. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1093/mp/ssp106>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1674205214603944>>. Acesso em: 18 jun. 2019.

ZUANAZZI, José Angelo Silveira. Flavonóides. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4. ed. Porto Alegre: Editora Ufsc, 2002. Cap. 23. p. 499-526.