

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS



Dissertação

**CARACTERIZAÇÃO DA LARANJA-AZEDA E MICROENCAPSULAÇÃO DO
EXTRATO OBTIDO DA CASCA PELO MÉTODO *SPRAY DRYING***

Fernanda Moura Ribeiro Trindade

Pelotas, 2018

FERNANDA MOURA RIBEIRO TRINDADE

**CARACTERIZAÇÃO DA LARANJA-AZEDA (*Citrus aurantium*) E
MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO OBTIDO DA CASCA PELO
MÉTODO *SPRAY DRYING***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade Federal de Pelotas – UFPel como requisito necessário a obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Simone Pieniz

Co-orientador: Prof Dr. Carlos Castilhos de Barros

Pelotas, 2018

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a Simone Pieniz – UFPel (Presidente/Orientador)

Prof Dr^o. Carlos Castilhos de Barros (Co-orientador)

**Prof. Dr^o. Eliezer Avila Gandra – Doutor em Ciência e Tecnologia
Agroindustrial (UFPel).**

**Dr^a. Deborah Murowaniecki Otero – Doutora em Engenharia e Ciência de
Alimentos (Furg)**

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por ter guiado meus passos durante esta jornada.

Aos meus pais, Patrícia e José, por acreditarem e confiarem em mim. Aos meus avós, Ivone e Patrício, por todo amor e força que dedicaram para que pudesse concluir meu objetivo, mesmo com todas as dificuldades enfrentadas. Ao meu namorado, Felipe, pelo carinho, compreensão e por sempre me fazer acreditar no meu potencial.

As minhas amigas Camila, Danielle e Júlia P. pelos anos de amizade e companheirismo, onde mesmo longe fisicamente foram fundamentais para a conclusão desse trabalho, sempre me incentivando.

As amigas e colegas de pesquisa Júlia U, Itiane, Michele e Fernanda pelos dias incansáveis no laboratório para que meu trabalho se concretizasse.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Simone, pelos 5 anos de amizade e orientação nos trabalhos executados desde a graduação em Nutrição.

Aos queridos e amados colegas do Programa de Pós Graduação em Nutrição e Alimentos, onde extrapolamos nosso vínculo para fora da sala de aula.

À todos que direta ou indiretamente foram importantes para que esse trabalho fosse concluído.

Muito obrigada! Meu sucesso é fruto de tudo que vocês me ensinaram, por isso, este título é nosso.

Amo vocês!

Resumo

Trindade, Fernanda Moura Ribeiro. **Caracterização da laranja-azeda e microencapsulação do extrato obtido da casca pelo método *spray drying***. 2018. 79 f. Dissertação. (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

Dentre as espécies de laranja consumidas pela população mundial, a laranja-azeda (*Citrus aurantium*) tem recebido destaque na literatura pelos diversos benefícios apresentados. Habitualmente, o albedo é a principal parte comestível da laranja-azeda consumida na região Sul do Brasil para a produção de um doce típico. Entretanto, a casca e a polpa são caracterizados como co-produtos, desta forma, sendo descartados. Sendo assim, o objetivo desta pesquisa foi analisar a composição fitoquímica, antioxidante e antimicrobiana da casca, polpa e albedo da fruta laranja-azeda (*Citrus aurantium*) e realizar a microencapsulação do extrato hidroetanólico da casca pelo método *spray drying*. Neste estudo foi realizada a caracterização centesimal, quantificação de compostos fenólicos totais e carotenoides totais da casca, polpa e albedo, e em relação aos extratos aquosos e etanólicos destas partes, foi avaliada a atividade antioxidante e antimicrobiana. O extrato da casca foi microencapsulado pelo método *spray drying* utilizando a maltodextrina como material de parede. Como resultados, o presente estudo demonstrou que a polpa diferiu significativamente das demais amostras para umidade, carboidrato e valor energético total. Para a análise antioxidante, o extrato aquoso apresentou maior porcentagem de inibição pelo método de captura do radical DPPH e o mesmo extrato exerceu menor formação de malonaldeído, reduzindo a peroxidação lipídica, ou seja, apresentando maior capacidade antioxidante. Em relação a quantificação de compostos, a amostra da polpa apresentou maior concentração de compostos fenólicos totais e a amostra da microcápsula maior conteúdo de carotenoides totais. Nas análises antimicrobianas, foi observado que os extratos aquosos demonstram inibição e ação bactericida frente as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. A microcápsula apresentou alta eficiência de encapsulação pelo método utilizado e a estrutura da superfície desta apresentou aspecto irregular, com intumescimento (abcesso) e dobras pela análise de Microscopia Eletrônica de Varredura. Desta forma, conclui-se que as partes da laranja-azeda apresentaram composição significativa, destacando que a polpa apresentou menor valor energético total. Em relação ao extrato aquoso da casca demonstrou possuir ação antimicrobiana e antioxidante. Somado a isso, a microencapsulação do extrato da casca de laranja-azeda apresentou boa eficiência de encapsulação, sugerindo ser uma fonte acessível para a população se beneficiar das suas ações.

Palavra-chave: *Citrus aurantium*; estresse oxidativo; compostos fenólicos; carotenoides; antibacterianos.

Abstract

Trindade, Fernanda Moura Ribeiro. **Characterization of sour orange and microencapsulation of the extract obtained from peel by *spray drying* method.** 2018. 79 f. Dissertation. (Master in Nutrition and Food) - Graduate Program in Nutrition and Food, Faculty of Nutrition, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2018.

Among the orange species consumed by the world population, sour orange (*Citrus aurantium*) has been highlighted in the literature for the various benefits presented. Usually, the albedo is the main edible part of the sour orange consumed in the south region of Brazil for the production of a typical candy. However, the peel and the pulp are characterized as by-products, being discarded. Thus, the aim of this research was to analyze the phytochemical, antioxidant and antimicrobial composition of the peel, pulp and albedo of the sour-orange fruit (*Citrus aurantium*) and to perform the microencapsulation of peel hydroethanolic extract by *spray drying* method. In this study, the centesimal characterization, quantification of total phenolic compounds and total carotenoids of the peel, pulp and albedo were carried out, and in relation to the aqueous and ethanolic extracts of these parts, antioxidant and antimicrobial activity were evaluated. The peel extract was microencapsulated by *spray drying* method using maltodextrin as a wall material. As results, the present study demonstrated that the pulp differed significantly from the other samples for moisture, carbohydrate and total energy value. For the antioxidant analysis, the aqueous extract presented a higher percentage of inhibition by the DPPH radical capture method and the same extract exerted a lower formation of malonaldehyde, reducing the lipid peroxidation, that is, presenting a higher antioxidant capacity. In relation to the quantification of compounds, the pulp had the highest concentration of total phenolic compounds and the microcapsule had the highest content of total carotenoids. In the antimicrobial analyzes, it was observed that the aqueous extracts demonstrate inhibition and bactericidal action against Gram-positive and Gram-negative bacteria. The microcapsule presented high encapsulation efficiency by the method used and the surface structure of this one presented irregular appearance, with swelling (abscess) and folds by Scanning Electron Microscopy analysis. In this way, it was concluded that the parts of sour orange presented significant composition, emphasizing that the pulp had lower total energy value. About the aqueous extract of peel it was showed antimicrobial and antioxidant action. In addition, the microencapsulation of the orange peel extract showed good encapsulation efficiency, suggesting that it is an accessible source for the population to benefit from its actions.

Key-words: *Citrus aurantium*; oxidative stress; phenolic compounds; carotenoids; anti-bacterial agents.

Lista de Figuras

Figura 1	Fruta <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck.....	14
Figura 2	Fruta <i>Citrus aurantium</i>	16
Figura 3	Estrutura química da catequina.....	19
Figura 4	Estrutura química da hesperidina.....	19
Figura 5	Estrutura química do β -caroteno.....	22
Figura 6	Estrutura química do licopeno.....	22
Figura 7	Percentual de inibição do DPPH para o extrato aquoso nos tempos inicial e final.....	41
Figura 8	Percentual de inibição do DPPH para o extrato etanólico nos tempos inicial e final.....	41
Figura 9	Inibição da peroxidação lipídica dos extratos de Casca, Polpa e Albedo utilizando gordura saturada....	45
Figura 10	Inibição da peroxidação lipídica dos extratos de Casca, Polpa e Albedo utilizando gordura monoinsaturada.....	48
Figura 11	Concentração de compostos fenólicos totais da casca, polpa, albedo e microcápsula analisados pelo método de Folin-Ciocalteu.....	51
Figura 12	Concentração de carotenoides totais da casca, polpa, albedo e microcápsula.....	52
Figura 13	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da microcápsula de extrato de laranja-azeda em diferentes aumentos.....	62

Lista de Tabelas

Tabela 1	Composição físico-química da laranja-azeda.....	39
Tabela 2	Quantificação da média da atividade antioxidante pelo método TBARS (gordura saturada e monoinsaturada) e método DPPH (tempo inicial e tempo final).....	50
Tabela 3	Análise antimicrobiana dos extratos pelo método de difusão frente às bactérias patogênicas.....	54
Tabela 4	Análise da Concentração Inibitória Mínima dos extratos.....	56
Tabela 5	Análise da Concentração Bactericida Mínima dos extratos.....	58
Tabela 6	Avaliação da coloração da microcápsula de laranja-azeda.....	61
Tabela 7	Percentual de eficiência de encapsulação (EE) da microcápsula.....	62

Lista de Abreviaturas e Siglas

DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
BHI	Brain Heart Infusion
µg	Microgramas
µL	Microlitros
µm	Micrometros
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ATCC	American Type Culture Collection
CAT	Catalase
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
Cm	Centímetros
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DE	Dextrose Equivalente
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EAG	Equivalente de Ácido Gálico
EE	Eficiência de Encapsulação
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FAO	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
FDA	Food and Drug Administration
G	Gramas
GPx	Glutathione Peroxidase
H	Horas
H ⁺	Hidrogênio
H ₂ O ₂	Péroxido de Hidrogênio
Kcal	Kilocalorias
MDA	Malonaldeído
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mg	Miligrama
mL	Militros
N	Normal
O ₂ ⁻	Superóxido
OH	Hidroxila
rpm	Rotações por minuto
SOD	Superóxido Dismutase
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
TBARS	Reação ao ácido tiobarbitúrico
VET	Valor Energético Total
WHO	World Health Organization

Sumário

1 Introdução	11
Objetivos	13
2 Revisão Bibliográfica	14
2.1 Frutas do gênero Citrus.....	14
2.1 <i>Citrus aurantium</i>	15
2.3 Compostos bioativos	17
2.3.1 Compostos fenólicos	18
2.3.2 Vitamina C	20
2.3.3 Carotenoides	21
2.4 Capacidade Antioxidante	23
2.5 Atividade Antimicrobiana	24
2.6 Encapsulação	26
2.6.1 Microencapsulação	27
2.7 Materiais de parede	28
2.7.1 Maltodextrina	28
2.8 Métodos de encapsulação	29
2.8.1 <i>Spray drying</i>	29
3 Material e métodos	32
3.1 Caracterização da amostra	32
3.2 Composição centesimal	32
3.3 Preparação dos extratos	33
3.4 Avaliação da atividade antioxidante	30
3.4.1 Sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)...	33
3.4.2 Reação ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)	34
3.5 Compostos fenólicos totais	34
3.6 Conteúdo total de carotenoides	34
3.7 Avaliação da atividade antimicrobiana	35
3.7.1 Método de difusão em disco	35
3.7.2 Avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	36
3.7.3 Avaliação da Concentração Bactericida Mínima (CIM) ...	36
3.8 Microencapsulação pelo método <i>spray drying</i>	36
3.9 Caracterização da cor e atividade de água da microcápsula...	37
3.10 Eficiência de Encapsulação	37
3.11 Microscopia Eletrônica de Varredura	38
3.12 Análise Estatística.....	38
4 Resultados e discussão	38
5 Considerações finais	63
6 Planejamentos futuros	64
Referências	65

1 Introdução

Atualmente as modificações dos hábitos alimentares, optando por alimentos altamente industrializados, estão ocasionando alterações, como obesidade e aumento da pressão arterial na saúde da população. O Ministério da Saúde vem desenvolvendo ações visando a adequação da alimentação para a população brasileira. Dessa forma, no ano de 2014 foi lançado o novo Guia Alimentar para a População Brasileira (BRASIL, 2014), com o objetivo de melhorar a qualidade da saúde humana

Dentro desse contexto, as frutas são excelentes fontes alimentares capazes de auxiliar no processo de reeducação alimentar, além de possuírem diversos nutrientes, como vitaminas e minerais, fontes cruciais na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), a exemplo da obesidade, hipertensão arterial crônica e doenças cardiovasculares (WHO, 2003). De acordo com a World Health Organization (WHO, 2004), 2,7 milhões de mortes poderiam ser prevenidas se o consumo de frutas e hortaliças fossem aumentados.

Complementar aos benefícios proporcionados por este grupo alimentar, são também caracterizados por serem fontes de compostos bioativos, como os antioxidantes que auxiliam em diversos processos, a exemplo do emparelhamento de radicais livres, prevenindo assim, diversas doenças (REIS et al., 2015). Os radicais livres são gerados a partir do estresse oxidativo e este pode gerar efeitos danosos, como promover a modificação celular. Nesse sentido, o organismo possui um sistema de defesa antioxidante endógeno, entretanto, estas enzimas nem sempre são suficientes para promover o reparo desse estresse. Frente a isso, os seres humanos podem potencializar o sistema de defesa antioxidante por meio da dieta, na qual as vitaminas e os compostos fenólicos destacam-se por auxiliar no processo de doação de elétrons ao radical livre (TURECK et al., 2017).

Segundo a Pesquisa de Orçamento Familiar 2008-2009 (IBGE, 2011), dentre o grupo alimentar das frutas, a laranja foi a segunda fruta mais consumida na região Sul do Brasil. Sabe-se que o Brasil é o maior produtor mundial de laranjas (BRASIL, 2017), sendo que em 2017 obteve a produção média de 15 mil toneladas. Entretanto, a literatura descreve que cerca de 50% das laranjas

utilizadas para suco é descartada (casca e albedo), fator este responsável por gerar desequilíbrios ambientais (SPINELLI et al., 2017).

Dentre as espécies de laranja consumidas pela população, a *Citrus aurantium* tem recebido destaque na literatura pelos diversos benefícios apresentados por ela, em especial por conter o composto *p*-sinefrina, sendo uma de suas características apresentar efeito no emagrecimento (ARBO et al., 2009). A fruta, pertencente à família Rutaceae, é conhecida popularmente como laranja da terra, laranja-amarga ou laranja-azeda e tem apresentado diversos benefícios no tratamento da ansiedade e na redução de peso (AKHLAGHI et al., 2011; FUGH-BERMAN e MYERS, 2004). Devido ao seu alto teor de acidez, estudos a partir de extratos da fruta e do seu óleo essencial estão sendo realizados no tratamento ansiolítico e sedativo (CARVALHO-FREITAS e COSTA, 2002).

Uma alternativa encontrada pelos pesquisadores para mascarar as características sensoriais desagradáveis de certos alimentos e controlar fatores ambientais interferentes é a encapsulação (SPINELLI et al, 2017). Esta técnica vem sendo empregada há muitos anos, e diversos materiais de parede são utilizados para proteger o material encapsulado, dentre eles, os mais utilizados são os carboidratos e as proteínas (AZEREDO, 2005).

A encapsulação de uma amostra, denominada núcleo, pode ser feita por meio de diversos métodos. Dentre os mais descritos pela literatura e utilizados pelos pesquisadores, devido a sua fácil operação e reprodutibilidade é o *spray drying* (PEREIRA et al., 2018). Esta técnica consiste em formar microcápsulas obtidas por meio do contato da solução com o ar quente, promovendo dessa forma a desidratação (CARMO et al., 2015).

Dentre as partes comestíveis da laranja, tem-se a casca (epicarpo), polpa (endocarpo) e albedo (mesocarpo). Habitualmente, o albedo é a principal parte da laranja-azeda consumida na região Sul do Brasil para a produção de um doce típico. Entretanto, a casca e polpa são caracterizados como co-produtos, desta forma, sendo descartados. Nesse contexto, diversos produtos vêm sendo encapsulados com esta justificativa, onde a população pode se beneficiar dos nutrientes presentes de forma íntegra e, ainda, atuar na redução do impacto ambiental.

Objetivo Geral

Determinar a composição fitoquímica, antioxidante e antimicrobiana da casca, polpa e albedo da fruta laranja-azeda (*Citrus aurantium*) e realizar a microencapsulação do extrato hidroetanólico da casca pelo método *spray drying*.

Objetivos específicos

- Caracterizar a composição centesimal da casca, polpa e albedo;
- Avaliar o potencial antioxidante dos extratos da casca, polpa e albedo pelo método do sequestro radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e pelo método de reação ao ácido tiobarbitúrico (TBARS);
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos de casca, polpa e albedo;
- Obter uma microcápsula do extrato da casca pelo método *spray drying*;
- Avaliar a eficiência de encapsulação da microcápsula;
- Avaliar a cor e atividade da água da microcápsula;
- Analisar por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV) a microcápsula.
- Avaliar os compostos fenólicos totais presentes na casca, polpa, albedo e microcápsula;
- Caracterizar os carotenoides totais da casca, polpa, albedo e microcápsula.

2 Revisão bibliográfica

2.1 Frutas do gênero *Citrus*

Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2017), a produção de frutas cítricas vem sendo amplamente difundida. Nesse quesito, o Brasil ocupa a primeira posição entre os países do hemisfério Sul na produção de cítricos em geral. Para a produção de laranja (Figura 1), em dados preliminares publicados no ano de 2016, o Brasil foi o primeiro colocado da lista no hemisfério Sul, e para os países do hemisfério Norte, a Europa foi responsável pelo topo da lista. Em relação a produção de tangerinas e limão no mesmo ano, a produção mundial foi maior na China e Europa, respectivamente.



Figura 1. Fruta *Citrus sinensis* L. Osbeck (Embrapa)

As frutas cítricas são nativas da região Asiática, entretanto mundialmente estão dispersas ao redor do mundo, sendo encontradas em países com clima tropical ou subtropical (SURYAWANSHI, 2011). Nesse sentido, destaca-se a importância de expor dados para a população que sejam capazes de esclarecer suas dúvidas. Os pesquisadores vêm estudando sobre os efeitos que as frutas cítricas exercem na saúde. Em uma meta-análise realizada por Cirimi et al. (2018), observaram que o consumo dessas frutas foi capaz de reduzir o risco de câncer bucal, podendo este fato ser justificado pela inibição do estresse/dano oxidativo. Da mesma forma, os autores Zhao et al. (2018), observaram que as frutas cítricas estão associadas ao menor risco de câncer de esôfago.

Dentro dessa temática, o pesquisador Alcantara (2017) realizou uma pesquisa sobre o consumo de suco de laranja pela população. O questionário

aplicado demonstrou que 63,5% dos participantes afirmaram consumir o suco de forma integral e sem adição de açúcares e 52,9% declararam consumir eventualmente o suco. Em relação a questão nutricional, foi indagado a estes consumidores sobre o conhecimento dos benefícios proporcionados por esta fruta e como resultado, 73,1% dos entrevistados relatou não ter conhecimento sobre as vantagens de se consumir este suco. A partir desse resultado pode-se observar que os indivíduos não demonstram conhecimento sobre o produto que estão ingerindo e por este motivo é importante disseminar estes dados para além da população científica.

Como demonstrado acima, a maioria dos entrevistados consome suco de frutas rotineiramente ou de forma eventual, corroborando com os achados de Rampersaud e Valim (2017), os quais demonstram que os sucos de laranja e toranja são altamente consumidos em todo o mundo, os quais são responsáveis por apresentarem compostos bioativos que auxiliam na saúde. Nessa concepção, o suco de laranja e de toranja apresentaram, respectivamente, 84mg e 72mg de vitamina C (USDA, 2013). Tais frutas são amplamente consumidas ao redor do mundo, onde suas características são marcadas pela sua coloração (aparência) e sabor (ZOU et al., 2016).

2.2 *Citrus aurantium*

As frutas são responsáveis por auxiliar na saúde humana de modo que seus componentes são capazes de reduzir os riscos de DCNT. Dentre as opções deste alimento *in natura*, o gênero *Citrus* é amplamente consumido entre a população brasileira (RÁMIREZ e HUBSCHER, 2011) e as partes comestíveis são casca, polpa e albedo. A *Citrus aurantium* (Figura 2) pertence à família Rutaceae, gênero *Citrus*, subespécies *Citrus amara*, *Citrus bergamia*, *Citrus bigaradi* e *Citrus vulgaris* sendo conhecida como laranja-azedada, laranja-amarga, laranja-da-terra, laranja-cavalo e na medicina chinesa Zhi shi (BOUCHARD et al., 2005; ARBO et al., 2008; AKHLAGHI et al., 2011), fruto de uma pequena árvore, na qual apresenta flores brancas.



Figura 2. Fruta *Citrus aurantium* (Imagem fotografada pelo autor)

A fruta laranja-azeda é identificada pelo seu sabor azedo e por esse fato é de difícil consumo na sua forma *in natura*. Entretanto, Fugh-Berman e Myers (2004) relataram em sua pesquisa que em alguns países como no Irã, a fruta madura é consumida e no México são realizadas preparações com sal e pimenta utilizando as frutas frescas. Já com as cascas da laranja-azeda são produzidas geleias, enquanto que as flores são utilizadas como chás e o óleo essencial, obtido por meio das folhas da fruta, são utilizados para formulação de licor e perfumes.

A *Citrus aurantium* vem recebendo destaque na pesquisa científica, pois em abril de 2004 a Food and Drug Administration (FDA) banuiu a venda do alcaloide efedrina com a justificativa deste provocar efeitos adversos na saúde, como aumento da pressão arterial e taquicardia (ARBO et al., 2009). Estudos vêm sendo desenvolvidos com essa fruta com a justificativa desta apresentar um composto com ação semelhante a efedrina, denominado *p*-sinefrina. Esse alcaloide é conhecido na literatura por atuar na lipólise, agindo nos receptores α e β adrenérgicos (FUGH-BERMAN e MYERS, 2004; ARBO et al., 2008). Arbo et al. (2008) relatam que a parte da laranja-azeda que apresenta maior quantidade desse alcaloide é na casca da fruta (0,056%), seguida do albedo (0,028%), e ainda observaram que quanto menor o diâmetro da fruta, maior a concentração de *p*-sinefrina.

Dentre os diversos benefícios promovidos pela *Citrus aurantium*, os pesquisadores Akhlaghi et al. (2011) analisaram o efeito da pré-ansiedade operatória em cirurgias de pequeno porte utilizando destilado de flores de laranja-azeda. O resultado do estudo demonstrou que os pacientes do grupo

tratado com a flor estavam menos ansiosos comparado ao grupo placebo (administração de salina), sugerindo uma fonte fitoterápica alternativa.

Esta ação benéfica foi demonstrada por Suryawanshi (2011) o qual relatou que as folhas de *Citrus aurantium* atuam auxiliando no efeito laxativo, sedativo e calmante e, a casca, é consumida para o alívio de distúrbios gástricos. O autor ainda descreve que a recomendação para o consumo humano seja realizado por infusão contendo cerca de 1 a 2g da casca seca de laranja-azeda em um copo de água quente. Esses resultados são relevantes para a população humana, pois é uma forma de obtenção dos benefícios proporcionados pela fruta por meio de seus co-produtos.

2.3 Compostos bioativos

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (2002), compreende-se por composto ou substância bioativa: “além dos nutrientes, os não nutrientes que possuem ação metabólica ou fisiológica específica”. Dentro desses compostos inserem-se os carotenoides, os fitoesteróis, os flavonoides, os fosfolipídeos, os organosulfurados, os polifenóis e os probióticos.

Os compostos bioativos estão amplamente distribuídos em diversos grupos alimentares. O autor Agostini-Costa (2018) ao concluir seu estudo sobre diferentes tipos de palmas (planta) pode verificar que a sua utilização auxilia na saúde humana, melhorando o perfil lipídico e atuando como antioxidante. Resultado semelhante foi relatado por Silva et al. (2015) que ao estudarem os flavonoides, como composto bioativos, observaram efeito protetor destes contra danos à saúde, como melhora no perfil lipídico e metabolismo oxidativo.

Os diferentes métodos de análise para avaliar a capacidade antioxidante estão em constante uso, pois eles são capazes de auxiliar na busca pelos compostos bioativos presentes nos alimentos (SUCUPIRA et al., 2012). Ao realizar a avaliação dos compostos bioativos e a atividade antioxidante de 18 frutas distintas, Rufino et al. (2010) encontraram em seu estudo antocianinas, vitamina C, flavonoides, carotenoides e clorofila. Os autores observaram ainda que as frutas não tradicionais avaliadas apresentam elevada capacidade antioxidante por diferentes métodos, podendo ser justificada pela presença de substâncias bioativas.

Da mesma forma, ao verificar a presença de carotenoides totais e vitamina C em diferentes variedades de mamão, Reis et al. (2015) sugerem que a atividade antioxidante encontrada pode estar relacionada com a presença desses compostos. Da mesma maneira, os pesquisadores Silva e Jorge (2011) ao estudarem cogumelos, encontraram uma grande quantidade de compostos bioativos, dentre eles a vitamina C, corroborando com o resultado do estudo de Reis et al. (2015), onde também houve redução dos radicais livres.

Frente aos dados relatados, nota-se a importância que estes compostos podem exercer à saúde humana, visto que conforme a literatura, são responsáveis por diversos efeitos benéficos ao organismo humano.

2.3.1 Compostos fenólicos

Dentre os diversos compostos encontrados na natureza, os compostos fenólicos são originários do metabolismo secundário das plantas e atuam em diversos processos, como na reprodução e no crescimento (COSTA e ROSA, 2010). Este grupo apresenta em sua estrutura diversos grupos benzênicos, podendo ser substituídos por grupamentos hidroxílicos (ANGELO e JORGE, 2007).

O pesquisador Ribéreau-Gayon (1968) definiu três classificações para os compostos fenólicos: pouco distribuídos na natureza, polímero e largamente distribuídos na natureza. De maneira geral, os pouco distribuídos são aqueles denominados “fenóis simples”; dentre os polímeros inserem-se os taninos e ligninas; e aqueles que são largamente distribuídos pertencem aos dois grandes grupos, flavonoides e não flavonoides.

O grupo dos flavonoides representa os polifenóis (contendo dois anéis aromáticos), sendo composto por flavonóis, flavononas, flavonas, catequinas (Figura 3), antocianinas, antoxantinas e isoflavonas. Este grande grupo é representado por ser um potente antioxidante natural, encontrado em diversos alimentos, como em frutas e hortaliças (COSTA e ROSA, 2010).

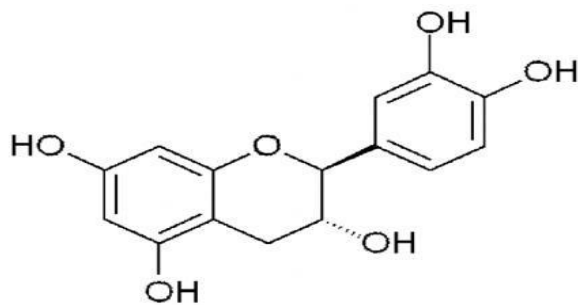


Figura 3. Estrutura química da catequina (SILVA et al. 2010).

As flavononas, encontradas em diversos cítricos (laranja, tangerina, toranja), vêm sendo estudadas pelos seus benefícios, a exemplo da redução no perfil lipídico e capacidade antioxidante, citado em artigo de revisão realizado pelos pesquisadores Barreca et al. (2017). Dentre as flavononas mais abundantes em frutas cítricas, encontra-se a hesperidina (Figura 4), naringenina, neoeritrocina e narirutina (GHORBANI et al., 2012).

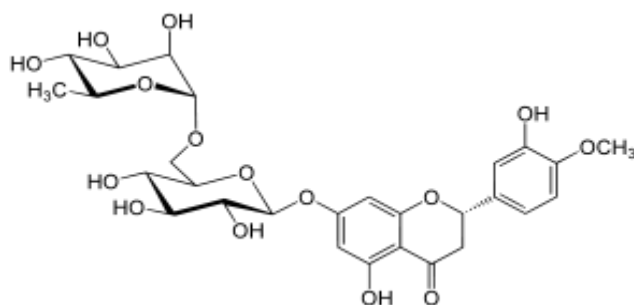


Figura 4. Estrutura química da hesperidina (SILVA et al., 2010)

Entre os efeitos descritos pelos flavonoides, Samieri et al. (2014) observaram que conforme o aumento no consumo de alimentos ricos neste composto fenólico, melhores chances sobre o envelhecimento saudável de mulheres mais velhas, podendo este fato ser justificado pela ação antioxidante promovida. Em uma meta-análise realizada por Wang et al. (2014) sobre a relação do consumo de flavonoides e o risco de doenças cardiovascular no ano de 2014, demonstraram que estes compostos encontrados em alimentos possuem ação protetora contra o desenvolvimento da doença.

Na meta-análise realizada pelos autores Rienks et al. (2018), o objetivo foi verificar a associação entre o consumo de polifenóis e risco de Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2). Ao longo do seu estudo observaram que o consumo de alimentos ricos em flavonoides auxiliou na prevenção de DM2, pois este

composto fenólico atua no metabolismo da glicose auxiliando na secreção de insulina. O extrato hidroetanólico obtido da casca de laranja de umbigo foi estudado para avaliar seu efeito na DM2 em um modelo *in vivo* (AHMED et al., 2017). Da mesma forma que apresentado por Rienks et al. (2018), devido aos compostos naringina e naringenina presentes na fruta, foi concluído que houve interação com o hormônio insulina, responsável pela regulação da glicose.

2.3.2 Vitamina C

A vitamina C, cientificamente denominada de ácido ascórbico, tem sido estudada por diversos anos. No século XV descobriu-se que o consumo de frutas cítricas, como o suco de limão, poderia prevenir o escorbuto (deficiência de vitamina C). Esta vitamina é encontrada sob duas formas: oxidada (ácido deidroascórbico) e reduzida (ácido ascórbico). Dentre as principais características tem-se destacado por ser hidrossolúvel, termolábil e sensível a luz (COSTA e ROSA, 2010). Entretanto, estudos são realizados, pois ela é capaz de atuar como antioxidante natural podendo ser responsável pela captura de radicais livres gerados a partir do estresse oxidativo (ZOU et al., 2016).

Para elucidar o seu efeito termolábil, os pesquisadores Lu et al. (2018) estudaram o suco de laranja e detectaram que houve uma perda de 68,09% de ácido ascórbico ao final do tratamento térmico. Da mesma forma, Silva et al. (2006) compararam métodos de aquecimento do suco de laranja e preparações realizadas a partir dele, e observaram que o aquecimento em forno convencional promoveu maior perda desta vitamina quando comparado ao forno micro-ondas.

Ainda sobre sua característica termolábil, o estudo de Cunha et al. (2014) compararam o suco da laranja, melancia e o abacaxi com hortelã. Os autores observaram que as perdas de ácido ascórbico na laranja não foram significativas nas temperaturas entre 6-30°C e o teor de acidez nesta amostra não demonstrou diferença significativa quando o suco foi armazenado em temperatura ambiente. Uma das principais razões para este resultado é a presença do limoneno, o qual atua em diversos processos, a exemplo, como composto antimicrobiano e antioxidante (VIEIRA et al., 2018; KUMMER et al., 2013).

Dentre os diferentes processos que a vitamina C é capaz de participar, a facilitação da absorção do ferro tem ganhado destaque. O mecanismo ocorre, pois o ácido ascórbico é capaz de reduzir o ferro férrico (Fe^{+3}) à ferro ferroso

(Fe⁺²) (GRANGER e ECK, 2018). Outra atuação referente a esta vitamina é seu potencial antioxidante, no qual proporciona a doação de elétrons para os radicais livres com o objetivo de emparelha-los (COSTA e ROSA, 2010).

Os humanos, ao contrário das plantas e os animais mamíferos, precisam adquirir esta vitamina de forma exógena, ou seja, por meio da alimentação, pois não são capazes de sintetizar endogenamente por meio da enzima L-gulonolactona (GILLBERG et al., 2017). Dessa forma, como já mencionado, suas fontes alimentares e seus benefícios são capazes de prevenir diversas doenças, como DCNT e câncer, pela sua ação antioxidante.

2.3.3 Carotenoides

Os carotenoides são polisoprenoides, possuindo em sua estrutura 40 átomos de carbonos unidos por ligações duplas conjugadas, possuindo estruturas cíclicas ao final de cada cadeia. Além disso, são caracterizados por serem altamente pigmentados originando a cor alaranjada, avermelhada e amarelada presente em frutas como laranja, mamão, cenoura, dentre outras, e alguns vegetais. Esses compostos não são sintetizados pelos humanos e animais, entretanto as plantas possuem tal capacidade e, desta forma, são responsáveis pela coloração desses alimentos, atuando no processo de fotossíntese (PAULA et al., 2004).

Dentro do grupo dos carotenoides, encontram-se dois grandes subgrupos: carotenos e xantofilas. Inseridos na divisão, os compostos α e β -caroteno (Figura 5) são precursores da vitamina A, ou seja, auxiliam na formação desta vitamina (COSTA e ROSA, 2010). Pelo fato de não ser sintetizados pelo organismo humano, é necessário que seus benefícios sejam adquiridos por meio da ingestão dos alimentos, e as principais fontes encontradas nestes, geralmente são α e β -caroteno, luteína, zeaxantina, β -criptoxantina e licopeno (Figura 6) (HORST e MORENO, 2009).

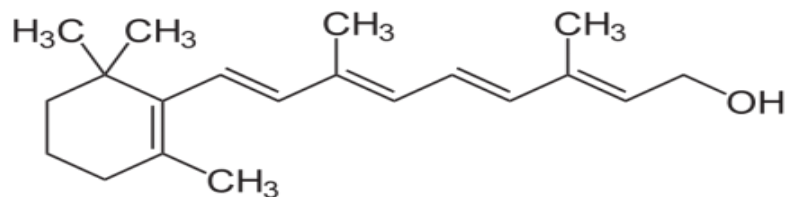


Figura 5. Estrutura química do β -caroteno (SILVA et al., 2010)

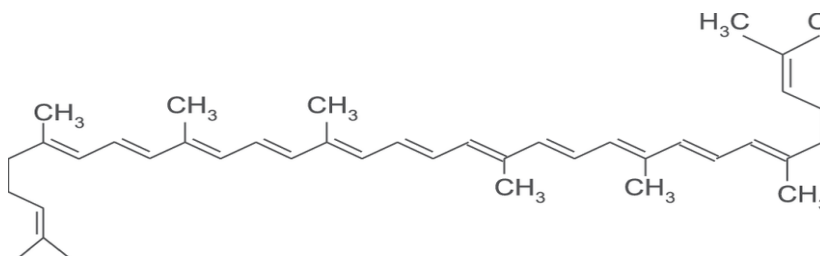


Figura 6. Estrutura química do licopeno (SILVA et al., 2010)

Os pesquisadores Rodrigo et al. (2015) estudaram duas diferentes variedades de laranja. Entre os resultados encontrados destacaram que a polpa quando comparada ao suco apresentou maior presença de carotenoides. Neste estudo, puderam observar a presença de fitoeno e fitoflueno, que são carotenoides caracterizados por serem incolores. Para o composto licopeno, apenas em uma das amostras este estava presente, entretanto, a quantidade de carotenoides é estritamente individual, além de ser influenciada pelo seu processo de maturação, clima, temperatura, solo, dentre outros fatores (MESCHEDE et al., 2011).

Os pesquisadores têm aprimorado a validação de métodos que sejam capazes de quantificar os carotenoides presente em alimentos, pois assim, é possível aproximar a ciência da saúde. Por este motivo, Correa et al. (2015) analisaram por CLAE, os alimentos cenoura, manga e melancia, a fim de verificar a quantidade de betacaroteno e licopeno. Após a validação do método, os pesquisadores observaram que o maior conteúdo de β -caroteno e licopeno estavam presentes na cenoura e na melancia, respectivamente.

Logo, pode-se observar que pesquisas vem evidenciando as frutas com maiores teores de compostos fitoquímicos capazes de atuar como antioxidantes podem estimular o consumo destas. Além disso, pode contribuir com a recomendação da WHO para o consumo diário de frutas (BRASIL, 2014).

2.4 Capacidade antioxidante

A atividade antioxidante vem sendo estudada há vários anos, seja pelo seu mecanismo de ação bem como pelo seu potencial efeito benéfico. Bianchi e Antunes (1999) relatam em seu estudo os possíveis mecanismos de ação destes. Primeiramente, a formação dos radicais livres é definida como o não pareamento dos seus elétrons, logo, os seres vivos estão sujeitos a todo instante a formação desses radicais, visto que eles são formados a partir da respiração, dieta não equilibrada, uso de tabaco e consumo de bebidas alcoólicas.

O estresse oxidativo é caracterizado pelo desequilíbrio das moléculas antioxidantes e oxidantes, ocasionando o aumento dos radicais livres. Essencialmente este desequilíbrio ocorre, pois o oxigênio necessário para a respiração não é totalmente absorvido, sendo o restante enviado para outras vias metabólicas, podendo ser transformado em espécies reativas de oxigênio (EROs). Entre as principais EROs geradas estão a hidroxila (OH), o superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Este mecanismo será estabilizado quando um antioxidante exercer seu papel, cuja função é emparelhar o elétron do radical livre, tornado a molécula estável (SUCUPIRA et al., 2012).

Os antioxidantes são essenciais no processo descrito a cima, assim sendo, Barbosa et al. (2010) abordaram sua importância. De um modo geral, os antioxidantes podem ser classificados como enzimáticos, adquiridos de forma endógena, ou não enzimáticos, exógenos, adquiridos por meio da alimentação.

Os antioxidantes enzimáticos são compostos pelas enzimas presentes no metabolismo humano, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx), que irão impedir a retenção do radical H_2O_2 . Já o sistema não enzimático é proveniente de fontes exógenas, como as alimentares. Dentro dessas fontes, as vitaminas, os minerais e os compostos fenólicos são descritos por atuarem como antioxidantes. De modo geral, estes antioxidantes atuam de maneira primária e secundária, onde são responsáveis por emparelhar os elétrons doando um hidrogênio (H^+) ou retardando a etapa de formação das EROs, respectivamente (BIANCHI e ANTUNES, 1999).

Ainda, podem ser naturais (oriundos da dieta) ou sintéticos (provenientes da indústria). Os antioxidantes naturais atuam como uma fonte “segura” para a população, visto que os sintéticos podem causar efeitos danosos a saúde se consumidos em concentração e frequência inadequada. Karoui e Marzouk

(2013) realizaram uma pesquisa sobre os compostos bioativos encontrados no óleo essencial obtido da casca e polpa da *Citrus aurantium* e avaliaram a atividade antioxidante. Após a caracterização *in vitro*, os autores concluíram que o óleo essencial da fruta e o suco são ricos em um composto denominado limoneno. Ao realizar a análise da atividade antioxidante dos extratos da casca e polpa, afirmaram que as amostras obtiveram comprovação desse efeito, sugerindo que a fruta pode ser uma fonte natural de antioxidantes a ser utilizada pela indústria de alimentos.

Ainda, analisando o óleo essencial obtido por meio da flor de *Citrus aurantium*, Hsouna et al. (2013) observaram que a amostra foi capaz de reduzir o radical DPPH, promovendo a redução da sua coloração de roxo purpura para amarelo, caracterizando a presença de um antioxidante. O mesmo resultado foi encontrado pelo autor Sarrou et al. (2013), onde ao analisar a casca, flores e folhas novas e velhas de *Citrus aurantium* observaram que houve redução do radical DPPH em até 53,98%.

Como já descrito anteriormente, a vitamina C é um excelente antioxidante natural. Dessa forma, esse fato é justificado com os estudos apresentados no qual a laranja apresenta esta vitamina em sua conformação, sendo capaz de atuar no processo de inibição da formação de radicais livres ou ainda estabilizando estas moléculas.

2.5 Atividade antimicrobiana

Segundo a ANVISA (BRASIL, 2017) o uso indiscriminado de antibióticos é um problema notável de saúde pública. É de conhecimento da população que este grupo de medicamento é necessário para tratar diversas doenças bacterianas. Entretanto, tem-se observado que a utilização desses fármacos é comum nos animais para prevenir e não somente tratar patologias. Nesse sentido, tem-se observado que as cepas bacterianas estão cada vez mais resistentes aos medicamentos e, dessa forma, os tratamentos apresentam custo mais elevado, pois a indústria farmacêutica precisa optar por métodos que sejam capazes de reverter os danos causados pela ação destes micro-organismos.

De acordo com a literatura, o histórico das doenças bacterianas está dividido em três fases: a era pré-antimicrobiana, a era antimicrobiana e a era emergente à resistência antimicrobiana (BALSALOBRE et al., 2014). A busca

por novos medicamentos e novas terapias estão em constante inovação, dessa forma, cada vez mais pode-se observar a importância do conhecimento dos mecanismos de ação das bactérias patogênicas (BLOOM et al., 2017).

As bactérias do grupo Gram-negativas são naturalmente mais resistentes quando comparadas as do grupo Gram-positivas, pois o formato da parede celular destas apresentam menor suscetibilidade aos fármacos. A parede celular das bactérias é definida com uma estrutura rígida e complexa composta por peptidoglicanos que dão a característica desta estrutura (LOGUERCIO et al., 2005). A resistência frente as bactérias Gram-negativas é devido o formato da sua parede celular, onde apresenta uma menor quantidade de peptidoglicanos (comparada a Gram-positiva) e uma complexa estrutura relacionada a existência de uma membrana lipoproteica (GUIMARÃES et al., 2010).

Dentre as infecções hospitalares, a bactéria *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) é a mais recorrente por estar presente em diversos lugares do corpo humano, entretanto, destaca-se maioritariamente pela região da nasofaringe (RICE, 2006). Inserida na classificação *Staphylococcus*, tem como característica maior sensibilidade a altas temperaturas, assim como para assepsia, entretanto, a subespécie *aureus* é a mais virulenta (LIMA et al., 2015).

Já a *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) é encontrada principalmente na água, no solo e nos alimentos contaminados, sendo causadora de gastroenterites, podendo gerar diversos sintomas como febre, diarreia e dores de cabeça (BECATTINI et al., 2017). A contaminação de alimentos a partir dessa bactéria é altamente adaptável pelo micro-organismo, onde ele é capaz de se replicar em diferentes temperaturas (2,5°C – 44°C) e assim como em ambientes com baixa atividade de água (SILVA et al., 2011).

Diniz e Santos (2017) relatam em seu estudo que dentre as diversas infecções ocasionadas por bactérias, a *Escherichia coli* (*E. coli*) foi a mais prevalente (38,59%) em uroculturas de um hospital universitário da cidade de Manaus (Brasil). A *E. coli* é uma bactéria presente no intestino dos seres humanos e animais, e geralmente a contaminação ocorre pela má higiene dos alimentos, mãos e utensílios. Dentre os 6 diferentes tipos de infecção causada por esta bactéria, a *E. coli* enteropatogênica é a mais recorrente por ser acometida em crianças, adultos, assim como em animais (SOUZA et al., 2016).

O gênero *Salmonella* é majoritariamente encontrado em carnes de animais, assim como em seus derivados, leite, queijo, manteiga e etc (ZERO e RODRIGUES, 2017). Existem milhares de sorovar relacionados as bactérias, como exemplo tem-se a *Salmonella entérica* sorovar Typhimurium (*S. typhimurium*), onde é um micro-organismo capaz de se adaptar ao trato gastrointestinal e sua contaminação ocorre por meio dos alimentos contaminados (GART et al., 2016). Devido ao seu mecanismo de competição com a microbiota intestinal, esta bactéria causa diarreia e dificuldade na absorção de nutrientes (BROZ et al., 2012).

Diante dos dados já expostos, onde há uma prevalência da resistência dos micro-organismos patogênicos frente aos antimicrobianos, pesquisas são desenvolvidas para avaliar se os extratos de frutas são capazes de atuar como inibidores de crescimento bacteriano. Dessa maneira, Gerhardt et al. (2012) estudaram três tipos de frutas cítricas com a finalidade de conhecer sua atividade antimicrobiana. Para isso, foi realizada a concentração inibitória mínima (CIM) onde observaram que o extrato de limão-bergamota foi mais eficiente comparado aos demais. Os autores ao concluírem o estudo, ressaltaram que os resultados encontrados podem corroborar com outras espécies de *Citrus*.

Ammar et al. (2012) ao analisarem amostras de folhas de *Citrus aurantium*, relataram efeito antimicrobiano frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Este fato pode ser atribuído aos compostos bioativos presentes na amostra, dentre eles o limoneno. O mesmo efeito foi relatado por Hsouna et al. (2013), que ao estudar o efeito do extrato de folhas de *Citrus aurantium*, observou zonas de inibição tanto para bactérias Gram-positivas como Gram-negativas. Como destaque, a pesquisa demonstrou que os micro-organismos Gram-positivos estudados, apresentaram maior efeito antimicrobiano (zonas de inibição maiores), fato este podendo ser justificado pelo processo mais simplificado da parede bacteriana destes patógenos.

2.6 Encapsulação

O processo de encapsulação é umas das técnicas mais conhecidas e utilizadas na indústria de alimentos e farmacêutica. Dentre os objetivos desse método, um deles é proteger o núcleo (amostra) contra agentes ambientais,

(DEVI et al., 2017) além de manter as propriedades nutricionais (AZEREDO, 2005). Este fato só acontece, pois na formação da cápsula a amostra será recoberta por um material de parede, e este será responsável por protegê-la (RAY et al., 2016). A importância do material de parede, ou também chamado de agente encapsulante, é crucial para que ocorra a estabilidade da cápsula.

As cápsulas que irão ser formadas podem ser apresentadas por três tamanhos distintos: macro ($>5000\mu\text{m}$), micro ($0,2-5000\mu\text{m}$) e nano ($<0,2\mu\text{m}$) (AZEREDO, 2005). Diferentemente desses valores, alguns autores utilizam para microcápsulas o tamanho de $1-100\mu\text{m}$ (NAZZARO et al., 2012; FREIXO, 2013).

2.6.1 Microencapsulação

A microencapsulação vem sendo utilizada e desenvolvida em diversos produtos devido aos benefícios promovidos, pois ela é capaz de envolver compostos bioativos e auxiliar em processos antioxidantes e antimicrobianos (NAZZARO et al., 2012). Neste método ocorre o aprisionamento de pequenas partículas líquidas, sólidas ou gasosas que é promovido pela ação do material de parede (SOUZA et al., 2015).

A literatura descreve que a forma física da cápsula pode ser obtida como microcápsula ou microesfera. A microcápsula tem a característica de acoplar o núcleo no meio e recoberto pelo material de parede. Já nas microesferas ocorrem a distribuição do núcleo, ou seja, o material de parede fica incorporado na superfície (AZEREDO, 2005; SOUZA et al., 2015). Como já descrito brevemente, essa tecnologia conta com diversos benefícios para controlar condições como luz, calor, umidade, sabor, nutrientes, cor, textura, além de funções como controle da liberação da microcápsula e mascarar características organolépticas indesejáveis (NEDOVIC et al., 2011).

Inserido na abordagem de mascarar características como cor, odor e sabor, estudos relacionados com a formação de microcápsulas de alimentos têm recebido destaque. Os óleos essenciais são susceptíveis a alterações devido a fatores externos, como por exemplo seu elevado poder de oxidação. Em busca disso, os autores Aburto et al. (1998) analisaram nove microcápsulas produzidas com óleo de laranja onde utilizaram três diferentes materiais de parede. Os autores observaram que a microcápsula produzida com amido modificado, maltodextrina, água e óleo obteve melhor resultado, ou seja, a amostra ficou

mais protegida e por este motivo, os pesquisadores sugeriram como uma ótima forma de encapsulação.

Para obter uma melhor eficiência de encapsulação do óleo de laranja, Carmona (2011) relatou que a associação de 75% da proteína do soro do leite e 25% de maltodextrina foram responsáveis por este resultado. O autor atribuiu esse achado pela justificativa que as proteínas auxiliam no processo de estabilização e os carboidratos concentram os compostos voláteis presentes nos óleos.

Os extratos de frutas também estão sendo microencapsulados, como demonstrado no estudo de Rutz (2013), em que o extrato de pitanga roxa ao ser microencapsulado apresentou boa atividade antioxidante. Logo, a microencapsulação pode ser uma alternativa para que se obtenha melhor capacidade antioxidante de algumas frutas ou de seus extratos.

2.7 Materiais de parede

Também chamados de agentes encapsulantes, encapsulantes ou cobertura, os materiais de parede têm a função de proteger o núcleo (material encapsulado). A sua escolha é extremamente relevante, visto que este será o responsável pela melhor eficiência de encapsulação e estabilidade (AZEREDO, 2005). Os carboidratos, polissacarídeos marinhos, proteínas, gomas e lipídeos são os principais materiais utilizados, como exemplo (SOUZA et al., 2015, AZEREDO, 2005):

- Carboidrato: maltodextrina, amidos, ciclodextrina;
- Polissacarídeos de origem marinha: quitosana, alginatos;
- Proteínas: gelatina, albumina, soro do leite;
- Gomas: goma arábica, goma xantana;
- Lipídeos: óleos e gorduras.

2.7.1 Maltodextrina

Dentre os carboidratos mais utilizados para os métodos de microencapsulação, a maltodextrina é a mais utilizada. Esta é um polissacarídeo hidrolisado e sua nomenclatura é devido a presença de dextrose equivalente

(DE) variando entre 5-95. Além disso, apresenta em sua conformação unidades D-glicose unidas por cadeia α 1-4 (PEREIRA et al., 2018). Porém, quando trata-se de encapsulação, a literatura refere que quanto menor for a DE menos higroscopicidade, e o inverso é verdadeiro, onde DE maiores, absorvem mais água (SHAHIDI e HAN, 1993; AZEREDO, 2005; SOUZA et al., 2015).

Diversos produtos vêm sendo encapsulados utilizando maltodextrina, como por exemplo, o óleo de semente da amora-preta. Os autores Figueroa et al. (2016) demonstraram que os materiais de parede maltodextrina, goma arábica e masterdry (impermeabilizante) foram capaz de conservar ácidos graxos na microcápsula. E para sua estrutura, a maltodextrina foi responsável por proporcionar uma superfície mais lisa e esférica, comparado aos demais materiais encapsulantes.

Neste panorama, outro composto amplamente encapsulado é o licopeno. No estudo de Matioli e Rodriguez-Amaya (2002), o licopeno foi isolado de goiaba vermelha e microencapsulado utilizando goma arábica e maltodextrina. Dentre os resultados encontrados, o licopeno quando associado aos dois materiais de parede pelo método de liofilização obteve uma meia vida maior, mesmo quando exposto a luz. Possivelmente, estes resultados sejam devido a conexão desses dois materiais, os quais aumentaram a retenção dos compostos presentes na microcápsula.

2.8 Métodos de encapsulação

Há diversos métodos de encapsulação utilizados pela indústria, sendo ela farmacêutica, alimentícia, dentre outras. Esses processos são capazes de aprisionar a amostra dentro de cápsula com a ajuda do material de parede. A escolha do método é um fator de extrema relevância, pois este será responsável pela eficiência, pelo modo de aplicação do produto formado e também pelo tamanho da cápsula formada (BANSONDE et al., 2010). Os métodos mais utilizados para microencapsulação são: *spray drying*, coacervação e liofilização.

2.8.1 *Spray drying*

O método de *spray drying* é utilizado há diversos anos (DZIEZAK, 1988; RÉ, 1998). Dentre seus benefícios descritos pela literatura, o baixo custo e a praticidade no manejo do equipamento são os mais importantes (AZEREDO,

2005). O processo pode ser utilizado com diferentes materiais de parede e núcleo.

A técnica baseia-se em realizar uma homogeneização da solução a ser encapsulada com o material de parede e após acoplada no equipamento. Esta solução é bombeada por meio da bomba peristáltica entrando em contato com o atomizador, ocorrendo o contato da amostra líquida com o ar quente produzido. Após esta etapa, pela força do fluxo produzido pelas trocas de ar, ocorre o processo de desidratação da amostra no ciclone (TANAKA, 2007; SILVA et al., 2014).

Entre os diversos núcleos encapsulados, os cítricos e os óleos essenciais tem recebido ênfase na literatura. Müller (2011) ao realizar o método *spray drying* utilizando óleo essencial de laranja, juntamente com maltodextrina e amido modificado, o autor observou melhores resultados relacionados a morfologia dessa microcápsula do que quando comparada com a formulação utilizando o material de parede alginato de sódio. Ademais, foi salientado que a eficiência de encapsulação permaneceu elevada após 10 meses do processo de microencapsulação, demonstrando ter sido uma boa associação de material de parede para esta amostra.

Em busca de um maior aproveitamento do produto devido ser altamente perecível, Pagani et al. (2011) analisaram o suco de acerola. A amostra foi microencapsulada pelo método *spray drying*, sendo recoberta pelos materiais de parede amido modificado, maltodextrina e concentrado proteico. Dentre os objetivos estudados pelos autores, observaram que ao final de 60 dias de microencapsulação, para vitamina C e a atividade antioxidante não houve diferença significativa. Os pesquisadores ainda destacaram que as microcápsulas que continham o concentrado proteico juntamente com maltodextrina detiveram maior concentração de antocianinas e de carotenoides.

No mesmo sentido, os pesquisadores Spinelli et al. (2017) com o objetivo de reduzir desperdício dos co-produtos de laranja (casca, bagaço e sementes) obtiveram microcápsulas pelo método *spray drying* com o extrato etanólico da fruta. Um dos benefícios desse processo é reter os compostos bioativos. Os pesquisadores avaliaram esse quesito e observaram que as microcápsulas contendo extrato de laranja quando adicionadas em hambúrguer de peixe,

promoveu boa aceitação e ainda apresentou elevada concentração de compostos bioativos no produto.

3 Material e métodos

3.1 Caracterização da amostra

As amostras maduras da fruta *Citrus aurantium* foram obtidas da região Sul do Brasil, no estado do Rio Grande do Sul. A seleção para aquisição das frutas (casca, polpa e albedo) foram os aspectos de aparência, diâmetro e maturação, selecionados visualmente. As amostras foram coletadas em sacos plásticos e conduzidas até o Laboratório de Ensaio de Alimentos da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), e armazenadas em partes separadas em ultrafreezer a -80°C até realização das análises.

3.2 Composição centesimal

As determinações de umidade, cinzas e fibras foram realizadas de acordo com a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). A umidade foi determinada pelo método de secagem direta das amostras até peso constante em estufa a 105°C. As cinzas foram determinadas após completa carbonização em bico de bunsen e calcinadas em mufla a 550°C até a obtenção de um resíduo com coloração branca acinzentada. Para a determinação da fibra bruta foi utilizada uma amostra livre de umidade, que após a extração por éter de petróleo foi digerida primeiro com ácido sulfúrico 1,25% e, posteriormente, hidróxido de sódio a 1,25%. O resíduo orgânico foi coletado em um cadinho de Gooch, sendo a perda de peso após ignição denominada fibra bruta.

As determinações de proteína e de lipídeos totais foram realizadas segundo Association of Official Analytical Chemists – AOAC (1997). Para a determinação de proteína, o nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldahl, no qual determina-se o nitrogênio contido na matéria orgânica, incluindo o nitrogênio proteico e outros compostos nitrogenados não proteicos. A determinação de lipídeos totais foi determinada pelo método de extração Soxhlet utilizando éter de petróleo. A determinação de carboidrato foi obtida pelo cálculo da diferença entre 100 e a soma das porcentagens de umidade, cinzas, fibra bruta, proteína e lipídeos totais. O experimento foi realizado em triplicata em dois ensaios independentes.

3.3 Preparação dos extratos

As preparações foram utilizadas para as análises antioxidantes e antimicrobianas. As amostras utilizadas foram: casca, polpa e albedo, sendo as concentrações analisadas: 10%, 20% e 30%, na qual foram pesados 10g, 20g e 30g de cada amostra e após adicionado o diluente [(água destilada a temperatura ambiente ou álcool etílico (99,8%)] a fim de se obter o volume de 100mL. Na amostra da casca e albedo, a fruta foi descascada cuidadosamente com auxílio de uma faca de lâmina afiada e para as amostras de albedo e polpa, ocorreu a maceração com auxílio de gral com pistilo.

3.4 Avaliação da atividade antioxidante *in vitro*

3.4.1 Sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

O método DPPH utilizado foi descrito por Brand-Williams et al. (1995) e é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 515 nm. O DPPH foi utilizado na concentração de 60µM, dissolvido em álcool metílico. Em ambiente escuro, foi transferida uma alíquota de 100µL de amostra para tubos de ensaio contendo 3,9mL do radical DPPH (60µM) e, em seguida, homogeneizados. Foi utilizado 100µL de uma solução controle (álcool metílico 50% (40mL), acetona 70% (40mL) e água (20mL)) com 3,9mL do radical DPPH (60µM). Após o preparo, as amostras foram armazenadas em ambiente escuro. Foram realizadas leituras no tempo 0 horas (tempo inicial) e 24 horas (tempo final). Os resultados foram expressos em % de inibição do DPPH, sendo calculado pela equação 1:

$$\% \text{ Inibição do DPPH: } A_{(\text{controle})} - A_{(\text{amostra})} \div A_{(\text{controle})} \times 100$$

Onde:

$A_{(\text{controle})}$: absorbância do controle com DPPH, sem amostra;

$A_{(\text{amostra})}$: absorbância da amostra com DPPH.

3.4.2 Reação ao Ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A metodologia utilizada para a reação ao ácido tiobarbitúrico foi a descrita por Ohkawa et al. (1979) com algumas modificações (PIENIZ et al., 2014). Foram utilizados dois tipos de gordura, sendo a saturada (banha suína de marca comercial) e monoinsaturada (azeite de oliva extra virgem de marca comercial). Inicialmente, foram incubados em banho maria a 80°C sem agitação, tubos de ensaio contendo água Mili Q, gordura (saturada ou monoinsaturada) e sulfato ferroso por 10 minutos, com o objetivo de promover a oxidação. Após decorrido o tempo, foram adicionados a estes tubos às amostras, Lauril Sulfato de Sódio (8,1%), Tampão Ácido Acético (pH 3,44) e Ácido Tiobarbitúrico (0,6%). Os resultados foram medidos na absorbância de 532nm em aparelho espectrofotômetro e expressos em nmol de Malonaldeído (MDA)/g⁻¹. O experimento foi realizado em duplicata em dois ensaios independentes.

3.5 Compostos fenólicos totais

A quantificação dos compostos fenólicos totais das amostras (casca, polpa, albedo e microcápsula), foi determinada pelo método de Swain e Hillis (1959) com modificações. Foram homogeneizadas 0,5g de cada amostra com 20mL de metanol. As amostras foram centrifugadas a 10000 rpm/15 minutos e após foram coletados 250µL do sobrenadante e adicionados à amostra 4mL de água destilada e 250µL do reagente Folin-Ciocalteau (1:1). Os tubos foram agitados e após 5 minutos foi adicionado 0,5µL de carbonato de sódio (7%). As amostras foram mantidas em ambiente escuro por 2 horas, e após decorrido o tempo a absorbância foi medida a 725nm. A quantidade de fenóis nas amostras de *Citrus aurantium* foi quantificada por meio de uma curva padrão preparada com ácido gálico entre as concentrações de 10 a 100µg mL⁻¹. A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada em triplicata e os resultados expressos em µg de ácido gálico por g de amostra (µg/g⁻¹).

3.6 Conteúdo total de carotenoides

A determinação do conteúdo total de carotenoides foi realizada segundo o método descrito por Rodriguez-Amaya (2001), com adaptações. Pesou-se 5g de amostra (casca, polpa, albedo e microcápsula) e 2g de celite, adicionou-se 20mL de acetona gelada, agitando-se o conteúdo por 10 minutos. O material foi

filtrado em funil de Büchner com papel filtro, lavando a amostra com acetona até que o extrato ficasse incolor. O filtrado foi transferido para um funil de separação, onde acrescentou-se 30mL de hexano e 30mL de água destilada. Descartou-se a fase inferior, adicionou-se novamente água destilada e repetiu-se o procedimento por 4 vezes para ocorrer a remoção total da acetona. Transferiu-se o extrato superior para um balão volumétrico de 50mL, completando-se o volume com hexano. Realizou-se a leitura em espectrofotômetro (JENWAY 6705 UV/Vis.) a 449nm, usando hexano como branco, sendo o conteúdo total de carotenoides determinado pela equação 2 e os resultados expressos em μg de β -criptoxantina/ g^{-1} de amostra.

$$C = \frac{ABS \times 50mL \times 1000000}{3450 \times 100 \times g}$$

Onde:

C = conteúdo de carotenoides na amostra

ABS = absorvância

g = gramas de amostra

3.7 Avaliação da atividade antimicrobiana

3.7.1 Método de difusão em disco

Os micro-organismos indicadores utilizados para avaliar a atividade antimicrobiana foram *E. coli* (ATCC 8739); *S. typhimurium* (ATCC 14028); *L. monocytogenes* (ATCC 19114) e *S. aureus* (ATCC 25923). Os micro-organismos indicadores foram suspensos em solução salina a 0,85% padronizado em densidade óptica (DO) 600nm a 0,150 em espectrofotometro, o que corresponde a uma solução padrão de turbidez McFarland 0,5. Uma alíquota de 20 μL dos extratos foi aplicada sobre discos de celulose esterilizados (5mm) em placas contendo ágar Mueller-Hinton previamente inoculados com uma alçada de cada bactéria indicadora. As placas foram incubadas a 37°C e as zonas de inibição foram medidas após 24 horas. Os diâmetros das zonas de inibição foram medidos utilizando um paquímetro e os halos $\geq 0,7\text{cm}$ foram considerados inibitórios (BROMBERG et al., 2006). Para as amostras de controle dos extratos, foram utilizados os solventes os quais foram preparadas as amostras (álcool

etílico e água destilada). O experimento foi realizado em duplicata em dois ensaios independentes.

3.7.2 Avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM foi realizada de acordo com o teste de microdiluição em placas de 96 poços (*Clinical and Laboratory Standards Institute*, 2015) com modificações. Cada poço continha um volume de 100µL de caldo Brain Heart Infusion (BHI), 80µL de caldo BHI com Tween 80, 20µL da bactéria indicadora (padronizada na escala McFarland 0,5) além da diluição correspondente. Foram realizadas quatro diluições previamente padronizadas para a CIM: 100µL, 20µL, 10µL e 1µL. Após isso, as absorbâncias foram medidas em leitora de microplacas (Biochrom EZ Read 400) a 620nm. Posteriormente, foram incubadas a 37°C por 24h. Transcorrido o tempo foi realizada nova leitura no mesmo equipamento para análise de Concentração Bactericida Mínima (CMB). Os resultados foram expressos em mg/mL.

3.7.3 Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Após leitura da CIM, os poços que demonstraram inibição foram utilizados para CBM. Em placas contendo Brain Heart Infusion Agar (BHA) foram adicionados 15µL do poço contendo a inibição e este volume foi estriado na placa e incubado a 37°C por 24h. Para ser caracterizado como CBM, as placas deveriam ser isentas crescimento bacteriano. Os resultados foram expressos em mg/mL.

3.8 Microencapsulação pelo método *spray drying*

Para a microencapsulação do extrato da casca, foi utilizada a concentração 30% com o solvente álcool etílico. Para obtenção do extrato, o solvente foi rotaevaporado e resuspenso em água destilada. O volume de extrato utilizado para a microencapsulação foi 870mL acrescidos de 20% de maltodextrina (material de parede) com densidade equivalente (DE) 20, homogeneizados em agitador mecânico por 30 minutos.

A solução foi acoplada em um béquer de 1000mL no equipamento *spray drying* (MSD, 1.0, LabMaq). A vazão da bomba peristáltica foi 0,40 litros/hora, fluxo de ar 40. A temperatura de entrada e saída foi 130°C e 100°C, respectivamente. Após aproximadamente 1 hora e 30 minutos o volume total foi microencapsulado, tendo rendimento de 47,25g.

3.9 Caracterização da cor e atividade da água da microcápsula

Para a análise de cor da microcápsula foi avaliado com relação aos parâmetros: L* indica luminosidade, variando do branco (L=100) ao preto (L=0), a* indica tonalidade da cor que varia de verde (-a*) ao vermelho (+a*) e b* indica intensidade de amarelo (+b*) ao azul (-b*) utilizando o aparelho colorímetro CR 300, Minolta Chromamater em triplicata.

A atividade de água da microcápsula foi medida em equipamento AquaLab 4TE em triplicata.

3.10 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação (EE) dos carotenoides foi realizada segundo o método descrito por Sutter et al. (2007). Para realizar a quantificação dos carotenoides presentes na superfície das micropartículas, adicionou-se em um tubo de ensaio 0,1g de amostra e 5mL de hexano, agitou-se em um agitador vortex por 10 segundos, centrifugou-se a 7000rpm por 10 minutos, recolhendo o sobrenadante.

Para a quantificação do total de carotenoides presentes dentro e fora das micropartículas, realizou-se a dispersão das micropartículas precipitadas em 5mL de hexano. Foi agitado em vortex para a remoção do total de carotenoides e filtrou-se com algodão para um balão de 10mL, sendo lavado o resíduo com hexano. Ambas as frações recolhidas foram avaliadas espectrofotometricamente em 449 nm quanto ao teor total de carotenoides.

O resultado foi expresso em percentual de carotenoides encapsulados, sendo o cálculo realizado através da equação 3. O total de carotenoides e os carotenoides da superfície foram calculados com base na β -criptoxantina, sendo os resultados expressos em μg de β -criptoxantina/ g^{-1} de amostra.

$$\% EE: \frac{\textit{Total de carotenoides} - \textit{carotenoides da superfície}}{\textit{Total de carotenoides}} \times 100$$

3.11 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para a análise morfológica da microcápsula, a amostra foi fixada em um suporte metálico com auxílio de uma fita dupla-face de carbono, recoberta com uma fina camada de ouro em revestimento por aspersão (Leica, modelo EM SCD 500, Wetzlar, Alemanha). Para a visualização, foi utilizado microscópio eletrônico de varredura (JEOL, modelo JSM-6610LV, Tóquio, Japão), nos aumentos 430, 600 e 2500 vezes a 15Kv.

3.12 Análise estatística

Para a análise estatística foi utilizado o software GraphPad Prism 6.0. Para a composição centesimal, carotenoides totais e compostos fenólicos totais foi realizado o teste One-Way ANOVA e para as análises antioxidantes (DPPH e TBARS) foi utilizado o Two-Way ANOVA. Após, foi realizado o teste de Tukey; Na análise antioxidante pelo método DPPH foi realizada a interação entre as amostras e as concentrações. Na análise antioxidante pelo método TBARS foi realizada interação entre concentrações e extratos (aquoso e etanólico). Foram considerados significativos estatisticamente, aqueles valores cujo $p < 0,05$.

4 Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta os dados relacionados a composição centesimal da casca, polpa e albedo. Como resultado, pode-se observar que em relação a umidade, carboidrato e valor energético total (VET) houve diferença significativa entre a polpa comparada as demais amostras analisadas.

Tabela 1. Caracterização físico-química da casca, polpa e albedo da laranja-azedada (*Citrus aurantium*).

	Casca	Polpa	Albedo
Umidade (%)	75,38±2,44 ^a	91,08±0,27 ^b	75,16±1,08 ^a
Cinza (%)	2,93±0,05 ^a	3,04±0,04 ^a	3,18±0,34 ^a
Fibra bruta (%)	1,47±0,02 ^a	1,4±0,02 ^a	1,43±0,11 ^a
Proteína (%)	1,66±0,92 ^a	0,53±0,45 ^a	0,75±0,35 ^a
Carboidrato (%)	18,25±0,00 ^a	3,84±0,00 ^b	19,3±0,00 ^a
Lipídio (%)	0,31±0,06 ^a	0,08±0,04 ^a	0,18±0,2 ^a
	Kcal		
Valor energético total	82,43 ^a	18,32 ^b	81,82 ^a

*Letras iguais na mesma linha demonstram que não houve diferença significativa ($p>0,05$). Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão.

Os pesquisadores Storck et al. (2013) estudaram os co-produtos de diferentes alimentos. Ao realizarem a composição centesimal da casca de *Citrus aurantium* encontraram dados semelhantes ao do presente estudo, como o VET (83,1Kcal), carboidrato (17,96%), proteína (1,81%), umidade (74,8%). Dados similares também foram encontrados por Garau et al. (2007) em relação a umidade da casca de *Citrus aurantium* (78,6%), entretanto valores inferiores foram relatados para a polpa sob este mesmo parâmetro (84,8%).

Ao estudar a polpa de laranja, os autores Larrea et al. (2005) relataram 90% de umidade presente e 2,66% de cinza, corroborando com os resultados do presente estudo. Com o objetivo de reduzir o desperdício, Santos et al. (2010) desenvolveram uma farinha de albedo da laranja-pêra (*Citrus sinensis*). Ao realizar a caracterização centesimal, observaram valores distintos aos encontrados neste estudo, como teor de umidade (7,18%), carboidrato (46%) e fibra bruta (39,15%). Porém o teor de lipídeos (0%) e cinzas (3,88%) foi semelhante aos encontrados no presente estudo.

A amostra da polpa no presente estudo foi responsável por apresentar diferença significativa das demais analisadas. A Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2006) relata dados do suco da laranja-azedada. Em relação a proteína, lipídeo e fibra, foram encontrados resultados

semelhantes ao do presente estudo, sendo os valores de 0,7%, 0,1% e 1%, respectivamente, presente na polpa da fruta. A quantidade em kcal encontrada na polpa foi inferior a relatada na TACO, visto que a quantidade de carboidratos na tabela é superior, justificando seu maior aporte calórico.

Os co-produtos obtidos de frutas vêm sendo caracterizados com o intuito de serem aproveitados para outros fins. Nesse sentido, Mendonça et al. (2006) realizaram a composição centesimal do limão tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka). Os pesquisadores estudaram a casca, polpa e albedo do limão e encontraram valores semelhantes ao do presente estudo. Para umidade encontraram 71,3% na casca, 69,43% no albedo e 81,3% na polpa e, para cinzas, o valor foi 2,45% no albedo. Como conclusão frente aos resultados encontrados, os autores sugerem que os co-produtos poderiam contribuir para a formulação de rações para animais, devido aos valores nutricionais encontrados.

A importância da composição centesimal é crucial para o aperfeiçoamento de processos industriais, como também no melhoramento, na colheita e pós colheita dos alimentos, etapas estas onde pode-se observar diferenças no valor nutricional (SILVA et al., 2007). A umidade indica a quantidade de água presente na amostra, e este fator pode interferir em processos, como no crescimento microbiano (LAND et al., 2017). A composição de cinzas de cada alimento indica se há presença de minerais. Desse modo, Gomes et al. (2015) relataram que a variação de minerais varia devido a vários fatores, como a qualidade do solo, o clima e o tempo do local onde a matéria-prima é cultivada.

A Figura 7 apresenta os dados da capacidade antioxidante pelo método DPPH para o extrato aquoso nos tempos inicial e final. Em relação ao tempo inicial (0 horas), a interação ($p=0,2636$) assim como a concentração ($p=0,1125$) não foram significativas. Entretanto, destaca-se que houve diferença significativa ao comparar a casca com a polpa, e a casca com o albedo. Para o tempo final (24 horas) do mesmo extrato, não foi demonstrado significância em nenhum parâmetro analisado (interação $p=0,9539$; concentração $p=0,0687$ e amostra $p=0,0777$).

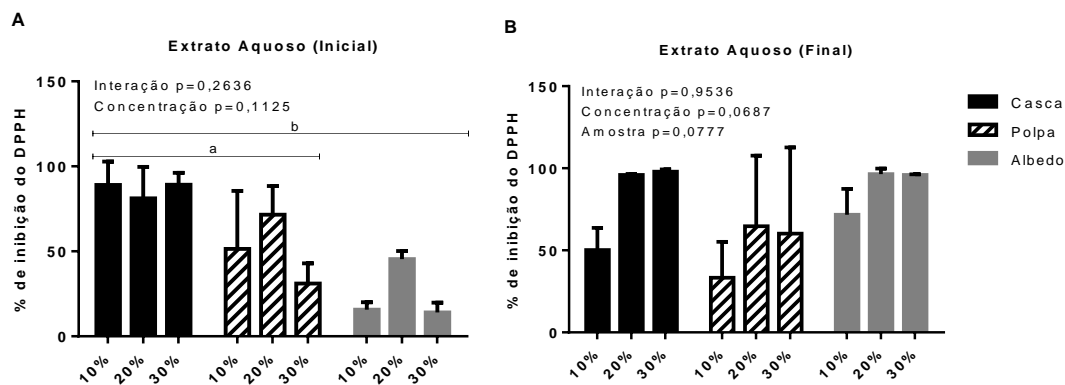


Figura 7. Percentual de inibição do DPPH para o extrato aquoso nos tempos inicial – 0 horas (A) e final – 24 horas (B). *Os resultados foram expressos em % de inibição do DPPH. Letras diferentes indicam diferença significativa entre as amostras ($p<0,05$).

A Figura 8 apresenta os dados do DPPH para o extrato etanólico nos tempos inicial e final. Em relação ao tempo inicial (0 horas), foi observada interação significativa para as seguintes comparações: 10% casca com 30% casca; 10% casca com 30% polpa; 10% albedo com 30% casca; 10% albedo com 30% polpa; 20% casca com 30% casca; 20% polpa com 30% casca; 20% polpa com 30% polpa; 20% albedo com 30% casca; 20% albedo com 30% polpa e 30% casca com 30% albedo. Para o tempo final (24 horas) do mesmo extrato, houve interação significativa entre: 10% casca com 30% casca; 10% casca com 30% albedo; 10% polpa com 30% albedo; 20% casca com 20% polpa; 20% polpa com 20% albedo; 20% polpa com 30% casca; 20% polpa com 30% polpa e 20% polpa com 30% albedo.

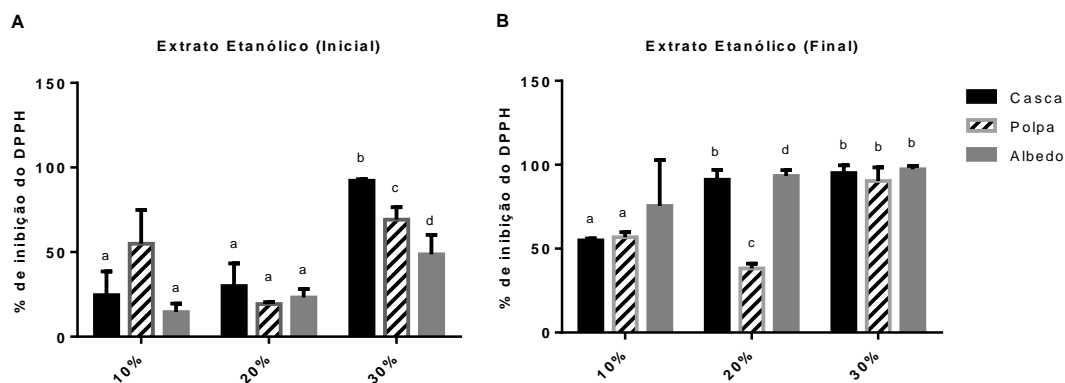


Figura 8. Percentual de inibição do DPPH para o extrato etanólico nos tempos inicial – 0 horas (A) e final – 24 horas (B). *Os resultados foram expressos em % de inibição do DPPH. Letras diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações e amostras ($p<0,05$).

O método DPPH tem como principal característica promover a captura deste radical, onde na presença de antioxidante ocorre o equilíbrio da molécula orgânica (RUFINO et al., 2007). Por ser um método de fácil execução, no presente estudo foram analisados frente ao tempo 0 horas (inicial) e tempo 24 horas (final), com a finalidade de observar qual o comportamento antioxidante da laranja-azeda. Pode ser observado nas figuras 7 e 8 que, conforme o tempo de exposição (inicial – final), maior foi a atividade antioxidante de todas as amostras, demonstrando que a fruta estudada apresentou alta capacidade antioxidante, mesmo após 24 horas de reação.

Sartori et al. (2014) estudaram os extratos aquosos de polpa congelada de diferentes frutas. O resultado pelo método de DPPH demonstrou que o extrato de laranja (*Citrus sinensis*) foi responsável pela maior captura deste radical. Além disso, os autores demonstraram que a polpa congelada de laranja também apresentou maior teor de compostos fenólicos totais, podendo ser uma justificativa para o achado.

Couto e Canniatti-Brazaca (2010) estudaram os extratos etanólicos obtidos do suco da polpa de distintas variedades de laranja e tangerina. Os autores encontraram valores semelhantes ao do presente estudo (Figura 8, independentemente do tempo) para todas as variedades de laranja estudadas (41,84% - 66,24% de inibição). Ainda, não encontraram correlação significativa entre o teor de vitamina C e a atividade antioxidante, entretanto, os autores destacam que outros compostos possam ter auxiliando nesse efeito, além desta vitamina.

A análise antioxidante também foi estudada por Barreca et al. (2011). Os autores utilizaram o extrato da polpa de *Citrus aurantium* diluído em dimetilformamida. Para o método DPPH, observaram 48% de inibição deste radical e, e este fato pode estar associado ao conteúdo de flavonoides encontrados, como neoeritrocina e naringina, os quais podem ter contribuído para este resultado. Para o presente estudo, a amostra aquosa da polpa (Figura 7A) demonstrou inibição similar, sendo 51% (concentração 10%).

Moulehi et al. (2012) estudaram as sementes da *Citrus aurantium* (laranja-azeda) e *Citrus reticulata* Blanco (tangerina). Os autores comparam o estágio de maturação das frutas e, pela análise antioxidante utilizando o método DPPH

observaram que a maturação comercial demonstrou resultados mais efetivos e, ainda, que a laranja-azeda apresentou maior capacidade antioxidante quando comparada a tangerina. Os autores correlacionaram o efeito com a quantidade de polifenóis e flavonoides presente na laranja-azeda.

Os autores Karimi et al. (2012) utilizaram os extratos metanólico, etanólico e aquoso da flor de *Citrus aurantium* para determinar a atividade antioxidante. Em relação ao DPPH, os autores encontraram que 300µg/mL foram capazes de inibir 52,41% deste radical. Esse resultado de inibição foi semelhante a polpa 10% no presente estudo (Figura 8A). Como justificativa os autores atribuíram que os flavonoides e fenólicos encontrados na flor auxiliaram nesta atividade.

Além dos extratos, os óleos essenciais também vêm sendo comumente estudados para atividade antioxidante. Como exemplo, Sarrou et al. (2013) obtiveram o óleo essencial da casca de *Citrus aurantium* pelo método de hidrodestilação e verificaram 19,29% de inibição do radical DPPH. Comparando ao extrato aquoso (Figura 7) do presente estudo, a casca obteve maior capacidade antioxidante, em ambos os tempo de reação (89% - tempo inicial, 98% - tempo final).

Os pesquisadores Karoui e Marzouk (2013) também analisaram o extrato metanólico da casca e polpa de *Citrus aurantium*. Para a capacidade antioxidante da casca verificaram que 190µg/mL foram capazes de reduzir em 50% o radical DPPH e que 97% deste foi inibido pela polpa. Os autores ainda relatam que houve correlação positiva entre a atividade antioxidante e os flavonoides presentes nas amostras estudadas.

No presente estudo, a amostra da casca no extrato aquoso foi responsável por apresentar o maior percentual de inibição neste extrato. Achados semelhantes foram encontrados por Cazarin et al. (2014), onde observaram que o extrato aquoso também foi responsável pela melhor inibição ao estudar a casca de maracujá (*Passiflora edulis*).

A Figura 9 apresenta os dados da análise de TBARS utilizando gordura saturada para as amostras de casca, polpa e albedo. Na figura A (casca) não foi observada interação significativa ($p=0,4220$), assim como diferença significativa entre os solventes ($p=0,9331$). Entretanto, destaca-se que houve diferença entre as concentrações: 10% com 20%, 10% com 30% e 20% com 30%. Na figura B (polpa) houve interação entre ambos os solventes e as concentrações, sendo:

10% aquoso com 10% etanólico; 10% aquoso com 30% aquoso; 10% aquoso com 30% etanólico; 10% etanólico com 20% aquoso; 10% etanólico com 20% etanólico; 10% etanólico com 30% aquoso e 10% etanólico com 30% etanólico. Na figura C (albedo) não houve interação ($p=0,0770$), porém houve diferença significativa ao comparar a concentração 10% com 30%, e também houve diferença significativa ao comparar as concentrações 10% com 20% e 10% com 30% neste extrato aquoso.

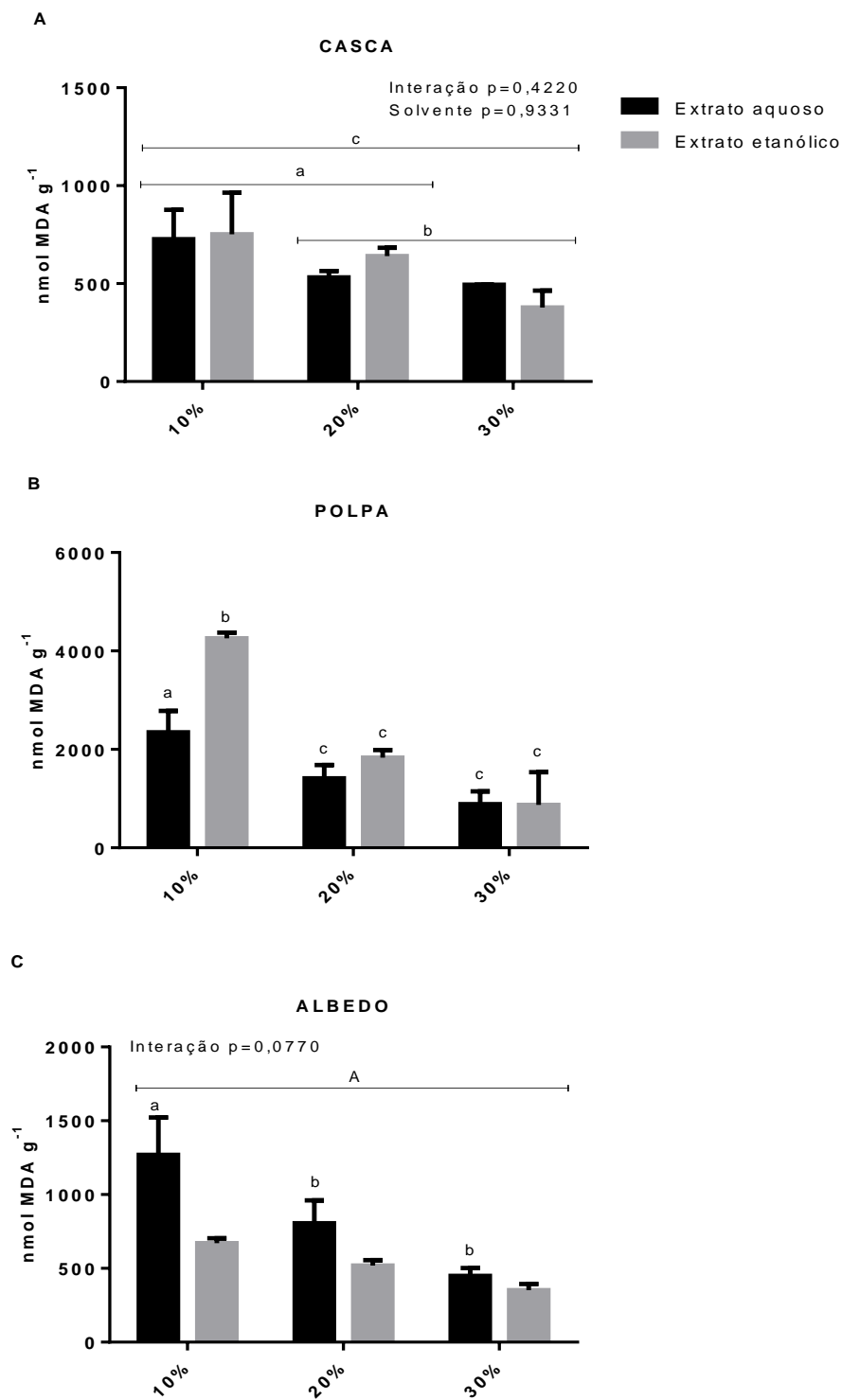


Figura 9. Inibição da peroxidação lipídica dos extratos de Casca (A), Polpa (B) e Albedo (C) utilizando gordura saturada. *Os resultados foram expressos em nmol MDA g^{-1} . Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre concentrações e extratos ($p<0,05$). Letras maiúsculas indicam diferença significativa somente entre as concentrações ($p<0,05$).

Os radicais livres, adquiridos das EROS atuam no processo de início da peroxidação lipídica, principalmente se estiver relacionado aos ácidos graxos poli-insaturados, pois estes estão presentes na membrana das células e nas lipoproteínas (LIMA e ABDALLA, 2001). Devido a esse processo, diversas alterações podem ocorrer nesta membrana, ocasionando transformações que podem acarretar em alterações no DNA e até morte celular (BARBER e HARRIS, 1994).

Taxas médias e altas de peroxidação lipídica são caracterizadas por induzirem danos que o organismo tem dificuldade de reparar, e estes danos são os responsáveis por desencadear, por exemplo, doenças do envelhecimento e câncer (AYALA et al., 2014). Nesse sentido, Pieniz et al. (2009) estudaram o efeito de frutas, dentre eles a polpa de laranja (*Citrus sinensis* Osbeck) sobre a peroxidação lipídica em um modelo biológico, onde observaram que esta fruta apresentou capacidade antioxidante frente ao método TBARS utilizando o fígado dos animais.

Na Figura 9A e 9B foi observado que não houve diferença em relação ao solvente, ou seja, o extrato aquoso foi considerado uma opção viável para a população se beneficiar dos efeitos benéficos produzidos pela casca e polpa da laranja-azedada. A gordura saturada não apresenta insaturação em sua estrutura, e isso faz com que o seu alto grau de saturação promova menos fluidez e, conseqüentemente, menor probabilidade de oxidação (COZZOLINO e COMINETTI, 2013).

No presente estudo, a amostra da casca foi responsável pela melhor inibição da peroxidação lipídica, visto que houve menor formação de MDA comparada as demais amostras em todas as concentrações e extratos analisados. Os compostos bioativos, dentre eles, os compostos fenólicos contribuem para este efeito (BIANCHI e ANTUNES, 1999), os quais, no presente estudo, na amostra da casca obteve $0,870 \mu\text{g g}^{-1}$ (Figura 5)

A Figura 10 apresenta os dados da análise de TBARS utilizando gordura monoinsaturada para as amostras de casca, polpa e albedo. Na figura A (casca) houve interação significativa entre os solventes e as concentrações: 10% aquoso com 10% etanólico; 10% aquoso e 20% etanólico; 10% etanólico e 20% aquoso; 10% etanólico e 30% aquoso; 10% etanólico e 30% etanólico; 20% aquoso e

20% etanólico; 20% etanólico e 30% aquoso, e 20% etanólico com 30% etanólico. Na figura B (polpa) houve interação significativa entre os solventes e concentrações: 10% aquoso e 10% etanólico; 10% aquoso e 30% aquoso; 10% etanólico e 20% aquoso; 10% etanólico e 20% etanólico; 10% etanólico e 30% aquoso; 10% etanólico e 30% etanólico, e 20% etanólico e 30% aquoso. Na figura C (albedo) não houve interação significativa ($p=0,6275$), porém houve diferença significativa entre as concentrações: 10% com 20% e 10% com 30%, e também houve diferença entre as concentrações 10% com 20% e 10% e 30% no extrato aquoso, sendo o mesmo resultado encontrado quando utilizado o extrato etanólico.

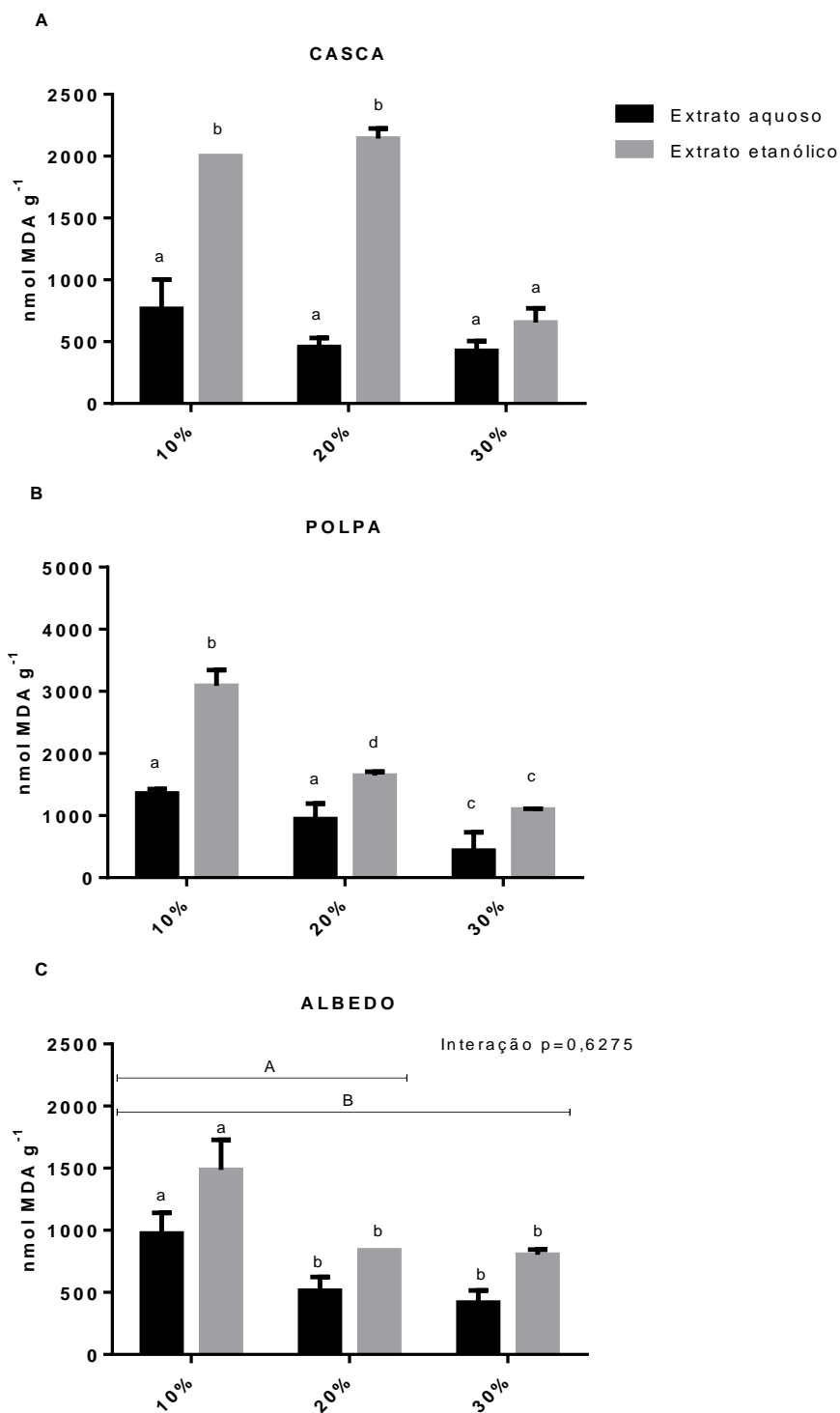


Figura 10. Inibição da peroxidação lipídica dos extratos de Casca (A), Polpa (B) e Albedo (C) utilizando gordura monoinsaturada. *Os resultados foram expressos em nmol MDA g⁻¹. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre concentrações e extratos ($p < 0,05$). Letras maiúsculas indicam diferença significativa somente entre concentrações ($p < 0,05$).

Segundo Sucupira et al. (2012), o método TBARS consiste em promover a oxidação por meio da incubação do íon metálico ferro (Fe^{2+}) juntamente com gordura monoinsaturada, com o objetivo de avaliar a capacidade da amostra em reduzir a peroxidação lipídica. Os autores descrevem que a oxidação promovida pelos ácidos graxos insaturados acarreta na formação do malonaldeído, um dos principais produtos da decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poli-insaturados (OSAWA et al., 2005).

O tipo de ácido graxo e o número de cadeias influenciam diretamente no grau de saturação. Tal fato foi relatado no estudo de Pinho e Suarez (2013), ao estudar o processo de hidrogenação. Os autores relataram que cadeias com alto grau de insaturação, que é o caso dos óleos vegetais, ocorre o aumento da fluidez, acarretando na menor estabilidade oxidativa.

Dentre os flavonoides presentes em maior proporção em frutas cítricas, destaca-se a naringenina e hesperina (GHORBANI et al., 2012). Por esse motivo, Miler et al. (2016) estudaram esses compostos a fim de verificar a peroxidação lipídica em fígado de ratos idosos. Ao fim do estudo foi observado pelos pesquisadores que os níveis de TBARS nos ratos administrados com estes compostos tinha reduzido, pois agiram melhorando a composição de fosfolípidios na membrana celular.

No presente estudo, utilizando a gordura monoinsaturada foi observado que a concentração de 30% foi responsável por produzir um decréscimo na formação de MDA, auxiliando na prevenção da peroxidação lipídica. Ainda pode-se destacar que o extrato aquoso da casca, assim como demonstrado na Figura 9, pode ser uma possível fonte de compostos antioxidantes.

A tabela 2 apresenta a quantificação de atividade antioxidante para o método TBARS e para o método DPPH considerando todos os extratos em seus diferentes tratamentos.

Tabela 2. Quantificação da média da atividade antioxidante pelo método TBARS (gordura saturada e monoinsaturada) e método DPPH (tempo inicial e tempo final).

Extrato	TBARS gordura saturada nmol/MDA g ⁻¹	TBARS gordura monoinsaturada nmol/MDA g ⁻¹	DPPH inicial (% de inibição)	DPPH final (% de inibição)
C10%H	727,44	765,21	89,08	50,12
C20%H	531,26	458,15	81,2	95,98
C30%H	493,89	426,88	89,17	97,91
C10%E	751,81	2000,78	24,55	54,93
C20%E	640,32	2143,34	29,93	91,07
C30%E	377,73	654,33	92,24	95,00
P10%H	2349,27	1354,97	51,39	33,32
P20%H	1412,24	941,90	71,51	64,71
P30%H	885,84	434,59	31,04	60,18
P10%E	4259,88	3087,68	54,96	56,86
P20%E	1833,84	1644,37	19,27	38,19
P30%E	871,22	1098,27	69,17	90,27
A10%H	1268,46	973,58	15,63	71,70
A20%H	806,64	514,20	45,41	96,45
A30%H	449,22	418,35	14,08	95,94
A10%E	670,17	1486,57	14,52	75,38
A20%E	519,69	839,54	23,13	93,29
A30%E	352,14	802,18	48,67	97,34

*As iniciais das amostras indicam: C para Casca; P para polpa; A para albedo; H extrato aquoso e E o extrato etanólico.

Para a análise de quantificação dos compostos fenólicos totais (Figura 11), o albedo demonstrou maior concentração destes compostos, apresentando diferença significativa entre a polpa e a microcápsula.

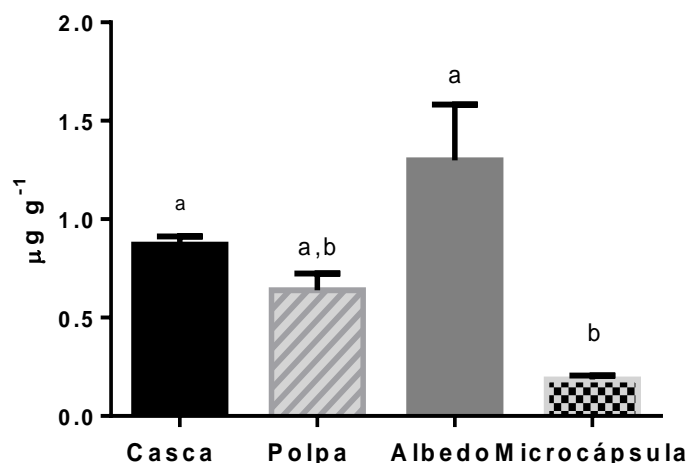


Figura 11. Concentração de compostos fenólicos totais da casca, polpa, albedo e microcápsula analisados pelo método de Folin-Ciocalteu. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g g}^{-1}$ de ácido gálico por g de amostra. *Os asteriscos representam diferença significativa entre as amostras.

Com o objetivo de estudar a eficiência dos solventes de extração, os autores Pellegrini et al. (2007) analisaram quatro tipos de alimentos, dentro eles, a laranja. Os autores observaram que esta fruta apresenta concentrações excelentes de flavonoides em sua composição. Storck et al. (2013) verificaram que a casca de laranja apresentou maior teor de polifenóis, sendo $631,25\text{mg}/100\text{g}^{-1}$. Os pesquisadores ressaltam que ao fim de estudo verificaram que as partes consideradas como co-produtos apresentam maior teor desses compostos.

Para verificar a disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil, Faller e Fialho (2009) realizaram um estudo. Ao analisarem o extrato obtido do suco de laranja (*Citrus sinensis*), observaram que o teor de polifenóis totais no Brasil, definido pela mesma metodologia do presente estudo, foi $92,4\text{mg EAG}/100\text{g}$. Os autores destacam que a variação da parte da fruta estudada sofre com fatores ambientais, como região, exposição solar e método de cultivo.

Os compostos fenólicos são importantes, pois atuam em diversas atividades biológicas. Gardner et al. (2000) observaram que o suco de laranja continha $755\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ de compostos fenólicos totais. O consumo de frutas que contenham esse composto auxilia na redução do risco de DCNT, dessa maneira, promove a melhora na saúde (NACZK e SHAHIDI, 2004).

Dentre as estruturas da laranja, o albedo é recoberto por uma parte branca e esponjosa (SOUZA et al., 2015a). Por ser caracterizado como co-produto/resíduo, Storck et al. (2015) produziram uma farinha obtida das partes descartadas e encontraram valores de polifenóis totais entre 1156mg e 2352mg/100g⁻¹ para diferentes granulometrias. Os autores sugerem que esta farinha poderia ser utilizada pela população, pois este composto atua como antioxidante. No mesmo sentido de utilizar produtos biodegradáveis, Moala (2016) analisou o teor de compostos fenólicos totais presente no bagaço de laranja e como resultado encontram 19,49µg EAG/mg.

No presente estudo a microcápsula foi responsável por apresentar menor concentração de compostos fenólicos (0,17µg g⁻¹). Entretanto, o método utilizado para sua obtenção da microcápsula consiste na aplicação de altas temperaturas, onde devido a sensibilidade desses compostos, possa ser uma justificativa frente ao resultado encontrado no presente estudo (COSTA e ROSA, 2010).

Na Figura 12 estão apresentados os dados da quantificação de carotenoides totais. Pode-se observar que a microcápsula apresentou diferença significativa comparada as demais amostras, apresentando maior concentração desse composto (2,64±0,5 µg β-criptoxantina/g⁻¹).

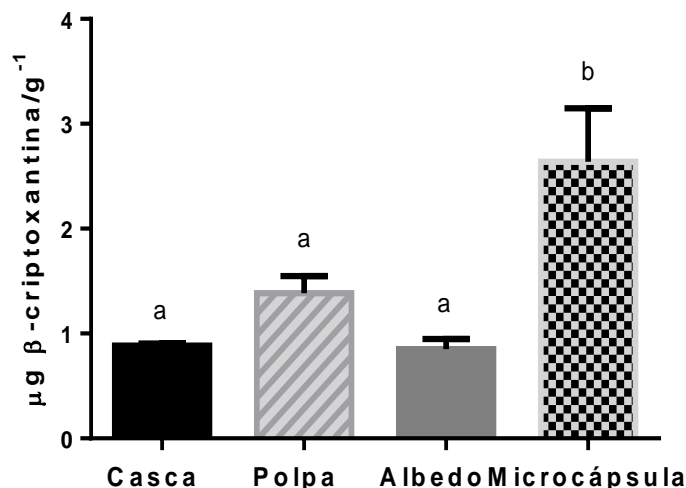


Figura 12. Concentração de carotenoides totais da casca, polpa, albedo e microcápsula. Os resultados foram expressos em µg β-criptoxantina/g⁻¹. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre as amostras.

Com o intuito de potencializar os benefícios proporcionados pelos alimentos, os autores Branco et al. (2007) realizaram a associação de laranja e

cenoura na formulação de um *blend*. Para sua formulação, caracterizaram os produtos e observaram que o extrato do suco de laranja (*Citrus sinensis*) apresentou $31,9\mu\text{g}/\text{g}^{-1}$ e o de cenoura $42,66\mu\text{g}/\text{g}^{-1}$ de carotenoides totais. Os pesquisadores referem que a diferença desses compostos é muito singular, podendo sofrer alteração conforme o clima e a região de plantio, além de ser altamente instável a luz, podendo promover a sua degradação.

No estudo de Sanchez-Moreno et al. (2003), observaram que o suco comercial de laranja continha $423,9\mu\text{g}/100\text{mL}$ de carotenoides totais e ainda concluíram que o consumo deste, poderia auxiliar na redução do estresse oxidativo, pois estes compostos auxiliam no processo antioxidante. Este fato, pode ser uma possível justificativa para os resultados encontrados no presente estudo, onde foi demonstrada capacidade antioxidante.

A literatura refere que a maior concentração de carotenoides está presente na casca dos cítricos (MELENDEZ-MARTINEZ et al. 2007). Corroborando com os autores, neste estudo observamos que foi demonstrada maioritariamente diferença significativa na microcápsula, produzida a partir da casca, comparada as demais amostras. Este efeito pode ser justificado/potencializado pelo material de parede utilizado na formulação da microcápsula, auxiliar na retenção deste composto, visto que como já descrito anteriormente este composto é altamente oxidável a luz (AZEREDO, 2005).

Os resultados da CLAE para compostos fenólicos individuais, carotenoides individuais e vitamina C foram extraídos, porém ainda estão sob análise.

A Tabela 3 apresenta os dados referentes a análise de difusão em disco a qual demonstra a inibição do crescimento bacteriano pelos extratos. Em relação aos extratos etanólicos de todas as amostras, pode-se observar que não houve halo de inibição comparado ao controle etanólico para todos os micro-organismos patogênicos avaliados. Entretanto, ao comparar o extrato aquoso com seu controle, pode-se observar que a C10%H apresentou halo de inibição contra *S. typhimurium* ($1,08\pm 0,04$) e *E.coli* ($0,76\pm 0,12$). Para a C20%H foi observado halo de inibição contra *S. typhimurium* ($0,83\pm 0,08$) e *S. aureus* ($0,90\pm 0,16$). Para a amostra P10%H ($0,85\pm 0,08$), P20%H ($1,00\pm 1,18$) e P30%H ($1,10\pm 0,07$), observou-se inibição somente contra a *S. typhimurium*. O mesmo

resultado foi demonstrado quando analisadas as amostras A10%H (1,03±0,08) e A20%H (0,88±0,07).

Tabela 3. Análise antimicrobiana dos extratos pelo método de difusão frente aos micro-organismos patogênicos. Os resultados foram expressos em média do halo de inibição (cm) ± desvio Padrão.

Extrato	<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 14028)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739)	<i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 19114)	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)
Média do halo de inibição (cm) ± Desvio Padrão				
C10%H	1,08±0,04	0,76±0,12	0,00±0,00	0,00±0,00
C20%H	0,83±0,08	0,00±0,00	0,00±0,00	0,90±0,16
C30%H	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
C10%E	1,45±0,08	1,43±0,25	1,33±0,22	0,95±0,20
C20%E	1,95±0,15	1,73±0,13	1,76±0,16	1,41±0,07
C30%E	1,95±0,05	1,66±0,81	1,88±0,09	1,46±0,05
P10%H	0,85±0,08	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
P20%H	1,00±1,18	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
P30%H	1,10±0,07	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
P10%E	0,76±0,18	1,16±0,08	0,90±0,08	0,00±0,00
P20%E	1,70±0,10	1,71±0,21	1,86±0,08	1,70±0,08
P30%E	1,61±0,04	1,65±0,17	1,65±0,17	1,65±0,08
A10%H	1,03±0,08	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
A20%H	0,88±0,07	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
A30%H	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
A10%E	1,81±0,14	1,43±0,10	1,61±0,11	1,23±0,10
A20%E	1,91±0,09	2,05±0,13	1,75±0,17	1,85±0,13
A30%E	1,83±0,18	1,90±0,15	1,75±0,08	1,50±0,00

Média do controle etanólico: *Salmonella typhimurium* 2,15cm; *Escherichia coli* 2,11cm, *Listeria monocytogenes* 2,11cm e *Staphylococcus aureus* 2,05cm.

Média do controle aquoso: não houve halo de inibição para nenhuma bactéria testada;

As iniciais das amostras indicam: C para Casca; P para polpa; A para albedo; H solvente aquoso e E o solvente etanólico.

O teste de difusão em disco tem como finalidade detectar se o extrato em estudo é capaz de inibir o crescimento de determinado micro-organismo, onde o halo formado ao redor do disco caracteriza essa inibição (MATTE et al., 2015). Nesse sentido, Araújo et al. (2007) estudaram o efeito de sucos de frutas frente a diferentes cepas bacterianas. Como resultado, os pesquisadores observaram que o suco de limão apresentou maior halo de inibição comparado as demais frutas, atuando principalmente contra bactérias Gram-positivas.

Os óleos essenciais de *citrus* vêm sendo estudados devido aos diversos benefícios que podem proporcionar, como na atividade biológica exercendo o potencial antimicrobiano (KUMAR et al., 2011). Frente a isso, Heberle et al. (2016) realizaram o teste de difusão em disco para a fruta laranja (*Citrus sinensis*) e verificaram que o óleo essencial desta fruta apresentou maior halo de inibição frente a *L. monocytogenes*. Os pesquisadores atribuíram este fato devido a maior suscetibilidade que os óleos apresentam frente a bactérias Gram-positivas, pois suas membranas celulares não são tão complexas e apresentam menor quantidade de lipídeos em sua estrutura (LOGUERCIO et al., 2005).

Dentro da mesma abordagem, Santos et al. (2016) avaliaram o efeito antimicrobiano de três diferentes óleos de frutas cítricas contra diferentes micro-organismos patogênicos. No teste de difusão em disco, a *Citrus aurantium* (var. *dulsis*) apresentou halo de inibição frente a *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella spp.*, entretanto para a bactéria Gram-positiva foi apresentando o menor valor.

Achados relevantes foram encontrados no presente estudo, onde pode-se observar que os extratos aquosos das amostras estudadas foram capazes de inibir o crescimento bacteriano dos micro-organismos Gram-negativo. Embora a membrana celular destas bactérias seja mais difícil de serem permeadas, pois apresentam mais peptidoglicanos em sua estrutura (GUIMARÃES et al., 2010), o efeito sinérgico dos compostos presentes na laranja-azeda podem ser a justificativa para estes resultados.

Nesse sentido, os compostos bioativos atuam auxiliando na ação antimicrobiana. Este fato foi relatado pelos pesquisadores Ávila et al. (2008) onde o efeito antimicrobiano exercido pelos flavonoides foi atribuído a mudança na conformação dos seus anéis aromáticos. Resultados semelhantes foram encontrados por Arbos et al. (2013). Os autores relataram que possivelmente o efeito antimicrobiano da farinha obtida da casca da manga seja pelo fato de apresentar compostos fenólicos.

A Tabela 4 apresenta os resultados da CIM para os extratos aquosos e etanólicos das amostras casca, polpa e albedo (em suas diferentes concentrações) frente aos micro-organismos patogênicos. Os melhores resultados para a *S. typhimurium* foram em relação a concentração de 10% independentemente da amostra estudada. Para a *E. coli* e *L. monocytogenes* as

concentrações com menor crescimento foram 20% e 30%. Já para a *S. aureus*, a concentração de 30% obteve melhores resultados na CIM.

Tabela 4. Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos de casca, polpa e albedo em suas diferentes concentrações frente a micro-organismos patogênicos.

Extrato	<i>Salmonella</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Listeria</i>	<i>Staphylococcus</i>
	<i>typhimurium</i> (ATCC 14028)	<i>coli</i> (ATCC 8739)	<i>monocytogenes</i> (ATCC 19114)	<i>aureus</i> (ATCC 25923)
mg/mL				
C10%H	33	0,7x10 ⁻³	-	-
C20%H	66	0,1x10 ⁻³	0,1x10 ⁻³	6
C30%H	100	9	100	9
C10%E	33	3	33	33
C20%E	66	66	66	6
C30%E	100	0,2x10 ⁻³	9	0,2x10 ⁻³
P10%H	-	33	33	33
P20%H	-	6	66	6
P30%H	100	0,2x10 ⁻³	0,2x10 ⁻³	0,2x10 ⁻³
P10%E	-	33	3	3
P20%E	66	66	6	0,1x10 ⁻³
P30%E	100	0,2x10 ⁻³	100	9
A10%H	33	33	33	3
A20%H	66	6	-	0,1x10 ⁻³
A30%H	-	9	100	0,2x10 ⁻³
A10%E	33	33	-	0,14
A20%E	66	0,1x10 ⁻³	6	-
A30%E	100	9	100	100

*As iniciais das amostras indicam: C para Casca; P para polpa; A para albedo; H extrato aquoso e E o extrato etanólico. (-) indica que não houve inibição.

Os resultados para *S. aureus* encontrados no presente estudo são similares aos encontrados por Gerhardt et al. (2012), os quais reportam que para inibir este micro-organismo foi necessário 41,76mg/mL de extrato etanólico da casca de bergamota pokan, enquanto que para a laranja-azeda foi 33-0,2x10⁻³. Este achado pode ser justificado, pois segundo Pinho et al. (2012) alguns compostos bioativos como carotenoides e flavonoides auxiliam no processo antimicrobiano.

S. aureus é uma bactéria Gram-positiva comumente encontrada em hospitais e acomete principalmente as regiões da pele e abscessos (ALEEBRAHIM-DEHKORDY et al., 2018). Devido esse motivo e a resistência

apresentada pelos fármacos, Adukwu et al. (2012) estudaram o óleo essencial de pomelo e verificaram efeito inibitório contra esse micro-organismo. Este resultado pode ser atribuído, pois no mesmo estudo foi observada a presença de limoneno nas amostras, composto esse já descrito como antimicrobiano (VIEIRA et al., 2018).

Os resultados encontrados no presente estudo revelaram achados importantes para a pesquisa científica, pois observou-se que os extratos aquosos das diferentes amostras estudadas foram capazes de inibir o crescimento bacteriano. Foi observado ainda que as concentrações C10%H, C20%H e C30%H foram considerados bactericidas para *S. typhimurium* e *E. coli*, bactérias do grupo Gram-negativos, as quais possuem como característica maior restrição a permeabilidade da membrana celular.

As bactérias Gram-negativas possuem uma membrana celular composta por fosfolipídios e peptidoglicanos, e estes são responsáveis por dificultar o acesso dos antimicrobianos (CHOUI e LEE, 2018). Tem-se visto que diferentes grupos de frutas apresentam compostos que são capazes de auxiliar na facilitação dessa permeabilidade da membrana celular, como é o caso dos compostos fenólicos e taninos, presentes em frutas, principalmente as “berries” (NILE e PARK, 2014).

Herath et al. (2016) ao estudar o extrato da polpa de *Citrus aurantium* observaram resultados que corroboram com o presente estudo. Os autores relataram haver inibição dos micro-organismos indicadores *E. coli* e *S. aureus*, pela presença de flavonoides e taninos na fruta estudada. Sendo assim, uma possível justificativa para os resultados do presente estudo é a presença de compostos fenólicos com efeito antimicrobiano na laranja-azedada.

A Tabela 5 apresenta os dados relacionados a CBM dos extratos aquosos e etanólicos para todas as amostras analisadas em sua concentração, indicando ação bactericida frente aos micro-organismos indicadores testados. A *S. typhimurium* apresentou melhores resultados bactericidas na concentração 10%. Entretanto, para a *E. coli* e *S. aureus* as concentrações menores foram mais efetivas para 20% e 30%. E em relação a *L. monocytogenes* a concentração 30% foi a que demonstrou melhores resultados antimicrobianos.

Tabela 5. Análise da Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos extratos de casca, polpa e albedo (em suas diferentes concentrações) frente aos micro-organismos patogênicos.

Extrato	<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 14028)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739)	<i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 19114)	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)
	mg/MI			
C10%H	33	-	-	-
C20%H	-	0,1x10 ⁻³	-	6
C30%H	-	9	-	-
C10%E	33	3	33	33
C20%E	66	66	66	6
C30%E	100	0,2x10 ⁻³	9	0,2x10 ⁻³
P10%H	-	-	-	33
P20%H	-	6	66	6
P30%H	-	0,2x10 ⁻⁶	0,2x10 ⁻³	0,2x10 ⁻³
P10%E	-	-	3	3
P20%E	66	-	6	0,1x10 ⁻³
P30%E	100	0,2x10 ⁻³	100	9
A10%H	33	-	-	3
A20%H	-	-	-	0,1x10 ⁻³
A30%H	-	-	-	0,2x10 ⁻³
A10%E	33	-	-	0,14
A20%E	66	0,1x10 ⁻³	6	-
A30%E	100	9	-	100

*As iniciais das amostras indicam: C para Casca; P para polpa; A para albedo; H extrato aquoso e E o extrato etanólico. (-) indica que não houve ação bactericida.

A CBM vem sendo amplamente utilizada na pesquisa. A exemplo disso, Gerhardt et al. (2012) observaram que o limão-bergamota (*Citrus limonia* Osbeck) apresentou melhores resultados de ação bactericida comparado a bergamota pokan e ao pomelo. Os pesquisadores justificam o resultado pela presença de polifenóis, pois as frutas utilizadas para o estudo eram oriundas da agricultura orgânica e a literatura descreve que este tipo de cultivo auxilia no combate de patógenos. Tal justificativa pode corroborar com o presente estudo, pois a laranja-azeda foi colhida em propriedade cujo cultivo era o mesmo do estudo de Gerhardt et al. (2012).

Os extratos de *citrus* vêm ganhando destaque na pesquisa científica. Isso pode ser visto pelo estudo de Kumar et al. (2011), onde extratos obtidos da casca de limão e de laranja foram analisados quanto a CBM. O resultado demonstrou que para ambas as amostras em extrato aquoso não foi observada ação

bactericida. Entretanto, ambas as amostras tiveram ação quando utilizado o extrato etanólico frente ao micro-organismo *E. coli*. Tal achado corrobora com o presente estudo, no qual os extratos etanólicos foram bactericidas frente o mesmo micro-organismo.

Ao avaliar a CBM de diferentes cepas bacterianas, Heberle et al. (2016) verificaram que frente a micro-organismos Gram-negativos não houve ação bactericida utilizando o óleo essencial como antimicrobiano. Diferentemente, os resultados do presente estudo evidenciam ação bactericida utilizando os diferentes extratos de laranja-azedada.

No estudo de Hsouna et al. (2013), os pesquisadores estudaram a CBM que o óleo essencial obtido da flor de *Citrus aurantium* iria exercer sobre a *L. monocytogenes*. Como resultado, foi encontrado que o óleo apresentou efeito bactericida e que este poderia ser uma fonte natural alternativa contra micro-organismos patogênicos. Como possível justificativa, os autores relataram que a presença do composto limoneno pode ter auxiliando neste efeito antimicrobiano.

O efeito bactericida foi observado em todas as amostras, entretanto, destaque-se resultados pertinentes para os extratos aquosos. Estes achados podem ser observados na amostra P10%, P20% e P30%, onde para a *S. aureus* todas as concentrações foram efetivas (33mg/mL, 6mg/mL e $0,2 \times 10^{-3}$ respectivamente). Isso pode ser justificado pela maior facilidade que os compostos possuem de atravessar a membrana celular de bactérias Gram-positivas (ALEEBRAHIM-DEHKORDY et al., 2018). Os dados da análise antioxidante, corroboram para a justificativa dos dados apresentados nas análises antimicrobianas, em que os compostos fenólicos e carotenoides podem auxiliar na ação destes efeitos.

A Tabela 6 apresenta os resultados relacionados a coloração da microcápsula. Ao analisar a cor da microcápsula pode-se observar uma alta luminosidade ($L=95,16$), além dos fatores de coloração amarelado ($b=12,79$) e esverdeado ($a=-1,97$).

Tabela 6. Avaliação da coloração da microcápsula de laranja-azeda.

Amostra	L*	a*	b*
Microcápsula	95,16±0,67	-1,97±0,03	12,79±0,16

*Os resultados foram expressos em média ± desvio padrão.

Segundo Garau et al. (2007) a cor representa um dos fatores mais importantes de processamentos de desidratação. Os autores desidrataram amostras de polpa e casca de *Citrus aurantium* sob diferentes temperaturas. Para a casca, quando a temperatura atingiu 90°C, os valores foram 79,6 para luminosidade, -1,55 indicando o tom mais esverdeado e 58,08 para o tom amarelado. Os dados diferem do presente estudo, entretanto, os métodos de extração foram diferentes e não houve material de parede no estudo de Garau et al. (2007), fator este que auxilia os compostos presentes na fruta manterem as características na microcápsula (AZEREDO, 2005).

Ao analisar o efeito do alginato de cálcio e película de alginato em laranja (*Citrus sinensis*) miniprocessada, Groppo (2007) observou que não houve diferença entre esses dois materiais quanto a luminosidade (L) nos diferentes tempos de armazenamento estudados. Os valores encontrados foram menores comparado ao deste estudo, entretanto, Groppo não realizou microencapsulação em sua pesquisa.

Para atividade de água a amostra da microcápsula de laranja-azeda apresentou A_w 0,159 a 21,7°C. Os autores Garau et al. (2007), encontraram valores na atividade de água para amostras de polpa e casca de *Citrus aurantium* desidratadas, A_w 0,35 a 25°C. Esse fator é relevante na formulação de produtos, onde valores altos de água no produto são descritos como instáveis ao crescimento bacteriano, visto sua necessidade para estes micro-organismos em sua reprodução. Além disso, produtos secos trazem benefícios para a indústria de alimentos sendo mais seguros, podendo ser armazenados a temperatura ambiente, além de proteger as características do material que está sendo encapsulado (YOUSEFI et al., 2011).

A Tabela 7 apresenta o percentual de eficiência de encapsulação por meio do cálculo dos carotenoides totais e carotenoides presentes na superfície.

Tabela 7. Percentual de eficiência de encapsulação (EE) dos carotenoides da microcápsula composta pelo extrato hidroetanólico da casca de *Citrus aurantium* e maltodextrina.

Amostra	EE (%)
Microcápsula	71%

A eficiência de encapsulação é uma técnica extremamente essencial que quantifica a diferença dos compostos presentes dentro e fora da microcápsula em relação ao total de compostos presentes nesta (SUTTER et al. 2007). Rutz (2013) microencapsulou o extrato de pitanga roxa e realizou a EE por meio dos carotenoides e dos compostos fenólicos. Foram utilizados diferentes materiais de parede, e foi demonstrado maiores valores de EE para os carotenoides, corroborando com o presente estudo, onde observou-se alta porcentagem de EE.

A fruta Gac (*Momordica cochinchinensis*) é rica em carotenoides, assim, Kha et al. (2010) microencapsularam seu extrato pelo método *spray drying* utilizando maltodextrina como material de parede. Como resultado, observaram que a quantidade de carotenoides totais era influenciada pelas temperaturas utilizadas na obtenção das microcápsulas. Tal fato pode ser justificado, pois estes compostos são sensíveis a altas temperaturas, o que promove a sua redução (OLIVEIRA et al., 2011).

Em busca de um melhor aproveitamento dos co-produtos obtidos da laranja, Müller (2011) obteve microcápsulas a partir do óleo essencial da casca dessa fruta. Como material de parede, foram utilizados maltodextrina e amido modificado pelo método de *spray drying*, e obtiveram 99,35% de EE e após 10 meses a EE manteve-se em 99,32%. Os valores encontrados foram superiores ao descrito neste estudo, entretanto, destaca-se que foram utilizados dois materiais de parede associados, além da obtenção da amostra ser distinta a utilizada no presente estudo.

A Figura 13 apresenta as imagens da microcápsula obtidas por MEV em diferentes aumentos (imagem A x 430; Imagem B x 600 e Imagem B x 2500). A imagem C apresenta o tamanho 25,95µm de uma microcápsula escolhida aleatoriamente. De maneira geral, ao comparar as três imagens, pode-se

observar que as microcápsulas apresentaram superfície irregular, com intumescimento (abcesso) e dobras (rugosidade).

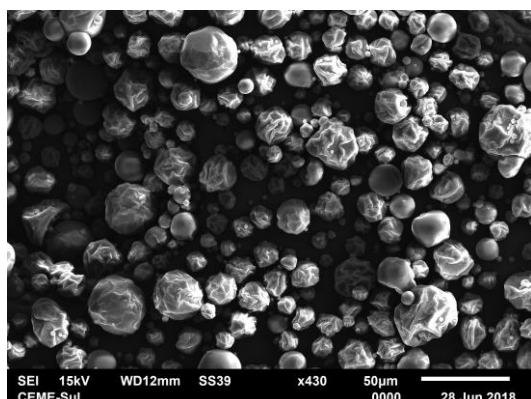


Imagem A

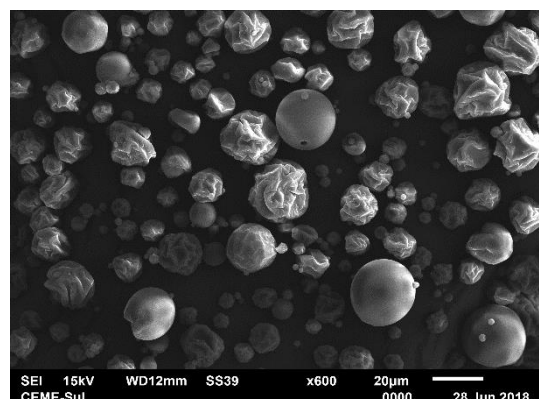


Imagem B

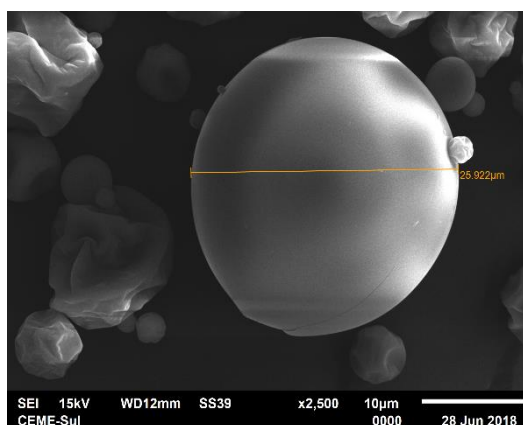


Imagem C

Figura 13. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da microcápsula de extrato de laranja-azedada em diferentes aumentos.

Ao produzirem microcápsulas de alginato de sódio contendo óleo essencial de laranja, Fernandes et al. (2014) analisaram sua conformação por meio de MEV. Como resultado, observaram que as microcápsulas de óleo essencial, obtido por hidrodestilação, apresentaram conformação esférica. Entretanto, os pesquisadores destacaram que houveram cavidades na superfície, sugerindo dessa forma à má emulsificação do óleo. No presente estudo também pode ser observada a presença de abcessos.

Ascheri et al. (2003) microencapsularam óleo essencial de laranja para utilizando uma associação de materiais de parede, sendo goma arábica, maltodextrina, água e amido modificado. Os autores analisaram a estrutura superficial destas microcápsulas e observaram a conformação irregular e

abcessos, assim como a do presente estudo. Os autores descreveram que a presença destes abcessos é possivelmente ocasionada pelo processo de secagem, *spray drying*. Em relação ao tamanho da microcápsula, os autores encontram valores variando de 100 μ m a 10 μ m dependendo da associação dos materiais de parede.

Müller (2011) relata que ao microencapsular o óleo essencial de laranja com os materiais de parede amido modificado e maltodextrina pelo método *spray drying*, verificou a ausência de fissuras na superfície, diferentemente do encontrado no presente estudo. Uma justificativa para a presença destes abcessos seria a utilização de apenas um material de parede (maltodextrina), visto que no trabalho de Müller não ocorreu tal processo possivelmente pela associação de dois materiais de parede. O autor ainda refere que encontrou um tamanho médio de 15 μ m para a microcápsula, valor próximo ao encontrado no presente estudo (25,95 μ m).

5 Considerações finais

O presente estudo demonstrou resultados importantes para a nutrição e tecnologia de alimentos. Na análise da composição centesimal, a amostra da polpa diferiu significativamente das demais amostras analisadas quando comparados os aspectos de umidade, carboidrato e VET.

Em relação a atividade antioxidante determinada pelo método DPPH foi observado que a amostra da casca foi responsável por apresentar maior porcentagem de inibição frente a este radical, destacando maior capacidade antioxidante para o extrato aquoso. Ao analisar a peroxidação lipídica, dados similares ao método DPPH foram encontrados, em que a amostra do extrato aquoso da casca na concentração de 30% demonstrou menor formação de MDA e, conseqüentemente, acarretando redução da peroxidação lipídica, logo maior capacidade antioxidante.

Para a quantificação de compostos fenólicos totais e carotenoides totais foi observado que a amostra da polpa e a microcápsula obtiverem maiores concentrações, respectivamente.

Ao observar os dados apresentados nas análises antimicrobianas, destacam-se os extratos aquosos os quais apresentaram melhores resultados frente ao métodos analisados e, ainda, foram capazes de atuar na inibição frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Destaca-se ainda que os extratos apresentaram efeito bactericida contra os micro-organismos patogênicos.

Por meio da microencapsulação do extrato da casca com o material de parede maltodextrina, observou-se alta EE e isso caracteriza o método de *spray drying* como um bom método de microencapsulação para a fruta analisada, assim como o efeito do material de parede para proteção dos compostos dessa fruta.

Frente aos resultados encontrados neste estudo, observa-se achados relevantes para a pesquisa científica em relação a fruta laranja-azedada, onde por meio dos extratos, principalmente o extrato aquoso da casca, obteve-se ação antioxidante e antimicrobiana. A microencapsulação da casca demonstrou ser uma forma viável para o consumo da população se beneficiar dos efeitos proporcionados com relação aos compostos bioativos presentes nesta.

6 Planejamentos futuros

Com base nos resultados encontrados na presente pesquisa, planeja-se futuramente realizar as análises de compostos fenólicos individuais, carotenoides individuais e vitamina C para a microcápsula, bem como realizar a atividade antioxidante e antimicrobiana da mesma.

Após realização destas análises, pretende-se aplicar a microcápsula em uma matriz alimentar e verificar seus potenciais efeitos *in vivo* em modelo biológico.

REFERÊNCIAS

- ABURTO, L. C.; TAVARES, D. Q.; MARTUCCI, E. T. Microencapsulação de óleo essencial de laranja. **Food Science and Technology**, v. 18, n. 1, 1998.
- ADUKWU, E. C.; ALLEN, S. C. H.; PHILLIPS, C. A. The anti-biofilm activity of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) and grepefruit (*Citrus paradisi*) essential oils against five strains of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 11, n. 3, p 1217-1227, 2012.
- AGOSTINI-COSTA, T. D. S. Bioactive compounds and health benefits of some palm species traditionally used in Africa and the Americas – A review. **J. Ethnopharmacol.**, v. 224, p. 202-229, 2018.
- AHMED, O. M.; HASSAN, M. A.; ABDEL-TWAB, S. M.; ABDEL-AZEEM, M. N. Navel Orange peel hydroethanolic extract, naringin and naringenin have anti-diabetic potentials in type 2 diabetics rats. **Biomed. Pharmacother.**, v. 94, p. 197-205, 2017.
- AKHLAGHI, M., SHABANIAN, G.; RAFIEIAN-KOPAEI, M.; PARVIN, N.; SAADAT, M.; AKHLAGHI, M. *Citrus aurantium* blossom and preoperative anxiety. **Rev. Bras. Anesthesiol.**, v. 61, n. 6., p.702-712, 2011.
- ALCANTARA, Milla Reis. **A competitividade na produção de laranja: uma análise comparativa de custos no Brasil e Estados Unidos com ênfase na gestão e controle do Huanglongbing (HLB/ Greening)**. 2017. 98 f. Tese (Gestão de Sistemas na Agricultura e Desenvolvimento Rural) – Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2017.
- ALEEBRAHIM-DEHKORDY, E.; RAFIEIAN-KOPAEI, M.; AMINI-KHOEI, H.; ABBASI, S. In vitro evaluation of antioxidant activity and antibacterial effects and measurement of total phenolic and flavonoid contents of *Quercus brantii* L. fruit extract. **Journal of Dietary Supplements**, v. 29, p. 1-9, 2018
- AMMAR, A. H.; LEBRIHI, A.; MATHIEU, F.; ROMDHANE, M.; ZAGROUBA, F. Chemical composition and *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of *Citrus aurantium* L. flowers essential oil (neroli oil). **Pakistan Journal oh Biological Sciences**, v. 15, n. 21, p. 1034-1040, 2012.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.
- ARAÚJO, P. R. L.; ALMEIDA, F. R.; SENA, K. X. F. R.; CHIAPPETA, A. A.; ALBUQUERQUE, J. F. C. Estudo antimicrobiano de sucos de frutas e hortaliças frente a isolados clínicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 47., 2007, Natal. **Anais eletrônicos...** Natal: ABQ-RN, 2007.
- ARBO M. D.; LARENTIS, E. R.; LINCK, V. M.; ABOY, A. L.; PIMENTAL, A. L.; HENRIQUES, A. T. DELLEGRAVE, E.; GARCIA, S. C.; LEAL, M. B.; LIMBERGER, R. P. Concentrations of *p*-synephrine in fruits and leaves of *Citrus*

species (Rutaceae) and the acute toxicity testing of *Citrus aurantium* extract and p-synephrine. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 2770–2775, 2008.

ARBO, M. D.; SCHIMITT, G. C.; LIMBERGER, M. F.; CHARÃO, M. F.; MORO, A. M.; RIBEIRO, G. L.; DALLEGRAVE, E.; GARCIA, S. C.; MIRNA, B. L.; LIMBERGER, R. P. Subchronic toxicity of *Citrus aurantium* L. (Rutaceae) extract and p-synephrine in mice. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 54, p. 114-117, 2009.

ARBOS, K. A.; STEVANI, P. C.; CASTANHA, R. F. Atividade antimicrobiana, antioxidante e teor de compostos fenólicos em casca e amêndoa de frutos de manga. **Revista Ceres**, v. 60, n. 2, p. 161-165, 2013.

ASCHERI, D. P. R.; MARQUEZ, M. O. M. MARTUCCI, E. T. Microencapsulação de óleo essencial de laranja: seleção de material de parede. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 1-6, 2003.

Association Official Analytical Chemists – AOAC. Official Methods of Analysis. 16a ed., Arlington, 1997.

AVILA, H. P.; SMANIA, E. F. A.; MONACHE, F. D.; JUNIOR, A. S.; Structure-activity relationship of antibacterial chalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 9790-9794, 2008.

AYALA, A.; MUÑOZ, M. F.; ARGULLES, S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2nonenal. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1-31, 2014.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alim. Nutri.**, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2005.

BALSALOBRE, L. C.; DROPA, M.; MATTÉ, M. H. An overview of antimicrobial resistance and its public health significance. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 1, p. 1-15, 2014.

BANSODE, S. S.; BANARJEE, S. K.; GAIKWAD, D. D.; JADHAV, S. L.; THORAT, R.M. Microencapsulation: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Reserach**, v. 1, n. 2, p. 38-43, 2010.

BARBER, A. D.; HARRIS, S. R. Oxygen free radicals and oxidants: a review. **American Pharmacy**, v. 34, n. 9, p.26-35, 1994.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. G.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BARRECA, D.; BELLOCCO, E.; CARISTI, C.; LEUZZI, U.; GATTUSO, G. Distribution of C- and O-glycosyl flavonoids, (3-hydroxy-3-methylglutaryl)

glycosyl flavonones and furocoumarins in *Citrus aurantium* L. juice. **Food Chemistry**, v. 124, 576-582, 2011.

BARRECA, D.; GATTUSO, G.; BELLOCCO, E.; CALDERARO, A.; TROMBETA, D.; SMERIGLIO, A.; LAGANA, G.; DAGLIA, M.; MENEGHINI, S.; NABAVI, S. M. Flavonones: citrus phytochemical with health-promoting properties. **Bio. Factors**, v. 43, n. 4, p. 495-506, 2017.

BECCATTINI, S.; LITTMANN, E. R.; CARTER, R. A.; KIM, S. G.; MORJARIA, S. M.; LING, L.; GYALTSHEN, Y.; FONTANA, EL.; TAUR, Y.; LEINER, I. M.; PAMER, E. G. Commensal microbes provide first line defense against *Listeria monocytogenes* infection. **Journal Experimental Medicine**, v. 214, n. 7, p. 1973-1989, 2017.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes na dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BLOOM, G.; MERRET, G. B.; WILKINSON, A.; LIN, V.; PAULIN, S. Antimicrobial resistance and universal health coverage. **BMJ Global Health**, 2017.

BOUCHARD, N. C.; HOWLAND, M. A.; GRELLER, H. A.; HOFFMAN, R. S.; NELSON, L. S. Ischemic Stroke Associated With Use of an Ephedra-Free Dietary Supplement Containing Synephrine. **Mayo Clin Proc.**, v. 80, n. 4, p. 541-545, 2005.

BRANCO, I. G.; SANJINEZ-ARGANDOÑA, E. J.; SILVA, M. M.; PAULA, T. M. Avaliação sensorial e estabilidade físico-química de um *blend* de laranja e cenoura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 7-12, 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm Wiss Technol.**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB. Safra fevereiro de 2016-2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Plano nacional para a prevenção e o controle da resistência microbiana nos serviços de saúde**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 15 de maio de 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **RDC Nº 2, 7 de janeiro de 2002, REGULAMENTO TÉCNICO DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS E PROBIÓTICOS ISOLADOS**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 9 de janeiro de 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia Alimentar para a População Brasileira – 2. ed. Brasília, DF, 2014.

BROMBERG, R.; MORENO, I.; DELBONI, R. R.; CINTRA, H. C. Characteristics of the bacteriocin produced by *Lactococcus lactis*ssp. *hordniae* CTC 484 and its effect on *Listeria monocytogenes* in bovine meat. **Food Science and Technology**, v. 26, n. 1, p. 135-144, 2006.

BROZ, P. OHLSON, M. B.; MONACK, D. M. Innate immune response to *Salmonella* Typhimurium, a model enteric pathogen. **Gut Microbes**, v. 3, n. 2, p. 62-70, 2012.

CARMO, E. F.; FERNANDES, R. B. V.; BORGES, S. V. Microencapsulação por *spray drying*, novos biopolímeros e aplicações na tecnologia de alimentos. **Journal of Chemical Engineering and Chemistry**, v. 01, n. 02, p. 30-44, 2015.

CARMONA, Paula Andrea Osorio. **Secagem por atomização e microencapsulação de óleo de laranja: estudo das propriedades de emulsão e do tipo de material de parede sobre as características do pó e a estabilidade de D-Limoneno**. 2011. 176 f. Dissertação (Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

CARVALHO-FREITAS, M. I. R.; COSTA, M. Anxiolytic and Sedative Effects of Extracts and Essential Oil from *Citrus aurantium* L. **Biol. Pharm. Bull.**, v.25, n. 12, p. 1629-1633, 2002.

CAZARIN, C. B. B.; SILVA, J. K.; COLOMEU, T. C.; ZOLLNER, R. L.; JUNIOR, M. R. M. Capacidade antioxidante e composição química da casca de maracujá (*Passiflora edulis*). **Ciência Rural**, v. 44, n. 9, p. 1699-1704, 2014.

CHOI, U.; LEE, C. R. Antimicrobial agents that inhibit the outer membrane assembly machines of gram-negative bacteria. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, 2018.

CIRMI, S.; NAVARRA, M.; WOODSIDE, J. V.; CANTWELL, M. M. Citrus fruits intake and oral cancer risk: a systematic review and meta-analysis. **Pharmacol. Res.**, v. 133, p. 187-194, 2018.

CLSI, M07-A10: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard – Tenth edition. CLSI (Clinical Lab Stand. Institute) 35. 2015.

CORREA, L. C.; DIAS, R. C. S.; SOUZA, R. C. R.; MARTINS, S. S.; SILVA, P. T. S. Determinação de betacaroteno e licopeno em frutas e hortaliças por cromatografia líquida de alta eficiência (Clae). **Embrapa semiárido**, p. 7-16, 2015.

COSTA, Neuza Maria Brunoro; ROSA, Carla de Oliveira Barbosa. **Alimentos funcionais: componentes bioativos e efeitos fisiológicos**. Rio de Janeiro: Rubio, 2010. 536 p.

COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 15-19, 2010.

COZZOLINO, Silvia Maria Franciscato.; COMINETTI, Cristiane. **Bases bioquímicas e fisiológicas da Nutrição: nas diferentes fases da vida, na doença e na saúde**. (1. ed.). Barueri: Manole, 2013. 1288 p.

CUNHA, K. D.; SILVA, P. R.; COSTA, A. L. F. S. F.; TEODORO, A. J. Ascorbic acid stability in fresh fruit juice under different forms of storage. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 2, p. 139-145, 2014.

DEVI, N.; SARMAH, M.; KHATUN, B.; MAJI, T. K. Encapsulation of active ingredients on polysaccharide-protein complex coacervates. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 239, p. 136-145, 2017.

DINIZ, A. M. M.; SANTOS, R. M. C. *Escherichia coli* resistente a ciprofloxacina em pacientes internados em hospital universitário de Manaus, 2015. **Epidemiol. Control. Infec.**, v. 7, n. 1, p. 20-24, 2017.

DZIEZAK, J. D. Microencapsulation and encapsulated ingredients. **Food Technol.**, v.42, n.4, p.136-151, 1988.

FALLER, A. L. K.; FIALHO, E. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, n. 2, p. 1-8, 2009.

FERNANDES, I. J.; KIELING, A. G.; ROCHA, T. L. A. C.; BREHM, F. A.; MORAES, C. A. M. Produção e avaliação de microcápsulas de alginato contendo óleo essencial de casca de laranja. **Eclética Química Journal**, v. 39, p.164-174, 2014.

FIGUEROA, P. M.; CEBALLOS, M. A.; HURTADO, A. M. Microencapsulacion mediante secado por aspercion de aceite de mora (*Rubus glaucus*) extraído com CO₂ supercrítico. **Revista Colombiana de Química**, v. 45, n. 2, p. 39-47, 2016.

Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO). Citrus fruit – Fresh and Processed. Roma, 2017.

FREIXO, Luís Carlos Araujo. **Micro e nano encapsulação como estratégias de estabilização de entidades bioativas: proteínas, enzimas e bacteriófagos**. 2013. 76 f. Dissertação (Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013.

FUGH-BERMAN, A.; MYERS, A. *Citrus aurantium*, an ingredient of dietary supplements marketed for weight loss: current status of clinical and basic research. **Exp. Biol. Med**, v. 229, n. 8, p. 698-704, 2004.

GARAU, M. C.; SIMAL, S.; ROSSELÓ, C.; FEMENIA, A. Effect of air-drying temperature on physic-chemical properties of dietary fibre and antioxidant

capacity of orange (*Citrus aurantium* v. Canoneta) by-products. **Food Chemistry**, v. 104, p. 1014-1024, 2007.

GARDNER, P. T.; WHITE, T. A. C.; MCPHAIL, D. B.; DUTHIE, G. G. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. **Food Chemistry**, v. 68, p. 471-474, 2000.

GART, E. V.; SUCHODOLSKI, J. S.; WELSH, T. H.; ALANIZ, R. C.; RANDEL, R. D.; LAWHON, S. D. *Salmonella* Typhimurium and multidirectional communication in the Gut. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1-18, 2016.

GERHARDT, C.; WIEST, J. M.; GIROLOMETTO, G.; SILVA, M. A. S.; WESCHENFELDER, S. Aproveitamento da casca de citros na perspectiva de alimentos: prospecção da atividade antibacteriana. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n.11-17, 2012.

GHORBANI, A.; NAZARI, M.; JEDDI-TEHRANI, M.; ZAND, H. The citrus flavonoid hesperidin induces p53 and inhibits NF- κ B activation in order to trigger apoptosis in NALM-6 cells: involvement of PPAR γ -dependent mechanism. **Eur. J. Nutr.**, v. 51, p. 39-46, 2012.

GILLBERG, L.; ORSKOV, A. D.; LIU, M.; HARSLOF, L. B. S.; JONES, P. A.; GRONBAEK, K. Vitamina C – A new player in regulation of cancer epigenome. **Semin. Cancer Biol.**, 2017.

GOMES, R. I. R.; SILVA, M. C.; COSTA, F. R.; LIMA, A. F. J.; SILVA, D. B. Propriedades físicas e teor de matéria orgânica do solo sob diferentes coberturas vegetais. **Revista Faculdade Montes Belos**, v. 8, n. 1, p. 72-139, 2015.

GRANGER, M.; ECK, P. Dietary vitamin c in human health. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 83, p. 281-310, 2018.

GROPPO, Vanessa Daniel. **Laranja ‘pêra’ (*Citrus sinensis* L. Osbeck) minimamente processada: efeito do cloreto de cálcio e película de alginato de sódio na fisiologia e conservação**. 2007. 99 f. Dissertação (Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectiva para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

HEBERLE, T.; KRINGEL, D. H.; EVANGELHO, J. A.; DANNEBERG, G.; OLIVEIRA, R. P.; DIAS, A. R. G. Atividade antimicrobiana de óleo essencial de laranja. In: XXV CONGRESSO BRASILEIRA DE CIENCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2016. Gramado-RS.

HERATH, H. M. P. D.; CHAMIKARA, M. D. M.; DISSANAYAKE, D. R. R. P.; DISSANAYAKE, M. D. M. I. M.; ISHAN, M. RAJAPASKE, S.; SOORIYAPATHIRANA, S. D. S. S. A comparative assessment of the

antibacterial activity in fruit juice of Sri Lankan sweet orange cultivars *vis a vis* sour orange. **The Journal of Agricultural Sciences**, v. 11, n.1, p. 13-23, 2016.

HORST, M. A.; MORENO, F. S. Funções plenamente conhecidas de nutrientes – Carotenoides. **International Life Science Institute**, 2009.

HSOUNA, A. B.; HAMDY, N.; HALIMA, N. B.; ABDELKAFI, S. Characterization of essential oil from *Citrus aurantium* L. flowers: antimicrobial and antioxidant activities. **Journal of Oleo Science**, v. 62, n. 10, p.763-772, 2013.

IBGE – Instituto de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil/IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento – Rio de Janeiro: IBGE, 2011. 150 p.

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Métodos físico-químicos para análise de alimentos /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p.1020.

KARIMI, E.; OSKOUEIAN, E.; HENDRA, R.; OSKOUEIAN, A.; JAAFAR, H. Z. E. Phenolic compounds characterization and biological activities of *Citrus aurantium* blomm. **Molecules**, v. 17, p.1203-1218, 2012.

KAROUI, I. J.; MARZOUK, B. Characterization of bioactive compounds in Tunisian Bitter Orange (*Citrus aurantium* L.) peel and juice and determination of their antioxidant activities. **BioMed Research International**, v. 2013, p-1-12, 2013.

KHA, T. C.; NGUYEN, M. H.; ROACH, P. D. Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant proprieties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. **Journal of Food Engineering**, v.98, p.385-392, 2010.

KUMAR, K. A.; NARAYANI, M.; SUBANTHINI, A.; JAYAKUMAR, M. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of citrus fruit peels – utilization of fruit waste. **International Journal of Engineering Science and Technology**, v. 3, n. 6, p. 5414-5421, 2011.

KUMMER, R.; FACHINI-QUEIROZ, F. C.; ESTEVÃO-SILVA, C. F.; GRESPAN, R.; SILVA, E. L.; BERSANI-AMADO, C. A.; CUMAN, R. K. N. Evaluation of anti-inflammatory activity of *Citrus latifolia* Tanaka essential oil and limonene in experimental mouse models. **Evid. Based Complement Alternat. Med.**, 2013.

LAND, L. R. B.; BORGES, F. M.; BORGES, D. O.; PASCOAL, G. B. Composição centesimal, compostos bioativos e parâmetros físico-químicos da mama-cadela (*Brosimum gaudichaudii* Tréc) proveniente do Cerrado Mineiro. **Demetra: alimentos, nutrição e saúde**, v. 12, n.2, p.509-518, 2017.

LARREA, M. A.; CHANG, Y. K.; BUSTOS, F. M. Effect of some operational extrusion parameters on the constituents of orange pulp. **Food Chemistry**, v. 89, p. 301-308, 2005.

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismo e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 3, p.293-302, 2001.

LIMA, M. P.; BORGES, M. A.; PARENTE, R. S.; JUNIOR, C. V.; OLIVEIRA, M. E. *Staphylococcus aureus* e as infecções hospitalares – revisão de literatura. **Revista Uninga Review**, v. 21, n. 1, p. 32-39, 2015.

LOGUERCIO, A. P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A. C.; HENZEL, A.; WITT, N. M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoolico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.

LU, Q.; PENG, Y.; ZHU, C.; PAN, S. Effect of termal treatment on carotenoids, flavonoids and ascorbic acid in juice of Orange c. Cara Cara. **Food Chemistry**, v. 265, p. 39-48, 2018.

MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Lycopene Encapsulated with Gum Arabic and Malt Dextrin: Stability Study **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 5, p. 197-203, 2002.

MATTE, A. K.; AK, A. R.; MATA, P. T. G. Triagem fitoquímica e avaliação da atividade antibacteriana de extratos das flores de *Sambucus nigra* L (Caprifoliaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n.4, p. 1049-1054, 2015.

MELÉNDEZ-MARTINEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Review: analysis of carotenoids in orange juice. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.20, p.638-649, 2007.

MENDONÇA, L. M. V. L.; CONCEIÇÃO, A.; PIEDADE, J.; CARVALHO, V. D.; THEODORO, V. C. A. Caracterização da composição química e do rendimento dos resíduos industriais do limão tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 870-874, 2006.

MESCHEDE, D. K.; VELINI, E. D.; CARBONARI, C. A.; SILVA, J. R. M. Alteração fisiológica da cana-de-açúcar pela aplicação de Glyphosate e Sulfometuron-Methyl. **Planta Daninha**, v. 29, n. 2, 2011.

MILER, M.; ZIVANOVIC, J.; AJDZANOVIC, V.; ORESCANIN-DUSIC, Z.; MILENKOVIC, D.; KONIC-RISTIC, A.; BLAGOJEVIC, D.; MILOSEVIC, V.; SOSIC-JURJEVIC, B. Citrus flavonones naringenin and hesperetin improve antioxidante status and membrane lipid composition in the liver of old-age *Wistar* rats. **Experimental Gerontology**, v. 84, p.49-60, 2016.

MOALA, T. **Extratos biotransformados de fenólicos de cítricos e atividade anti-inflamatória in vitro**. 2016. 110 f. Dissertação (Alimentos e Nutrição), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2016.

MOULEHI, I.; BOURGOU, S.; OURGHEMMI, I.; TOUNSI, M. S. Variety and ripening impact of phenolic composition and antioxidant activity of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) and bitter orange (*Citrus aurantium* L.) seeds extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 39, p. 74-80, 2012

MÜLLER, Priscila Schultz. **Microencapsulação de óleo essencial de laranja**. 2011. 98 f. Dissertação (Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Tecnologias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 95-111, 2004.

NAZZARO, F.; ORLANDO, P.; FRATIANNI, F.; COPPOLA, R. Microencapsulation in food science and biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, p. 182-186, 2012.

NEDOVIC, V.; KALUSEVIC, A.; MANOJLOVIC, V.; LEVIC, S.; BUGARSKI, B. An overview of encapsulation technologies for food applications. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1806-1815, 2011.

NILE, S. H.; PARK, S. W. Edible berries: review on bioactive components and their effect on human health. **Nutrition**, v. 30, n.2, p.134-144, 2012.

OHKAWA, H.; OHISHI H.; YAGI, K. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal Biochem**, v. 95, n. 2, p. 351-358, 1979.

OLIVEIRA, S. C.; CIRILO, A. T. O.; BASTOS, V. S.; AQUINO, A. C. M. S.; CASTRO, A. A.; NARAIN, N. Estudo de extração e estabilidade dos carotenoides em amostras de salmão (*Salmo salar*) cru resfriado e congelado durante o armazenamento. **Sientia plena**, v. 7, n. 5, p. 1-6, 2011.

OSAWA, C. C.; FELICIO, P. E.; GONÇALVES, L. A. G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 655-663, 2005.

PAGANI, M. M.; CONSTANT, L. S.; GOMES, F. S.; NOGUEIRA, R. I.; TONON, R. V.; ROCHA-LEÃO, M. H. M.; CABRAL, L. M. C. Estabilidade de microcápsulas de acerola produzidas com diferentes agentes encapsulantes. **Embrapa**, 2011.

PAULA, T. P.; PERES, W. A. F.; CARMO, M. G. T. Os carotenoides no tratamento e prevenção do câncer. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 19, n. 2, p. 100-108, 2004.

PELLEGRINI, N.; COLOMBI, B.; SALVATORE, S.; BRENNNA, O. V.; GALVERNA, G.; RIO, D. D.; BIANCHI, M.; BENNET, R. N.; BRIGHENTI, F. Evaluation of antioxidant capacity of some fruit and vegetables foods: efficiency of extraction of a sequence of solvents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p.103-111, 2007.

PEREIRA, K. C.; FERREIRA, D. C. M.; ALVARENGA, G. F.; PEREIRA, M. S. S.; BARCELOS, M. C. S.; COSTA, J. M. G. Microencapsulation and release controlled by the diffusion of food ingredients produced by *spray drying*: a review. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 2018.

PIENIZ, S.; ANDREAZZA, R.; OKEKE, B. C.; CAMARGO, F. A. O.; BRANDELLI, A. Assesment of beneficial proprieties of *Enterococcus* Strains. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 32, n. 2, 2014.

PIENIZ, S.; COLPO, E.; OLIVEIRA, V. R.; ESTEFANEL, V.; ANDREAZZA, R. Avaliação *in vitro* do potencial antioxidante de frutas e hortaliças. **Ciência e agrotecnologia**, v. 33, n. 2, p. 552-559, 2009.

PINHO, D. M. M.; SUAREZ, P. A. Z. A hidrogenação de óleos e gorduras e suas aplicações industriais. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 1, p. 47-62, 2013.

PINHO, L.; SOUZA, P. N. S.; SOBRINHO, E. M.; ALMEIDA, A. C.; MARTINS, E. R.; Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. **Ciência Rural**, v. 42, n.2, p. 326-311, 2012.

RAMIREZ, E. J. A.; HUBSCHER, G. H. Laranja: alimento funcional. **J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, v. 36, n. 3, p. 79-91, 2011.

RAMÍREZ. E. J. A.; HÜBSCHER. G. H. Orange: in defense of its use as afunctional food. **Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr**, v. 36, n. 3, p. 79-91, dez. 2011.

RAMPERSAUD, G. C.; VALIM, M. F. 100% citrus juice: Nutricional contribution, dietary benefits, and Association with anthropometric measures. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 57, n. 1, p.129-140, 2017.

RAY, S.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. **Food Bioscience**, v. 13, p. 76-83, 2016.

RÉ, M. I. Microencapsulation by *spray drying*. **Drying technology: na internacional Journal**, v. 16, n. 6, p. 1195-1236, 1998.

REIS, R. C.; VIANA, E. S.; JESUS, J. L.; LIMA, L. F.; NEVES, T. T.; CONCEIÇÃO, E. A. Compostos bioativos e atividade antioxidante de variedades melhoradas de mamão. **Ciência Rural**, v. 45, n. 11, p. 2076-2081, 2015.

RIBÉREAU-GAYON, P. *Les Composés Phénoliques des Végétaux*. Paris: Dunod, 1968. 254p.

RICE, L. B. Antimicrobial resistance in gram-positive bactéria. **The American Journal of Medicine**, v. 119, n. 6A. p. 11-19, 2006.

RIENKS, J.; BARBARESCO, J.; OLUWAGBEMIGUN, K.; SCHMID, M.; NÖTHLINGS, U. Polyphenol exposure and risk of type 2 diabetes: dose-response meta-analyses and systematic review of prospective cohort studies. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 108, p.1-13, 2018.

RODRIGO, M. J.; CILLA, A.; BARBERÁ, R.; ZACARIAS, L. Carotenoid bioaccessibility in pulp and fresh juice from carotenoid-rich sweet orange and mandarins. **Food and function**, v. 6, n. 6, p. 1950-1959, 2015.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: ILSI Press, 2001. 64p.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical DPPH. **Embrapa Agroindústria Tropical – Comunicado Técnico**, 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996-1002, 2010.

RUTZ, Josiane Kuhn. **Caracterização e microencapsulação de suco de pitanga rosa (*Eugenia uniflora* L.)**. 2011. 107 f. Dissertação (Ciência e Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

SAMIERI, C.; SUN, Q.; TOWNSED, M. K.; RIMM, E. B.; GRODSTEIN, F. Dietary flavonoid intake at midlife and healthy aging in women. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 100, n. 6, p. 1489-1497, 2014.

SANCHEZ-MORENO, C.; CANO, M. P.; ANCOS, B. PLAZA, L.; OLMEDILLA, B.; GRANADO, F.; MARTIN, A. Effect of orange juice intake on vitamin C concentrations and biomarkers of antioxidant status in humans. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 78, p. 454-460, 2003.

SANTOS, A. O.; FREIRE, J. A. S.; CARVALHO, T. D.; BARBOSA, T. C.; PRATES, R. P.; SILVA, J. C. R. L.; FARIAS, P. K. S. A. Atividade antibacteriana e antioxidante de óleos essenciais cítricos com potencialidade para inclusão como aditivos em alimentos. **Caderno Ciências Agrárias**, v. 8, n. 3, p. 15-21, 2016.

SANTOS, A. A. O.; SANTOS, A. J. A. O.; SILVA, I. C. V.; LEITE, M. L. C.; SOARES, S. M.; MARCELLINI, P. S. Desenvolvimento de biscoitos de chocolate a partir da incorporação de fécula de mandioca e albedo de laranja. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 3, p. 469-480, 2010.

SARROU, E.; CHATZOPOULOU, P.; DIMASSI-THERIOU, K.; THERIOS, I. Volatile constituents and antioxidant activity of peel, flowers and leaf oil of *Citrus aurantium* L. growing in Greece. **Molecules**, v. 18, p. 10639-10647, 2013.

SARTORI, G. V.; COSTA, C. N.; RIBEIRO, A. B. Conteúdo fenólico e atividade antioxidante de polpa de frutas congeladas. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 5, n. 3, p.8-14, 2014.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993.

SILVA, A. C.; JORGE, N. Cogumelos: compostos bioativos e propriedades antioxidantes. **UNOPAR**, v. 13, p. 375-384, 2011.

SILVA, A. S.; ARAGON, C. C.; SANTANA, E. H. W.; DESTRO, M. T.; COSTA, M. R.; ALEGRO, L. C. A. *Listeria monocytogenes* em leite e produtos lácteos no Brasil: uma revisão. **Unopar**, v. 13, n. 1, p. 59-67, 2011.

SILVA, L. R.; MARTINS, L. V.; CALOU, I. B. F.; DEUS, M. S. M.; FERREIRA, P. M. P.; PERON, A. P. Flavonoides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta Toxicologia Argentina**, v. 23, n. 1, p. 36-43, 2015.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 669-682, 2010

SILVA, P. T.; FRIES, L. L. M.; MENEZES, C. R.; HOLKEN, A. T.; SCWAN, C. L.; WIGMANN, E. F.; BASTOS, J. O.; SILVA, C. B. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. **Ciência Rural**, v. 44, n. 7, p. 1304-1311, 2014.

SILVA, P. T.; LOPES, M. L. M.; VALENTE-MESQUITA, V. L. Efeito de diferentes processamentos sobre o teor de ácido ascórbico em suco de laranja utilizado na elaboração de bolo, pudim e geléia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 678-682, 2006.

SILVA, R. F.; ASCHERI, J. L. R.; PEREIRA, R. G. F. A. Composição centesimal e perfil de aminoácidos de arroz de pó de café. **Alimentos e Nutrição**, v. 18, n.3, p.325-330, 2007.

SOOTTITANTAWAT, A.; BIGEARD, F.; YOSHII, H.; FURUTA, T.; OHKAWARA, M.; LINKO, P. Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated D-limonene by *spray drying*. **Innovate Food Science & Emerging Technologies**, v. 6, p. 107-114, 2005.

SOUZA, A. L. R.; RODRIGUES, F. M.; SILVA, G. V.; SANTOS, R. R. Microencapsulação de sucos e polpas de frutas por *spray drying*: uma revisão. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 17, n. 3, p. 327-338, 2015.

SOUZA, C. O.; MELO, T. R. B.; MELO, C. S. B.; MENEZES, E. M.; CARVALHO, A. C.; MONTEIRO, L. C. R. *Escherichia coli* enteropatogênica: uma categoria diarreioígenica versátil. **Revista Pan-Amazonica de Saúde**, v. 7, n. 2, p. 79-91, 2016.

SOUZA, W. D. M.; OLIVEIRA, T. M. B. F.; OLIVEIRA, D. S.; ALVES, J. J. F. Aplicação da casca de laranja para a remoção de metais pesados: uma revisão. **Química: ciência, tecnologia e sociedade**, v. 4, n. 1, p. 69-87, 2015a.

SPINELLI, S.; LECCE, L.; LIKYOVA, D.; DEL NOBILE, M. A.; CONTE, A. Bioactive compounds from orange epicarp to enrich fish burgers. **J. Sci. Food Agric.**, v. 98, n. 7, p. 2582-2586, 2018.

STORCK, C. R.; NUNES, G. L.; OLIVEIRA, B. B.; BASSO, C. Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais: composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações. **Ciência Rural**, v. 43, n. 3, p. 537-543, 2013.

STORCK, C. R.; BASSO, C.; FAVARIN, F. R.; RODRIGUES, A. C. Qualidade microbiológica e composição de farinhas de resíduos da produção de suco de frutas em diferentes granulometrias. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 4, p. 277-284, 2015.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **UNOPAR**, v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012.

SURYAWANSHI, J. A. S. An overview of *Citrus aurantium* used in treatment of various diseases. **African Journal of Plant Science**, v. 5, n. 7, p.390-395, 2011.

SUTTER, S. C.; BUERA, M. P.; ELIZALDE, B. E. β -carotene encapsulation in a mannitol matrix as affected by divalent cations and phosphate anion. **International Journal of Pharmaceutics**, v.332, p. 45-54, 2007.

SWAIN, T.; HILLIS, W.E. The phenolic constituents of prunus domestica. The quantitative analysis of phenolic constituents. **J. Sci. Food Agric.**, v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959.

Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO. 4. ed. rev. e ampl. Campinas: UNICAMP/NEPA, 2011. 161 p.

TANAKA, Deise Luciane. **Influência da desidratação por *spray drying* sobre o teor de ácido ascórbico no suco de acerola (*Malpighia ssp*)**. 2007. 73 f. Dissertação (Alimentos e Nutrição, Área de Ciência de Alimentos), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.

TUCKER, C.; LOCATELI, G.; CORREA, V. G.; KOEHNLEIN, E. A. Avaliação da ingestão de nutrientes antioxidantes pela população brasileira e sua relação com o estado nutricional. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 20, n. 1, p. 30-42, 2017.

United States Department of Agriculture (USDA). Food composition Databases. 2013.

VIEIRA, A. J.; BESERRA, F. P.; SOUZA, M. C.; TOTTI, B. M.; ROZZA, A. L. Limonene: aroma of innovation in health and disease. **Chemico-Biological Interactions**, v. 283, p. 97-106, 2018.

WANG, X.; UOYANG, Y. Y.; LIU, J.; ZHAO, G. Flavonoid intake and risk of CVD: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. **British Journal of Nutrition**, v. 111, n. 1, p. 1-11, 2013.

World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Geneva: WHO; 2003.

World Health Organization. Fruit and vegetables for health. Report of a Joint FAO/WHO Workshop 1-3 September 2004. Kobe: WHO; 2004.

YOUSEFI, S.; EMAM-DJOMEH, Z.; MOUSAVI, S. M. Effect of carrier type and spray drying on the physicochemical propriets of powdered and reconstituted pomegranate juice (*Punica Granatum* L). **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 6, p. 677-684, 2011.

ZAMBIAZI, R.C.; The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability. 1997. Food and Nutritional Scienses Interdepartamental Program. Universiy of Manitoba Winnipeg, Manitoba, Canada. 304p. April 1997.

ZERO, R. C.; RODRIGUES, J. O. *Salmonella*: riscos, transmissões e controle na cadeia de produção suína – revisão de literatura. **Nucleus Animalium**, v. 9, n. 1, p. 129-142, 2017.

ZHAO, W.; LIU, L.; XU, S. Intake of citrus fruits and risk of esophageal cancer: a mata-analysis. **Medicine**, v. 97, n. 13, p. 1-11, 2018.

ZOU, Z.; XI, W.; HU, Y.; NIE, C.; ZHOU, Z. Antioxidant activity of citrus fruits. **Food Chem.**, v. 196, p. 885-896, 2016.