



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE CENTRO DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR PRGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM SISTEMAS AGROINDUSTRIAIS**

YAROSLÁVIA FERREIRA PAIVA

PIMENTÕES (*Capsicum annuum*) COMO ADITIVO ALIMENTAR

**Pombal, Paraíba
2018**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE CENTRO DE CIÊNCIAS
E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR PRGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
SISTEMAS AGROINDUSTRIAIS**

YAROSLÁVIA FERREIRA PAIVA

PIMENTÕES (*Capsicum annuum*) COMO ADITIVO ALIMENTAR

Dissertação apresentada como requisito ao título de
Mestre em Sistemas Agroindustriais pela
Universidade Federal de Campina Grande.

ORIENTADOR: D.SC. EVERTON VIEIRA DA SILVA

**Pombal, Paraíba
2018**

P149p Paiva, Yaroslávia Ferreira.

Pimentões (*Capsicum annuum*) como aditivo alimentar / Yaroslávia Ferreira Paiva. – Pombal, 2018.

71 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, 2018.

"Orientação: Prof. Dr. Everton Vieira da Silva".

Referências.

1. Pimentão (*Capsicum annuum*). 2. Corante Natural e Extratos – Pimentões. 3. Pimentões – Antioxidantes. I. Silva, Everton Vieira da. II. Título.

CDU 635.649(043)



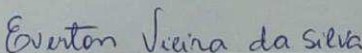
Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar



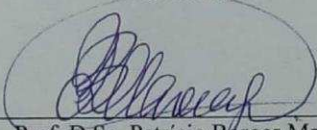
CAMPUS DE POMBAL
PIMENTÕES (*Capsicum annum*) COMO ADITIVO ALIMENTAR

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Pombal-PB, em cumprimento às exigências para obtenção do Título de Mestre (M.Sc.) em Sistemas Agroindustriais.

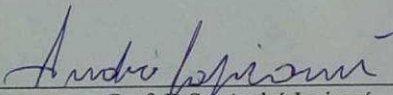
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. D.Sc. Everton Vieira da Silva
Orientador



Prof. D.Sc. Patrício Borges Maracajá
Examinador Interno



Prof. D.Sc. André Japiassú
Examinador Externo

Pombal - PB, 10 de setembro de 2018

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me erguer e reerguer muitas vezes, me dado forças em todos os momentos difíceis que passei pra chegar até aqui, me mostrando o quanto forte eu sou e principalmente por ter colocado pessoas especiais que fizeram tudo acontecer.

À minha família (pais, tios, avós e primos) que fizeram de tudo pra me ajudar emocionalmente durante todo o processo.

Ao meu orientador Everton Vieira da Silva que esteve comigo durante toda a graduação como co-orientador e amigo, por ter aceitado a responsabilidade de me orientar nessa etapa do mestrado, mesmo com todas as adversidades.

Ao professor e coordenador do mestrado Patrício Borges Maracajá, por todo o suporte emocional, laboratorial e burocrático, além das risadas, da amizade, dos ensinamentos e do estímulo constante. Tenho imenso carinho e gratidão por tudo o que fez por mim e pelos demais alunos.

Aos professores e técnicos do CCTA/UFCG Andrea Brandão, Luis Fernando, Tiago Cardoso, Anderson Clayton, Jeanne Medeiros, Sthelio Braga, Bruno Meireles, Caciana Cavalcanti, Luiz Gualberto, Ewerton Marinho e Wélida Venceslau que permitiram essa pesquisa doando ou trocando reagentes e/ou cedendo os seus laboratórios e conhecimentos.

Ao meu parceiro e amigo de pesquisa e vida Plínio Tércio, por ter sido meu porto seguro, compartilhado comigo todos os altos e baixos da vida acadêmica e pessoal, participando de todas as análises, desde o planejamento à tabulação dos dados, dormido tarde e acordando cedo, trabalhando nos finais de semana e feriados, comendo quentinha, aguentando minhas crises e tudo isso me dando um apoio surreal, quando qualquer um no lugar dele teria ido embora à primeira oportunidade. Serei eternamente grata por toda amizade, lealdade, carinho, estímulo e compreensão doados até aqui.

À minha melhor amiga, Taty Carvalho, que mesmo longe e sem entender nada da minha área, me apoiou diariamente nesses 14 anos de amizade e durante toda

graduação/mestrado, doando amor, paciência e compreensão como sempre. E por último, por me ajudar a rir dos meus próprios problemas, quando eu esquecia.

Aos meus amigos Kevison França e Leonardo Prado por todo apoio, companheirismo, amor e auxílio entregue a mim e a minha pesquisa. Sem vocês eu não teria conseguido.

As minhas amigas Ágda Forte, Fabiana Thais e Hévila Gomes por todo o apoio na realização das análises e pelo empenho em manter minha “cadeia de escuro”.

À Aline Carla que me auxiliou em tudo o que estava ao seu alcance, para que eu conseguisse terminar o mestrado e obter aprovação no doutorado, além dos conselhos e amizade.

Ao secretário do mestrado Normando Canuto, por ser meu psicólogo nas horas vagas, me ouvindo e aconselhando, além da colaboração me explicando milhões de vezes as burocracias necessárias.

Por último, a CAPES e FAPESQ pela contribuição financeira, através da bolsa do mestrado direcionada a mim.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	14
2.1. OBJETIVO GERAL	14
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
4. METODOLOGIA	25
4.1. OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA	25
4.2. OBTENÇÃO DO FARELO	26
4.3. OBTENÇÃO DOS CORANTES	26
4.4. CARACTERIZAÇÃO DOS CORANTES	27
4.4.1. Análises físico-químicas	27
4.4.2. Compostos bioativos	29
4.5. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS	32
4.6. CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS	32
4.6.1. Compostos bioativos	32
4.6.2. Atividade antioxidante	32
4.7. ELABORAÇÃO DOS IOGURTES ADITIVADOS COM CORANTES.....	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1. CARACTERIZAÇÃO DOS CORANTES	40
5.2. CARACTERIZAÇÃO DOS IOGURTES ADITIVADOS COM CORANTES DE PIMENTAO VERDE E VERMELHO	45
5.3. CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS	54
6. CONCLUSÃO	59
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulação dos iogurtes naturais.	34
Tabela 2. Características físico-químicas dos corantes alcoólicos obtidos a partir dos pimentões verde e vermelho.	40
Tabela 3. Caracterização microbiológica dos iogurtes elaborados com e sem adição de corantes.	54
Tabela 4. Teores de clorofilas e carotenoides dos extratos de pimentões verdes e vermelhos.	55
Tabela 5. Teores de flavonoides e antocianinas dos extratos de pimentões verdes e vermelhos.	56
Tabela 6. Atividade antioxidante dos extratos de pimentões verdes e vermelhos.	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Procedimentos de limpeza (a), sanitização (b) e retirada dos pedúnculos dos pimentões verdes <i>in natura</i> (c).	25
Figura 2. Procedimentos para obtenção do farelo do pimentão vermelho.	26
Figura 3. Corantes alcoólicos dos pimentões nos dois estádios de maturação (verde e vermelho).	27
Figura 4. Iogurtes elaborados.	34
Figura 5. Processo de incorporação dos corantes alcoólicos aos iogurtes (a) e iogurtes aditivados (b).	35
Figura 7. Compostos bioativos presentes nos corantes alcoólicos obtidos a partir dos pimentões verde (CVD) e vermelho (CVM).	42
Figura 8. Compostos fenólicos presentes nos corantes alcoólicos obtidos a partir dos pimentões verde (CVD) e vermelho (CVM).	44
Figura 9. Valores de pH dos iogurtes elaborados.	46
Figura 10. Valores de acidez dos iogurtes elaborados.	47
Figura 11. Valores de sólidos solúveis dos iogurtes elaborados.	48
Figura 12. Valores de umidade dos iogurtes elaborados.	49
Figura 13. Teores de cinzas dos iogurtes elaborados.	50
Figura 14. Valores de proteínas dos iogurtes elaborados.	51
Figura 15. Valores de lipídios dos iogurtes elaborados.	52
Figura 16. Valores de açúcares redutores e não redutores dos iogurtes elaborados.	53

RESUMO

Os frutos da espécie *Capsicum annuum* L são fontes importantes de compostos bioativos como carotenoides, flavonoides, compostos fenólicos, além de vitamina E e uma excelente atividade antioxidante, onde esses componentes variam de acordo com seu estágio de maturação e consequente coloração. É bastante procurado pela indústria alimentícia, por suas características de cor e aroma, bem como pela sua versatilidade. Dessa maneira, objetivou-se obter e caracterizar corantes naturais e extratos de pimentões no primeiro e último estágio de maturação, além de avaliar a funcionalidade dos mesmos. Para isso, foram extraídos corantes alcoólicos de ambos os pimentões e analisados em relação aos atributos físico-químicos, microbiológicos e ao teor de compostos bioativos presentes, além de serem aplicados em iogurtes naturais elaborados, onde os mesmos também foram caracterizados através de análises físico-químicas e microbiológicas. Além disso, foram obtidos extratos alcoólicos, hidroalcoólicos e aquosos dos pimentões em ambos os estágios de maturação, sendo avaliados em relação ao teor de compostos bioativos e atividade antioxidante (compostos fenólicos e ABTS). Os aditivos obtidos possuem níveis acentuados de compostos bioativos e uma atividade antioxidante considerável. Os iogurtes elaborados apresentaram resultados dentro do permitido pela legislação tanto para caracterização físico-química, quanto microbiológica, onde a adição dos corantes aos mesmos não foi responsável por modificar suas características nutricionais, apresentando eficiência em relação a sua ação como aditivo. Os solventes que apresentaram maior capacidade de arraste foram o álcool etílico e álcool etílico + água deionizada, na proporção de 70/30. Sendo assim, os resultados obtidos evidenciam a possibilidade de utilizar os pimentões em ambos os estágios de maturação como aditivos naturais, tanto como corantes, quanto como agentes antioxidantes, em substituição aos aditivos sintéticos.

Palavras-chaves: *Capsicum annuum*, corante natural, antioxidantes, extratos.

ABSTRACT

The fruits of the *Capsicum annum* L species are important sources of bioactive compounds such as carotenoids, flavonoids, phenolic compounds, as well as vitamin E and an excellent antioxidant activity, where these components vary according to their stage of maturation and consequent staining. It is highly sought after by the food industry, its color and aroma characteristics, as well as its versatility. In this way, the objective was to obtain and characterize natural dyes and extracts of peppers in the first and last stage of maturation, in addition to evaluating their functionality. For this purpose, alcoholic dyes were extracted from both peppers and analyzed for physico-chemical, microbiological and bioactive compounds content, as well as elaborated natural yogurts, where they were also characterized by physical- chemical and microbiological. In addition, alcoholic, hydroalcoholic and aqueous extracts of the peppers were obtained in both stages of maturation, being evaluated in relation to the content of bioactive compounds and antioxidant activity (phenolic compounds and ABTS). The additives obtained have marked levels of bioactive compounds and a considerable antioxidant activity. The elaborated yoghurts presented results within the allowed by the legislation for both physicochemical and microbiological characterization, where the addition of the dyes to them was not responsible for modifying their nutritional characteristics, presenting efficiency in relation to its action as additive. The solvents with the highest drag capacity were ethyl alcohol and ethyl alcohol + deionized water, in the proportion of 70/30. Therefore, the results show the possibility of using the peppers in both stages of maturation as natural additives, both as dyes and as antioxidants, replacing the synthetic additives.

Keywords: *Capsicum annum*, natural coloring, antioxidants, extracts.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, vêm ocorrendo algumas mudanças nos hábitos alimentares da população em geral, que passaram a se interessar mais pela qualidade dos alimentos que consomem, buscando a aquisição de produtos naturais e saudáveis, porém, sem deixar a praticidade de lado. Além disso, segundo Gomes (2012) a utilização de aditivos sintéticos com a finalidade de aumentar a vida útil dos alimentos tem gerado questionamentos quanto aos possíveis danos causados à saúde humana. A indústria alimentícia por sua vez, vem buscando descobrir substâncias naturais que aliem a segurança (em relação à ausência de perigos para os consumidores) e eficiência (quanto à manutenção das características dos produtos ao longo do tempo) (DALL'AGNOL et al 2013).

Segundo a ANVISA, aditivo alimentar é qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante qualquer etapa, desde a fabricação à distribuição e consumo (BRASIL, 2007).

Algumas substâncias naturais podem ser eficazes quando utilizados como aditivos, entre outras muitas aplicações, a exemplo de alguns compostos bioativos presentes nas plantas (BEZERRA et al. 2017). A partir disso, há um crescente aumento nas pesquisas sobre substâncias presentes na fauna e na flora, que possam agir como aditivos naturais.

Nesse contexto, os frutos da espécie *Capsicum annuum* L são fontes importantes de compostos bioativos como carotenoides (GOMES, 2012), flavonoides, compostos fenólicos, além de vitamina E e uma excelente atividade antioxidante (SUN et al., 2007), onde esses componentes variam de acordo com seu estágio de maturação e consequente coloração.

Esse fruto destaca-se entre as solanáceas pelo seu consumo e importância econômica (ALVES, 2006), sendo que no Brasil, é uma das dez hortaliças com maior importância econômica em relação a valor e volume comercializado, sendo produzido em todo o território nacional (ECHER et al., 2002; FILGUEIRA, 2008). Toda essa

relevância econômica deve-se a fatores como a sua ampla variedade de formas, tamanhos, cores e pungências (NOGUEIRA, 2013), além das suas características nutricionais.

Devido às suas características aromáticas e corantes, é bastante procurado pela indústria alimentícia (ROMO-HUALDE et al., 2012), bem como pela sua versatilidade, apresentando possibilidade de adaptação a diferentes tipos de utilizações culinárias e industriais (NOGUEIRA, 2013).

Apesar dos frutos de pimentão já estarem caracterizados do ponto de vista nutricional, poucos estudos têm sido conduzidos sobre os seus teores de compostos bioativos e suas propriedades antioxidantes, aliados ao estágio de maturação e coloração. Dessa forma, faz-se necessário a realização de pesquisas com intuito de avaliar a possibilidade desses frutos como aditivos naturais, as quais contribuirão tanto para a literatura da área, quanto para as indústrias de alimentos.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar as potencialidades do pimentão no primeiro e último estágio de maturação como aditivo alimentar.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Adquirir amostras de pimentões no seu primeiro e último estágio de maturação;
- Submeter as amostras à redução de umidade em estufa microprocessada com circulação de ar;
- Obter corantes alcoólicos e extratos (alcoólicos, hidroalcoólicos e aquosos) a partir do farelo obtido;
- Caracterizar os corantes quanto ao teor de compostos bioativos, compostos fenólicos e condições microbiológicas;
- Aplicar os corantes em iogurtes e avaliar sua funcionalidade;
- Avaliar a qualidade dos iogurtes produzidos, através de análises físico-químicas e microbiológicas;
- Avaliar os extratos obtidos quanto ao teor de compostos bioativos e atividade antioxidante;

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. PIMENTÃO (*Capsicum annuum*)

Pertencente à família das Solanáceas, o pimentão (*Capsicum annuum*) é natural do continente americano (SOUZA et al., 2011), sendo cultivado como cultura anual ou perene em diversos países tropicais, ambientes temperados ou em climas mais frios. Contudo, Nogueira (2013) enfatiza que nesses dois últimos casos, o cultivo só é possível com utilização de estufas.

Esse fruto destaca-se entre as solanáceas pelo seu consumo e importância econômica principalmente em países como os Estados Unidos, México, Itália, Japão e Índia (ALVES, 2006). No Brasil, é uma das dez hortaliças com maior importância econômica em relação a valor e volume comercializado, sendo produzido em todo o território nacional (ECHER et al., 2002; FILGUEIRA, 2008), com cerca de 13 mil hectares de área cultivada e produção próxima a 290 mil toneladas de frutos anualmente (SOUZA et al., 2011). As maiores áreas de plantio estão localizadas na região Sudeste (EMBRAPA HORTALIÇAS, 2011; SOUZA et al., 2011) com destaque para o estado do Rio de Janeiro que produz cerca de 26,4 toneladas por ano (CESAR et al., 2007). No Nordeste, o estado da Paraíba é o segundo principal produtor, perdendo apenas para Pernambuco (CEASA-PE, 2005).

Toda essa relevância econômica deve-se a fatores como a sua ampla variedade de formas, tamanhos, cores e pungências (NOGUEIRA, 2013), além das suas características nutricionais. Em relação à forma, o fruto pode ser cônico, cilíndrico ou cúbico (SOUZA et al., 2011). Suas cores variam desde o verde, amarelo-leitoso, amarelo-forte, alaranjado, salmão, vermelho, roxo até preto, podendo ser explicado pelas suas diferentes composições nutricionais, grau de maturação e variedade genética (NOGUEIRA, 2013).

Em relação à comercialização, 70% são de frutos verdes e 30% de maduros (HENZ et al., 2007). Entretanto, é considerável a demanda por pimentões coloridos que

apresentam maior valor no mercado (SEDIYAMA et al., 2014), pela excentricidade (LEME, 2008).

No que se refere às características nutricionais, Nogueira (2013) aponta o pimentão como um dos vegetais mais nutritivos, sendo rico em macro e micronutrientes. No geral, possuem alto teor de vitamina C, podendo atingir cerca de 180 mg de ácido ascórbico por cada 100g de fruto, apresentando maiores teores que os encontrados nas frutas cítricas (FILGUEIRA, 2008). É rico em compostos bioativos como carotenoides (GOMES, 2012), flavonoides, compostos fenólicos, além de vitamina E e uma excelente atividade antioxidante (SUN et al., 2007).

Seus componentes variam de acordo com seu estágio de maturação e consequente coloração. Assim, Sun e seus colaboradores (2007) ressaltam que no seu primeiro estágio de maturação, o pimentão apresenta alto teor em clorofila pela sua coloração verde. Contudo, durante o amadurecimento são sintetizados vários compostos, entre os quais o α - e β -caroteno, abundantes no pimentão amarelo (SUN et al., 2007) e os carotenoides capsantina e capsorubina, presentes no pimentão vermelho (GOMES, 2012). Outro fator que está diretamente relacionada à coloração é a atividade antioxidante dessa hortícola (SUN et al., 2007).

Os frutos da espécie *Capsicum annuum* L. são fontes importantes de antioxidantes naturais como vitamina C, carotenoides, vitamina E (ALMEIDA, 2012), flavonoides e compostos fenólicos (SUN et al., 2007). Esses componentes podem apresentar benefícios à saúde, no tratamento e prevenção de doenças (CUNHA, 2010; SANTOS, 2009), reduzindo as reações de oxidação no corpo humano e assim prevenindo várias enfermidades como as doenças cardiovasculares, câncer, desordens neurológicas (SUN et al., 2007), catarata, mal-de-Parkinson e mal-de-Alzheimer (ALMEIDA, 2012).

O pimentão é muito utilizado na culinária de todo o mundo (GOMES, 2012), podendo ser consumido verde ou maduro, fresco ou cozido, (NOGUEIRA, 2013) e mesmo industrializado, em forma de pó (ALVES, 2006), na fabricação de condimentos, molhos (CARVALHO et al., 2011), ou em conserva, na forma de “pickles” (pimentão em calda de vinagre) (NOGUEIRA, 2013).

Devido às suas características aromáticas e corantes, é bastante procurado pela indústria (ROMO-HUALDE et al., 2012), podendo ser transformados em especiarias (pimentão-doce) (CUNHA, 2010) sendo utilizado na extração de corantes e corantes alimentares (SHOGWE et al., 2010; SOUZA et al., 2011). As massas ou produtos desidratados e convertidos em pó (colorau) servem como corante e aromatizante na culinária e na indústria alimentícia (NOGUEIRA, 2013).

Gomes (2012) aponta que os frutos do pimentão vermelho são utilizados, desde os tempos antigos, como fonte de pigmentos para adicionar ou modificar a coloração dos produtos alimentícios. A capsantina é o principal carotenoide do *Capsicum annum*, usado como corante, não só devido à sua cor, mas também ao aroma (RAMÍREZ et al., 2015), estando presentes também outros pigmentos como zeaxantina, β -criptoxantina, violaxantina, anteraxantina e β -caroteno (SCHWEIGGERT et al., 2007). Esses são empregados como corantes em diversas linhas de produtos como molhos, sopas em pó de preparo instantâneo e embutidos cárneos, além de também serem utilizados na nutrição animal, em ração para aves (RIBEIRO; CRUZ, 2002).

Nogueira (2013) enfatiza que graças a sua versatilidade, o pimentão apresenta facilidade de adaptação a diferentes tipos de utilizações culinárias e industriais, sendo consumido em todo o mundo.

3.2. ADITIVOS ALIMENTARES

Apesar de existirem algumas definições para o termo aditivo alimentar, todas partem da mesma perspectiva. Uma dessas é da ANVISA (BRASIL, 1997) que apresenta aditivo alimentar como qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante qualquer etapa, desde a fabricação à distribuição e consumo. Outra muito utilizada é que aditivo alimentar é toda e qualquer substância que é acrescentada ao alimento com o intuito de impedir alterações, manter, conferir ou intensificar suas características organolépticas, podendo atuar também na modificação ou manutenção de seu estado físico por certos períodos (FAO, 1974; 1995).

Contudo, Silva (2017) ressalta que as definições acima ainda não apresentam todas as funções dos aditivos, pois estudos recentes têm demonstrado que alguns são capazes de expandir as características organolépticas e/ou nutricionais dos alimentos.

Eles podem ser classificados de acordo com sua função em: agentes conservantes (antioxidantes ou antimicrobianos), acidulantes, emulsificantes, estabilizantes, espessantes, umectantes, anti-umectantes, corantes, flavorizantes (realçadores de sabor) e adoçantes (BRASIL, 2009). Atuando em várias funções, eles veem sendo utilizados há séculos, sempre estando presentes na dieta dos seres humanos, desde as civilizações antigas que empregavam o sal para conservar produtos cárneos, o enxofre para auxiliar na conservação dos vinhos, como das ervas e temperos para aprimorar o sabor (AUN et al., 2011).

O fato é que, independente da definição ou classificação eles desempenham um papel importante no desenvolvimento dos alimentos (HONORATO et al, 2013), apresentando-se como um novo modo de conservar, aumentando a vida de prateleira (CONTE, 2016), tornando possível a comercialização em grande escala e por longas distâncias. Consequentemente, o emprego de aditivos tornou-se indispensável na elaboração e preservação dos alimentos (SANTOS; SANTOS, 2008). Elas são cada vez mais utilizadas e nos dias atuais é praticamente impossível encontrar um produto alimentício sem essas substâncias em sua composição (AUN et al., 2011).

No entanto, apesar das vantagens sua utilização vem sendo questionada (HONORATO et al., 2013), resultando da controvérsia entre a necessidade e a segurança (ANASTÁCIO et al, 2016), pois caso sejam mal utilizados, podem disfarçar ou mascarar produtos mal processados ou até impróprios para o consumo, acarretando assim problemas para saúde humana (ABRANTES et al., 2007).

Há ainda outros enigmas envolvendo a adição dessas substâncias, pois segundo Albuquerque e seus colaboradores (2012) existem dados na literatura que relacionam doenças como o câncer, desenvolvimento de alergias e hiperatividade, além de déficit de atenção (POLÔNIO, PERES, 2009) a alguns aditivos. Bissacotti, Angst e Saccol, (2015) advertem sobre a ocorrência de mais um efeito colateral que é a

hipersensibilidade alimentar (alergias e intolerâncias alimentares), considerada a consequência mais comum promovida pelos aditivos.

Sendo assim, é importante destacar alguns casos onde o uso de aditivos é proibido, como: quando houver evidências ou suspeita de que o mesmo não é seguro para consumo humano, interferir desfavoravelmente no valor nutritivo do alimento, servir para encobrir falhas no processamento e/ou nas técnicas de manipulação, encobrir alteração ou adulteração da matéria-prima ou do produto já elaborado ou induzir o consumidor a erro, engano ou confusão (ALMEIDA, 2013). Por isso, seu emprego deve se restringir a alimentos e condições específicas, sendo adicionada a menor quantidade necessária para eficiência, e essa quantidade não deve ultrapassar o valor da sua Ingestão Diária Aceitável – IDA (DALL’AGNOL et al., 2013).

Para a utilização de um aditivo ser autorizada, inicialmente deve ser realizada a adequada avaliação toxicológica, considerando qualquer efeito cumulativo, sinérgico ou de proteção (ALBUQUERQUE et al., 2012), não interessando apenas as propriedades específicas que os convertem em aditivo alimentar, mas todas as suas ações colaterais e contraindicações, sobretudo as derivadas de seu uso prolongado (SALINAS, 2002). Essa avaliação é realizada pela Comissão do Codex Alimentarius, criada pela Organização para a Alimentação e Agricultura (FAO) e pela Organização Mundial da Saúde (OMS), que além de avaliar os riscos para saúde humana, determina a funcionalidade do aditivo e em quais alimentos ele pode ser empregado, além de determinar as quantidades máximas, ou seja, a Ingestão Diária Aceitável (IDA) (CODEX ALIMENTARIUS, 2013). A reavaliação dessas substâncias é realizada periodicamente, quando surgem novas informações científicas ou tecnológicas que modifiquem as persuasões anteriores (BISSACOTTI, ANGST e SACCOL, 2015).

No entanto, essas avaliações não garantem que todos os aditivos químicos sejam seguros à saúde dos consumidores (INMETRO; IDEC, 2002), não sendo possível controlar a quantidade ingerida dessas substâncias, que estão contidas na composição de muitos alimentos e vários desses produtos são consumidos diariamente por muitas pessoas (POLÔNIO, 2010). Por essa razão, Santos et al. (2008) recomendam que para haver uma redução na exposição a aditivos químicos é preciso diversificar as marcas

dos alimentos industrializados consumidos, variando assim a quantidade e as substâncias ingeridas.

Levando em consideração as discursões sobre os aditivos químicos e a mudança nos hábitos alimentares da população mundial, nas últimas décadas a comunidade acadêmica e os órgãos governamentais têm angariado esforços (GOMES, 2012), na busca por aditivos que exerçam com eficiência suas funções e que não prejudique a saúde do consumidor (SILVA, 2017). A partir disso, há um aumento nas pesquisas sobre substâncias presentes na fauna e na flora, que possam agir como aditivos naturais.

3.3. CORANTES ALIMENTÍCIOS

Os seres humanos são, instintivamente, seduzidos pelas cores (MONTEIRO, 2016), tratando-se da principal característica organoléptica capaz de atrair as pessoas, seguido pelo aroma (MEINICKE, 2008). Por serem os primeiros atributos avaliados na hora da aquisição (GOMES, 2012), estão diretamente ligados à aceitação ou rejeição de um determinado produto (FABRI e TERRAMOTO, 2015). Gomes (2012) afirma que de nada adianta um alimento ter todas as condições necessárias para o consumo e não ser atraente, pois desse modo não ocorrerá o interesse pela compra do mesmo.

Alimentos com cores agradáveis geram sensações sensoriais prazerosas aos consumidores (MONTEIRO, 2016), que relacionam essas sensações à qualidade do alimento, como estágio de maturação e frescor (FENNEMA, 2010), causando uma perspectiva saudável dos produtos. No entanto, a cor e o aroma na maioria das vezes são sensíveis à luz, ao calor, oxigênio e acidez, fatores esses que provocam mudanças ou perdas durante alguma etapa do processamento (MEINICKE, 2008). Sendo assim, o ato de colorir os alimentos é praticado desde a antiguidade (FABRI e TERRAMOTO, 2015), com a finalidade de devolver a aparência original, conferir e/ou intensificar as cores presentes nos alimentos (CONSTANT; STRINGUETA; SANDI, 2002).

Levando em consideração a aceitabilidade, o uso de corantes em produtos industrializados é justificado (MEINICKE, 2008), sendo eles um dos aditivos mais empregados na indústria alimentícia (ANASTÁCIO et al., 2016). São definidos pela

legislação brasileira (BRASIL, 1977) como a substância ou a mistura de substâncias que possuem a propriedade de conferir ou intensificar a coloração de alimento (e bebida). Ainda de acordo com Brasil (1977), podem ser classificados como: corante orgânico natural, corante orgânico sintético, corante artificial, corante orgânico sintético idêntico ao natural, corante inorgânico e caramelo.

São produzidas mundialmente, aproximadamente 700.000 toneladas/ano de 10.000 diferentes tipos de corantes e pigmentos, desenvolvidos para os mais diferentes processos industriais (HABIBI et al., 2005). No Brasil existem doze corantes alimentícios permitidos pela legislação (ANASTÁCIO et al. 2016), sendo eles os dos grupos *azo* (bordeaux S ou amaranço, amarelo crepúsculo, azorrubina, ponceau 4R, tartrazina e vermelho 40) e *trifenilmetano* (azul brilhante, azul patente V, verde rápido e eritrosina) (GOMES, 2012).

Até o final do século XVIII os pigmentos naturais eram a única fonte de cor disponível (CRISTEA; VILAREM, 2006). No entanto, de lá pra cá a relação do mundo com os pigmentos mudaram, visto que surgiram os sintéticos, tornando-se bem mais difundidos por uma série de fatores como maior estabilidade, menor custo de produção e por serem mais brilhantes que a maioria dos naturais (KOBYLEWSKI; JACOBSON, 2010).

Apesar das vantagens relatadas, pesquisas de cunho científico vêm constantemente pondo em dúvida o uso dos corantes artificiais em alimentos, levando em consideração os efeitos maléficos que a ingestão desses pode ocasionar na saúde humana. Guimarães (2010) adverte que o consumo desses aditivos apresentam efeitos agudos em curto prazo, sendo capazes de evoluir para crônicos em longo prazo. Muitos dos problemas de saúde, como alergias, rinite, broncoconstrição, hiperatividade, danificação cromossômica, tumores, entre outros, têm sido reportados por diversos autores (MARMITT; PIROTTA; STÜLP, 2010). O corante amarelo crepúsculo, por exemplo, pode desencadear reações como angioedema, vasculite, púrpura e choque anafilático (FREITAS, 2012). Além disso, ainda podem gerar sérios impactos ambientais causados pela extração dos mesmos (CHANDER e ARORA, 2007; COUTO, 2009).

A pressão do mercado provocada por mudanças nas preferências da população exigiu alterações na legislação e na formulação de alimentos com menos ingredientes sintéticos (MONTEIRO, 2016), provocando o ressurgimento de pesquisas e ampliação da produção de corantes naturais (GRIFONI et al., 2009). Esses corantes são obtidos através de plantas (folhas, flores e frutos), animais (insetos) e micro-organismos (fungos e bactérias) (MENDONÇA, 2011), apresentando-se como produtos de recursos biológicos sustentáveis e renováveis, com baixo impacto ambiental (SHAHID; SHAHID-UL-ISLAM; MOHAMMAD, 2013). Outras vantagens são a boa confiabilidade, por não serem tóxicos e cancerígenos (VENIL; ZAKARIA; AHMAD, 2013). Além de conferir cor e não acarretar danos à saúde do consumidor, podem proporcionar outras importantes propriedades, como atividade antioxidante e anti-inflamatória, relevantes tanto para o consumidor, quanto para a indústria, que poderá associar diversas vantagens aos seus produtos (SOUZA, 2012).

Conseqüentemente, há uma variedade de produtos no mercado que adotaram os corantes naturais em suas formulações, a exemplo de bebidas, molhos, sopas, maioneses, sorvetes, temperos, massas, dentre outros (ROSSI, 2008). Ainda assim, as informações sobre a sua distribuição, viabilidade e propriedades são limitadas (MEINICKE, 2008), ao mesmo tempo em que pesquisas sobre os parâmetros que afetam a estabilidade desses aditivos, têm permitido o desenvolvimento de técnicas, que podem torna-los mais estáveis, facilitando e ampliando suas aplicações (ROSSI, 2008; REGO *et al.*, 2015).

3.4. ANTIOXIDANTES

Uma das maiores preocupações da indústria alimentícia é a estabilidade, tanto microbiológica, quanto físico-química e sensorial, necessária para que os alimentos apresentem a maior durabilidade possível. O principal fator que dificulta essa estabilidade é a oxidação lipídica, responsável por odores e sabores desagradáveis nos produtos (DEL RÉ e JORGE, 2012). Sendo assim, a solução encontrada pela indústria

para os problemas apontados é a utilização de conservantes e antioxidantes (SILVA, 2017).

Os antioxidantes são substâncias que retardam ou inibem o processo de oxidação lipídica no alimento (BRASIL, 2009), aumentando a durabilidade do mesmo (SILVA, 2017). Além disso, são capazes de reduzir lesões oxidativas nos seres humanos (POLÔNIO, 2010), podendo estar presentes como constituintes naturais ou serem adicionados intencionalmente aos alimentos (WANASUNDARA; SHAHIDI, 2005), também podem apresentar origem sintética ou natural, sendo que os sintéticos Butil-hidroxianisol (BHA), o Butil-hidroxitolueno (BHT), o Terc-butilhidroquinona (TBHQ) e o Propil Galato (PG) estão entre os mais adotados (LIMA et al., 2010) e são utilizados para diminuir a fase de propagação da reação de oxidação (ANDREO e JORGE, 2006).

Assim como para os demais aditivos, a tendência do mercado em relação aos antioxidantes é a utilização dos naturais em substituição aos sintéticos (VALENTÃO et al., 2002; AMAROWICZ et al., 2004), justificado por esses apresentarem alguma toxicidade (BAUER et al., 2001) e o inconveniente de serem voláteis, além de facilmente decompostos em altas temperaturas (ANDREO e JORGE, 2006), podendo levar a sérios problemas de saúde (LEDEVER, 1991; RAMALHO; JORGE, 2006; ALBUQUERQUE et al., 2012;). Outro fator importante é que alguns produtos naturais (como extrato de gengibre e de outros temperos) apresentaram, *in vitro*, maior atividade antioxidante que os produtos sintéticos (MURCIA et al., 2004; PAREJO et al., 2002). Por esses motivos as pesquisas em relação à atividade antioxidante de extratos vegetais ou substâncias isoladas de plantas vêm crescendo (WILLCOX; ASH, 2004; FU et al., 2011; HERVERT-HERNÁNDEZ et al., 2011).

Del Ré e Jorge (2012) afirmam que os antioxidantes naturais ocorrem em todas as plantas e em todas as suas partes como cascas, talos, folhas, frutos, raízes, flores, pólen e sementes, onde os principais compostos que possuem essa propriedade são as vitaminas C e E (SILVA et al., 2010) os compostos fenólicos, flavonóides e carotenóides, que exercem efeito antioxidante tanto *in vitro* como *in vivo* (CORDEIRO, 2013). Os compostos fenólicos apresentam uma quantidade significativa de propriedades fisiológicas, porém seu efeito mais importante tem sido atribuído à ação

antioxidante em alimentos (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006), principalmente por apresentarem-se multifuncionais como antioxidantes (PODSEDEK, 2007; KYUNGMI & EBELER, 2008).

Os vegetais e frutas cultivadas no Brasil podem ser importante fonte de antioxidantes, pois são ricos em substâncias que inibem a instalação de doenças ligadas ao estresse oxidativo (DEL RÉ; JORGE, 2012), como as já citadas anteriormente. Muitas plantas e especiarias culinárias já foram relatadas por possuírem atividades antioxidantes (YANISHLIEVA; MARINOVA; POKORNÝ, 2006; VIUDA-MARTOS et al., 2011), porém muito do potencial existente permanece inexplorado (LAGUERRE; LECOMTE; VILLENEUVE, 2007), fazendo-se necessário a extração de compostos advindos de novas fontes naturais.

Existem diversos métodos para a extração dos compostos antioxidantes em vegetais, conhecidos também como substâncias bioativas (ANDREO; JORGE, 2006). Dentre esses, podem ser citados os tradicionais métodos de extração utilizando solventes orgânicos (como água, etanol, éter e metanol) (LEAL et al., 2003; REHMAN, HABIB e SHAH, 2004). A extração com solventes de polaridades diferentes é indispensável, pois apresenta dados com os quais encontram-se os melhores métodos e solventes que apresentem maior rendimento e estabilidade aos compostos (ANDREO; JORGE, 2006), além de apresentarem a mesma funcionalidade dos antioxidantes sintéticos e de não elevar o custo do produto final, tornando viável a adição em alimentos, satisfazendo as necessidades da indústria e dos consumidores (SILVA, 2017).

4. METODOLOGIA

4.1. OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

Os pimentões tanto verdes quanto vermelhos, foram obtidos na feira livre do município de Pombal no Estado da Paraíba e transportados para ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos e para o Laboratório de Química do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, da Universidade Federal de Campina Grande (CCTA/UFCG), onde ocorrerão todas as etapas de avaliação e posterior beneficiamento.

Inicialmente foi realizada uma seleção de acordo com estágio de maturação, coloração e ausência de injúrias dos pimentões. Em seguida, os mesmos foram lavados em água corrente para retirada das sujidades do campo, sanitizados com solução de 200 mL de hipoclorito de sódio em 10 L de água, por um período de 20 minutos. Posteriormente, os pimentões foram lavados em água destilada em três repetições, para retirada total do sanitizante. Durante esse processo, também foram retirados os pedúnculo e as sementes, manualmente. Os mesmos procedimentos foram realizados para os pimentões verdes (Figura 1) e vermelhos.

Figura 1. Procedimentos de limpeza (a), sanitização (b) e retirada dos pedúnculos dos pimentões verdes *in natura* (c).



Fonte: Autora (2018).

4.2. OBTENÇÃO DO FARELO

Para obtenção do farelo, os pimentões sem os pedúnculos e sementes foram cortados em tiras de aproximadamente 2 cm de largura e submetidos a processos de secagem utilizando estufa microprocessada de secagem e esterilização com circulação de ar a uma temperatura de 60°C no qual permaneceram por 2 horas e depois a 55°C até que as mesmas atinjam um valor médio de umidade entre 7 e 10%, conforme metodologia descrita em Spoto (2006). Após a secagem, os pimentões foram moídos em moinho de facas com 4 laminas de aço inoxidável e peneira de 10 mesh (Figura 2).

Figura 2. Procedimentos para obtenção do farelo do pimentão vermelho.



Fonte: Autora (2018).

4.3. OBTENÇÃO DOS CORANTES

As extrações dos corantes foram realizadas na proporção de 1:8 (amostra:

solvente) e o solvente utilizado foi o álcool etílico (99,5%). As amostras foram homogeneizadas durante uma hora, sendo posteriormente deixadas em repouso durante 24 horas. Em seguida foram filtradas em funil de Büchner com auxílio de uma bomba de vácuo. Posteriormente, o líquido proveniente da filtração foi submetido à extração por meio do equipamento Rotaevaporador a uma temperatura de 60°C por 2 horas. Os corantes obtidos (Figura 3) foram coletados em recipientes de vidro envolvidos com papel alumínio para proteger da luz e estocado em refrigerador a uma temperatura de -5 °C (TORRES et al., 2002).

Para conseguir o máximo de corante, o álcool etílico recuperado durante a extração foi adicionado novamente na amostra residual para uma nova extração, onde foram submetidos aos mesmos procedimentos descritos anteriormente Silva (2017).

Figura 3. Corantes alcoólicos dos pimentões nos dois estádios de maturação (verde e vermelho).



Fonte: Autora (2018).

4.4. CARACTERIZAÇÃO DOS CORANTES

4.4.1. Análises físico-químicas

4.4.1.1. Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH das amostras foi determinado através de um peagâmetro, sendo este calibrado periodicamente com soluções tampão 4,0; 7,0 e 10, de acordo com metodologia descrita por IAL (2008) e AOAC (2012).

4.4.1.2. Acidez total (%)

As amostras colocadas em erlemeyers e foram preparadas usando cerca de 5g do material e diluídas em 50 mL de água destilada, foram submetidas a agitação por 10 min, em seguida tituladas com NaOH 0,1 M até atingir a faixa de pH 8,2-8,4. Os resultados foram expressos em porcentagem, de acordo com métodos descritos em AOAC (2012).

4.4.1.3. Sólidos solúveis (°Brix)

Foi determinado de acordo com a metodologia adaptada do AOAC (2012). Para isto, pesou-se cerca de 0,5 g da amostra na qual foi adicionado 2 mL de água deionizada, sendo o conjunto mascerado até a máxima dissolução, em seguida levada a filtração simples. Com o filtrado fez-se a leitura em refratômetro digital modelo Reichert AR 200, com compensação automática de temperatura.

4.4.1.4. Umidade (Extrato seco total) (%)

O procedimento foi realizado pelo aquecimento direto em estufa a 105°C. Os cadinhos utilizados para a análise foram inicialmente tarados e acrescidos de 5g da amostra, que foi então aquecida a 105°C e pesadas a cada 2 horas, até que os cadinhos atingissem peso constante. (IAL, 2008).

4.4.1.5. Cinzas (Resíduo mineral fixo) (%)

Foi verificada através de procedimento de calcinação de aproximadamente 5 gramas da amostra em mufla. Para isto, o cadinho de porcelana foi inicialmente tarado e acrescido a amostra que é então aquecida a uma temperatura de 100 a 600 °C (aumentando 50 °C a cada hora) até o material adquirir coloração branco acinzentada (aproximadamente 10 horas), de acordo com adaptação do método recomendado pela A.O.A.C (2012) e IAL (2008).

4.4.2. Compostos bioativos

4.4.2.1. Clorofilas e carotenóides totais

Os teores de clorofilas e carotenóides totais dos corantes obtidos foram quantificados conforme métodos descritos por Lichthenthaler (1987), no qual 0,1 g da amostra será macerada em almofariz com 0,2 g de CaCO₃ e 5 mL de acetona 80%, em ambiente escuro ou luz reduzida, obtendo um extrato, que será depositado em tubo de ensaio envolvido com papel alumínio. Em seguida, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 10°C e 3000 rpm, então realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 470, 646 e 663 nm, sem que o material ficasse exposto à luz, durante as leituras.

As concentrações de clorofilas e carotenóides foram calculadas por meio da Equação 1.

Equação 1. Quantificação do teor de clorofilas e carotenóides totais.

$$\begin{aligned} \text{Clorofila a (mg/100g)} &= [(12,21 * A_{663} - 2,81 * A_{646}) / \text{massa (g)}] * 100 / 1000 \\ \text{Clorofila b (mg/100g)} &= [(20,13 * A_{646} - 5,03 * A_{663}) / \text{massa (g)}] * 100 / 1000 \\ \text{Clorofila total (mg/100g)} &= [(17,3 * A_{646} + 7,18 * A_{663}) / \text{massa (g)}] * 100 / 1000 \\ \text{Carotenóides totais (mg/100g)} &= [(1000 * A_{470} - 1,82Ca - 85,02Cb) / 198] * 100 / 1000 \end{aligned}$$

4.4.2.2. Flavonóides e antocianinas

Os flavonóides e as antocianinas dos corantes obtidos foram determinados de acordo com o método de Francis (1982), onde foi macerado 0,1 grama da amostra juntamente com 10 mL de Etanol/HCl (85:15 v/v) por um minuto e o material foi colocado em tubo de ensaio envolvido em papel alumínio, para proteger da ação da luz, deixando em repouso por 24 horas sob refrigeração. Em seguida filtrou-se e completou-se o volume para 10 mL, sendo submetidas a leituras em espectrofotômetro a 374 nm para flavonóides e 535 nm para antocianinas, sendo calculado de acordo com a Equação 2 a seguir.

Equação 2. Quantificação do teor de flavonoides e antocianinas.

$$\text{Flavonóides (mg/100g)} = (\text{Fd} \cdot \text{abs}) / 76,6$$

$$\text{Antocianinas (mg/100g)} = (\text{Fd} \cdot \text{Abs}) / 98,2$$

$$\text{Onde: Fd} = 100 / (\text{massa(g)} / \text{volume da diluição(mL)})$$

4.4.2.3. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos totais dos corantes de pimentões obtidos foram quantificados de acordo com o método de Folin-Ciocalteu, descrito por Waterhouse (2006). Para isto, foram preparados extratos com 0,2 g em 50 mL de água, sendo posteriormente filtradas. Utilizou-se então 200 µL e 400 µL dos extratos acrescidos, 1,725 µL de água destilada e 125 µL do reagente Folin-Ciocalteu, seguido de agitação e repouso por 5 minutos. Em seguida, acrescentou-se 250 µL de carbonato de sódio 20%, agitando e sendo colocado em repouso em banho maria a 40°C por 30 min. Posteriormente foram lidas em espectrofotômetro a 765 nm e os resultados foram

obtidos a partir de equação elaborada com base em curva padrão preparada anteriormente, sendo então expressos em mg de ácido gálico/100g da amostra.

4.4.3. Caracterização microbiológica

4.4.3.1. Coliformes a 35°C e a 45°C

Para a identificação do Grupo Coliforme, cada diluição foi semeada em três tubos, contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST, Himedia®, Curitiba, Brasil), para a quantificação do teste presuntivo (NMP). A incubação ocorreu em estufa bacteriológica a 35 ± 2 °C, por 24 horas e considerados positivos aqueles com turvação ou produção de gás coletado no tundo de durhan invertido. Na determinação da prova confirmativa para coliformes a 35°C, utilizou-se a técnica dos tubos múltiplos com três series de três tubos contendo Caldo Verde Bile Brillhante 2%, com incubação a 35 ± 2 °C por 24 horas. A partir dos tubos positivos, procedeu-se a repicagem para tubos contendo Caldo EC (Coliformes a 45°C), com incubação a 45 ± 1 °C por 48 horas em banho-maria com circulação de água (SILVA et al., 2010).

4.4.3.2. *Salmonella* sp. (presença ou ausência)

Para identificação de *Salmonella* sp/25g foi utilizado o meio de cultura Diferencial Àgar *Salmonella* e a incubação em estufa bacteriológica a temperatura de 35 ± 1 °C por 48 horas (SILVA et al., 2010).

4.4.3.3. *Staphylococcus* spp.

Pipetou-se assepticamente 0,1 ml das diluições de 10^{-1} 10^{-2} 10^{-3} para cada amostra, colocou-se em placas de Petri identificadas, contendo meio Baird Parker aditivado com

emulsão de gema de ovo a 50% e Telurito de Potássio a 1%, invertidas e incubadas à 35°C, por 48h.

4.5. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

As extrações foram realizadas na proporção de 1:6 (amostra: solvente) e os solventes utilizados foram o álcool etílico (99,5%) para os extratos alcoólicos, água deionizada para os extratos aquosos, 70% de álcool etílico e 30% de água deionizada para os extratos hidroalcoólicos, seguindo esta ordem de polaridade para a extração. As amostras foram homogeneizadas através de agitação mecânica durante quatro horas, sendo posteriormente filtradas em funil de Büchner com auxílio de uma bomba de vácuo. Em seguida, o líquido filtrado foi levado para secagem em estufa de circulação de ar à temperatura de 40°C, onde permaneceu até eliminação total do solvente em questão (QUEIROGA, 2018). Os extratos obtidos foram coletados em recipientes de vidro envolvidos com papel alumínio para proteger da luz e estocado em refrigerador a uma temperatura de -5 °C.

4.6. CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS

4.6.1. Compostos bioativos

Os extratos obtidos dos pimentões foram submetidos a caracterização de compostos fenólicos, através de análises de teor de clorofilas, carotenoides, flavonoides e antocianinas conforme metodologias descritas nos itens 4.4.2.1 e 4.4.2.2.

4.6.2. Atividade antioxidante

4.6.2.1. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos totais dos extratos de pimentões obtidos foram quantificados de acordo com metodologia apresentada no item 4.4.2.3.

4.6.2.2. Capacidade antioxidante – ABTS

a) Preparo do Extrato

A capacidade antioxidante (ABTS) foi analisada seguindo metodologia de Rufino et al. (2007) apenas para os extratos obtidos. Para elaboração dos extratos adicionou-se em um béquer aproximadamente 1,0 g da amostra, 4 mL de metanol 50% e ficando em repouso por 1h. Em seguida, centrifugou-se a 3.500 rpm durante 20 minutos. Filtrou-se o sobrenadante e transferiu-se para um balão volumétrico de 10 mL, o resíduo foi transferido para um Becker adicionando 4 mL de acetona 70%, deixou-se extrair por mais 1h. Em seguida repetiu-se a centrifugação e o sobrenadante foi filtrado e adicionado juntamente ao balão volumétrico que já continha o sobrenadante da primeira extração, completando o volume para 10 mL com água destilada.

b) Método ABTS

O radical ABTS foi formado pela reação da solução de ABTS 7 mM com solução de persulfato de potássio 140 mM, incubado a temperatura ambiente no escuro por 16 horas e logo depois, diluído em etanol até uma absorbância de $0,70 \pm 0,05$ nm a 734 nm. A capacidade antioxidante das amostras foi estimada a partir da mistura de 30 μ L do extrato (item 4.6.2.2 a) com 3,0 mL do radical ABTS. A leitura foi realizada após 6 minutos da reação em espectrofotômetro a 734 nm, utilizando o etanol como branco. Como referência utilizou-se o trolox para obtenção da curva padrão, conforme métodos descritos por Rufino et al (2007).

4.7. ELABORAÇÃO DOS IOGURTES ADITIVADOS COM CORANTES

Os ingredientes necessários para elaboração dos iogurtes foram adquiridos no comércio do município de Pombal, Paraíba. O leite foi submetido à pasteurização lenta, onde o mesmo foi aquecido em banho maria até atingir a temperatura de 65 °C,

permanecendo na mesma por cerca de 30 minutos, sendo então resfriado em banho de gelo até atingir temperatura de 42,5 °C, onde em seguida, foi adicionada a cultura láctea Mesophilic et Thermophilic Mélange (Ma 4002), seguido de agitação constante por dois minutos. Após agitação, foi adicionado o açúcar refinado sendo também agitado constantemente por um período de dois minutos. Em seguida, foram levados para estufa bacteriológica, onde ficarão a uma temperatura de 42,5°C por 8 horas, segundo instrução do fabricante da cultura adotada. Após obter textura característica de iogurte, os mesmos foram submetidos à refrigeração (5°C), por um período de 24 horas.

A Figura 4 apresenta os iogurtes naturais elaborados, antes da aplicação dos corantes.

Figura 4. Iogurtes elaborados.



Fonte: Autora (2018).

A formulação que foi utilizada na elaboração dos iogurtes estão dispostas na Tabela 1 a seguir.

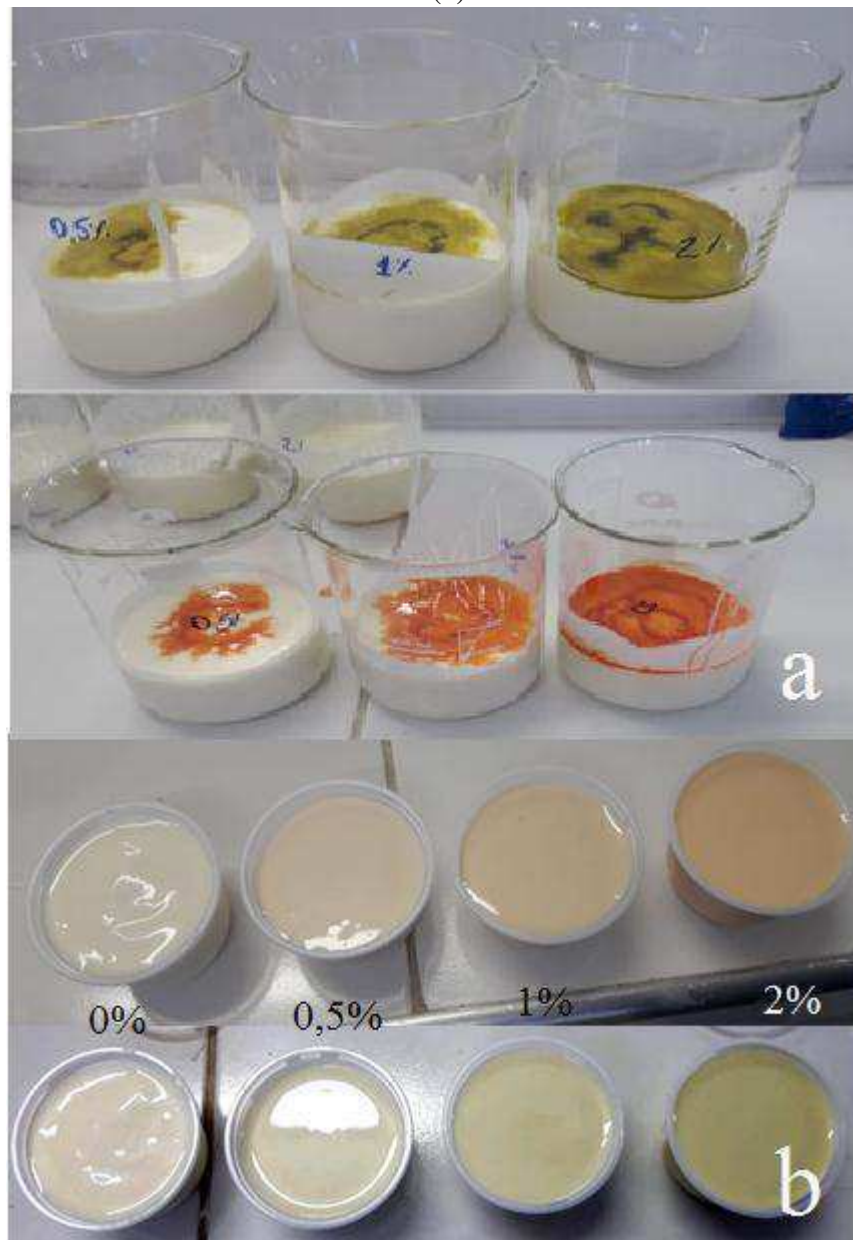
Tabela 1. Formulação dos iogurtes naturais.

Ingredientes	Formulação
Leite (mL)	1000
Açúcar cristal (g)	100
Cultura láctea (mL)	2

Após a refrigeração, o iogurte foi batido com o auxílio de uma batedeira orbital por 30 segundos, sendo adicionados 0,5%, 1,0% e 2,0% de cada um dos corantes (verde e vermelho), além de uma amostra padrão, sem corante.

O processo de aditivção dos iogurtes e os iogurtes finalizados estão apresentado na Figuras 5 a seguir.

Figura 5. Processo de incorporação dos corantes alcoólicos aos iogurtes (a) e iogurtes aditivados (b).



Fonte: Autora (2018).

4.8. CARACTERIZAÇÃO DOS IOGURTES

As amostras de iogurtes elaboradas foram avaliadas quanto às características físico-químicas e microbiológicas.

4.8.1. Análises físico-químicas

4.8.1.1. Acidez total (% ácido láctico)

A acidez das amostras de iogurtes foi avaliada de acordo com métodos descritos em AOAC (2012), no qual 10g da amostra foi dissolvida em 10 mL de água isenta de gás carbônico e titulado em hidróxido de sódio a 0,1 mol/L até pH 8,3, sendo os resultados expressos em porcentagem.

4.8.1.2. Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH das amostras foi determinado conforme metodologia descrita no item 4.4.1.1.

4.8.1.3. Sólidos solúveis (°Brix)

Foi determinado de acordo com a metodologia adaptada do AOAC (2012). Para isto, pesou-se 0,5g da amostra na qual foi adicionado 2 mL de água deionizada, sendo o conjunto mascerado até a máxima dissolução, em seguida levada a filtração simples. Com o filtrado faz-se a leitura em refratômetro digital com compensação automática de temperatura.

4.8.1.4. Umidade (Extrato seco total) (%)

O teor de umidade das amostras foi determinado conforme metodologia descrita no item 4.4.1.4.

4.8.1.5. Cinzas (Resíduo mineral fixo) (%)

O teor de cinzas das amostras foi determinado conforme metodologia descrita no item 4.4.1.5.

4.8.1.6. Lipídios (%)

A quantificação de lipídios existentes nas amostras de iogurtes foi determinada através de adaptação do método Gebber, conforme método descrito por Brasil (2006). Para tanto, foram utilizados aproximadamente 11mL de cada uma das amostras e colocadas lentamente em um butirômetro que continha previamente 10 mL de ácido sulfúrico. Em seguida, acrescentou-se 1 mL de álcool isoamílico, sendo então agitados para formar uma solução única. Logo após, foram centrifugadas por 5 minutos a 1200 rpm, onde foi verificada a diferença e calculado em porcentagem em relação a amostra inicial.

4.8.1.7. Açúcares não redutores (% Sacarose)

Os açúcares não redutores em sacarose foram determinados conforme metodologia descrita pelo IAL (2008), no qual 5 g da amostra foram misturados com 100 mL de água e acidificados com 2 mL de ácido clorídrico, sendo então aquecidas em banho-maria fervente por 15 minutos. Após resfriar em temperatura ambiente, a solução foi neutralizada com hidróxido de sódio a 30%. Em seguida, adicionou-se 5 mL de solução de sulfato de zinco a 30% e 5 mL de solução de ferrocianeto de potássio a 15%, sendo misturados e deixados em repouso por 5 minutos e em seguida, acrescentou-se 150 mL de água, sendo então filtrados, formando então o titulante. Em seguida, preparou-se uma solução a ser titulada, com 10 mL de solução de Fehling A e

B e 40 mL água, sendo o conjunto aquecido até atingir o ponto de ebulição, onde então receberam o titulante até aparecimento da coloração azul a incolor e um resíduo vermelho tijolo. Com o volume gasto, calculou-se o % de açúcares não redutores em sacarose.

4.8.1.8. Açúcares redutores (% lactose)

Os açúcares redutores em lactose foram determinados conforme metodologia descrita pelo IAL (2008), no qual 5 g da amostra foram misturados com 50 mL de água, 2 mL de solução de sulfato de zinco a 30% e 2 mL de solução de ferrocianeto de potássio a 15%, sendo misturados e deixados em repouso por 5 minutos e em seguida, acrescentou-se 50 mL de água, sendo então filtrados, formando então o titulante. Em seguida, preparou-se uma solução a ser titulada, com 10 mL de solução de Fehling A e B e 40 mL água, sendo o conjunto aquecido até atingir o ponto de ebulição, onde então receberam o titulante até surgimento da coloração azul a incolor e um resíduo vermelho tijolo. Com o volume gasto, calculou-se o % de açúcares redutores em lactose.

4.8.1.9. Proteínas (%)

O teor de proteínas foi determinado através de método de Kjeldahl. As amostras foram preparadas com 0,2 g dos iogurtes, 1,5 g dos catalisadores (sulfato de potássio e sulfato de cobre) e 3 mL de ácido sulfúrico PA, digeridas em aquecimento gradativo com taxa de aquecimento de 50°C até atingir 450°C. Após o processo de digestão o sistema foi acrescido de 40 mL água destilada, 5 mL de hidróxido de sódio 63% e fenolftaleína como indicador e destilado em um destilador de nitrogênio. O material destilado foi coletado em um recipiente contendo ácido bórico 4% e indicadores (alaranjado de metila e verde bromocresol) e em seguida, titulado com uma solução de ácido clorídrico a 0,1 M. O resultado foi expresso em porcentagem. (IAL, 2008)

4.8.2. Avaliação microbiológica

Os iogurtes foram submetidos à caracterização microbiológica preconizada pela Resolução RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001), sendo avaliados os seguintes aspectos microbiológicos: Coliformes a 35°C e 45°C, Salmonella, Fungos filamentosos e leveduras conforme metodologia de APHA (2001) e Silva et al (2010).

4.8.2.1. Coliformes A 35°C e a 45°C

A análise dos microrganismos do grupo Coliformes foi realizada conforme item 4.4.3.1.

4.8.2.2. *Salmonella* sp (presença ou ausência)

A análise de *Salmonella* sp. foi realizada conforme metodologia descrita no item 4.4.3.5.

4.8.2.3. Fungos filamentosos e leveduras (UFC/g)

Para análise de bolores e leveduras foi inoculado 0,1mL de cada diluição selecionada sobre a superfície do Àgar Potato Dextrose, sendo incubadas a 25±2°C por 5 dias (SILVA et al., 2010).

4.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental adotado foi o de blocos inteiramente ao acaso. Os resultados foram analisados através da comparação das médias utilizando-se o teste e Tukey, com significância estatística ao nível de 5% de probabilidade. A correlação dos dados foi realizada por meio do *software* Sisvar (FERREIRA, 2014).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO DOS CORANTES

A Tabela 2 a seguir apresenta os dados encontrados para os parâmetros físico-químicos avaliados em ambos os corantes.

Tabela 2. Características físico-químicas dos corantes alcoólicos obtidos a partir dos pimentões verde e vermelho.

Parâmetros	Corante Verde (CVD)	Corante Vermelho (CVM)
pH	3,53 ± 0,01	3,58 ± 0,03
Acidez (% Ácido cítrico)	5,98 ± 0,03	6,23 ± 0,02
Sólidos solúveis (°Brix)	23,1 ± 0,01	22,6 ± 0,01
Umidade (%)	87,24 ± 0,40	88,08 ± 0,20
Cinzas (%)	0,52 ± 0,03	0,39 ± 0,01

Fonte: Autora (2018).

Os resultados físico-químicos apresentados por ambos os corantes são próximos, visto que foi utilizada a mesma variedade de pimentão, o mesmo solvente e o mesmo método de extração, onde a diferença entre eles foi apenas de estágio de maturação e consequente coloração.

Em relação ao pH, os corantes apresentaram-se ácidos, o que segundo Silva (2017) poderá refletir no alimento no qual o mesmo será adicionado, dependendo da concentração adotada. De todo modo, os resultados encontrados por Azevedo (2018) no mesmo tipo de corante (pimentão vermelho), Silva (2017) e Paiva (2017) em corante da pimenta Biquinho, sendo de 4,3, 3,97 e 3,47, respectivamente, corroboram com os da presente pesquisa. Quando comparado a outros tipos de corantes, alguns resultados aparecem distintos como o do repolho Roxo analisado por Almeida et al. (2015) que apresentou pH 5,81 e Santos et al. (2013) com pH de 4,32, outros também próximos

como o de Mirtilo analisado por Rocha (2009) com pH de 3,27. É importante destacar que todos eles apresentaram pH ácido, o que pode ser uma característica comum em corantes extraídos de fontes naturais, onde as diferenças existentes estão relacionadas à matéria-prima utilizada para extração dos mesmos.

Quanto à acidez, ambos apresentaram valores relativamente altos e próximos aos de Azevedo (2018) em corante de pimentão vermelho, com acidez de 6,57%. Esses dados diferem bastante dos analisados por Silva (2017) e Paiva (2017) em corantes da pimenta Biquinho, com valores de 2,23 e 3,07, respectivamente. A diversidade de valores encontrados reafirma que esse parâmetro é influenciado pelas características das matérias-primas utilizadas, como variedade, grau de maturação dos frutos, método de cultivo, solo utilizado, entre outras características, visto que todos os autores citados acima utilizaram o mesmo solvente e método de extração.

Paiva (2017) afirma que o pH e a acidez são parâmetros importantes e que a acidez encontrada em alimentos ou aditivos que serão adicionados à eles é satisfatória, pois a maioria dos microrganismos não se desenvolvem em ambientes muito ácidos, o que pode aumentar a vida de útil desses produtos. Por outro lado, uma alta acidez pode influenciar no sabor dos produtos que serão aditivados por esses corantes, resultando numa menor aceitação sensorial.

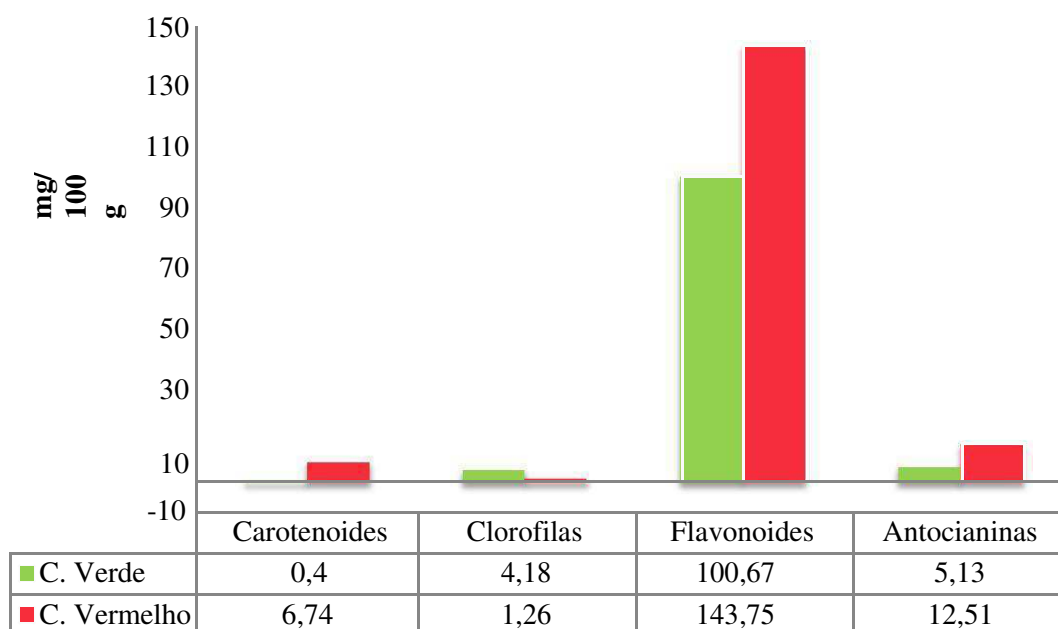
No que se refere ao teor de sólidos solúveis, os corantes apresentaram altos valores, porém ainda foram inferiores aos do corante da pimenta Biquinho que obteve 28,23°brix (PAIVA, 2017), por outro lado, apresentou valores superiores aos do corante de Mirtilo e dos corantes de repolho roxo, que foram de 11,7°brix, 8,1°brix e 2,5°brix, respectivamente (ROCHA, 2009; SANTOS et al., 2013; ALMEIDA et al., 2015), reforçando assim a qualidade dos corantes dos pimentões verde e vermelho para esse parâmetro.

Os teores de umidade expostos eram esperados por se tratar de corantes líquidos, que inclusive estão próximos à faixa encontrada nos corantes da pimenta Biquinho, de 83,97% e 79,70% (PAIVA, 2017; SILVA, 2017) e no corante do próprio pimentão vermelho, com umidade de 88,49% (AZEVEDO, 2018), demonstrando similaridade nesses tipos de corantes.

Superiores percentuais de cinzas (resíduo mineral fixo) foram observados em ambas as amostras, quando comparados aos encontrados em corantes da pimenta Biquinho pesquisados por Paiva (2017) e Silva (2017), ambos com percentual de 0,08%. Em contra partida, Almeida e seus colaboradores (2015) obtiveram teores de 0,77% e 0,55% em corantes alcoólicos e aquosos do repolho roxo, respectivamente, demonstrando que a variação desses componentes é justificada pela matéria-prima, solvente e/ou método de extração empregado.

Na Figura 3 estão apresentados os teores de compostos bioativos encontrados em ambos os corantes obtidos dos pimentões verde e vermelho.

Figura 6. Compostos bioativos presentes nos corantes alcoólicos obtidos a partir dos pimentões verde (CVD) e vermelho (CVM).



Fonte: Autora.

A homogeneidade apresentada nos parâmetros físico-químicos não está presente quando o assunto são os compostos bioativos, em razão de que os mesmos são influenciados pela colocação dos frutos e conseqüentemente dos corantes.

Os teores de carotenoides observados no CVM foram aproximadamente 27 vezes maiores que no CVD. Esses resultados eram previstos, pelo fato de que segundo (2007) os carotenoides são responsáveis pelas colorações amarela, laranja e vermelha dos frutos. Essas disparidades também são observadas em estudos de outros autores, como Azevedo (2018) e Nascimento et al. (2017) que obtiveram teores de 13,20 mg/100g e 0,123 g/100g de carotenoides em pimentão vermelho e verde desidratados, respectivamente. Quanto a corantes igualmente extraídos de fontes naturais de coloração vermelha, a concentração de carotenoides da presente pesquisa (10,24 mg/100g) esteve na faixa entre o mesmo tipo de corante (pimentão vermelho) (AZEVEDO, 2018) e os corantes de pimenta Biquinho (PAIVA, 2017; SILVA; 2017), com teores de 6,46, 14,0 e 16,24 mg/100g, respectivamente, comprovando a qualidade do mesmo.

O contrário ocorre quando se trata de clorofilas, por serem responsáveis pela coloração verde dos frutos e hortaliças, fato este que justifica a concentração desse pigmento apresentar-se três vezes maiores no CVD (4,18 mg/100g) em comparação ao CVM (1,16 mg/100g). Novamente essas diferenças podem ser observadas nos trabalhos de outros autores que analisaram pimentão verde e vermelho desidratados, com resultados de 43,3 mg/100g e 4,17 mg/100g, respectivamente, demonstrando uma superioridade dez vezes maiores da concentração desse tipo de pigmento nos frutos verdes (NASCIMENTO et al., 2017; AZEVEDO, 2018). Apesar da quantidade reduzida, os teores de clorofilas no CVM estão próximos aos encontrados nos demais corantes da mesma coloração, como o do próprio pimentão que obteve um teor de 1,26 mg/100g e da pimenta Biquinho com teores de 1,02 e 1,85 mg/100g (AZEVEDO, 2018; SILVA, 2017; PAIVA, 2017), sendo assim, apresentou bons resultados.

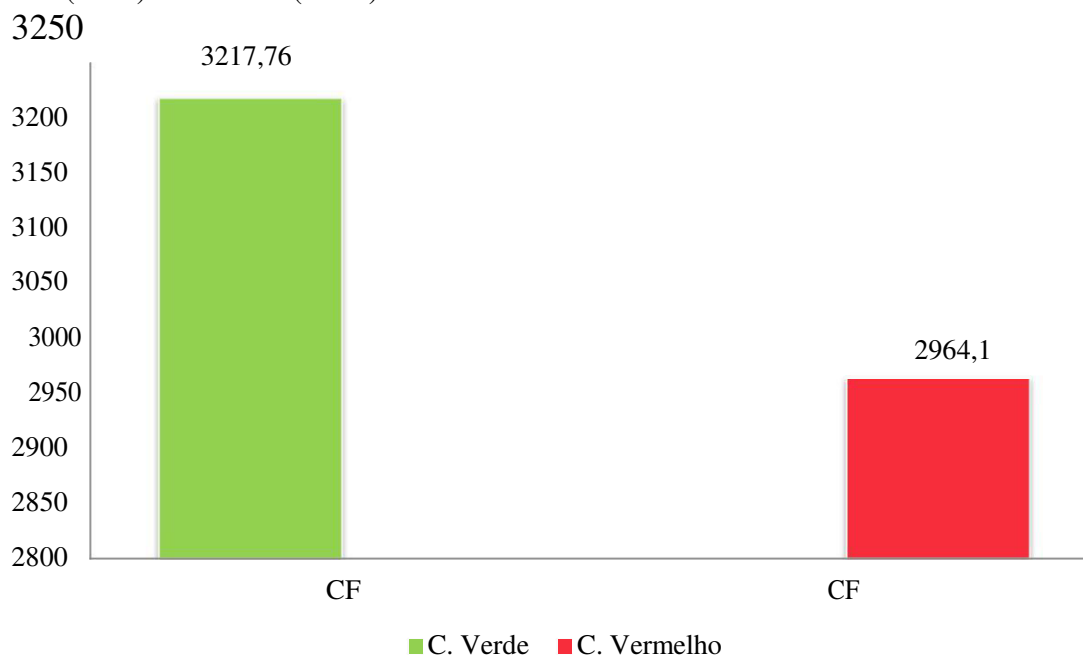
Ambos os corantes apresentaram elevados teores de flavonoides e apesar do CVM (143,74 mg/100g) possuir níveis superiores aos do CVD (100,67 mg/100g) e a outros corantes como o do próprio pimentão vermelho analisado por Azevedo (2018) que apresentou teor de 119,75 mg/100g e os da pimenta Biquinho analisados por Silva (2017) e Paiva (2018) com teores de 101,42 mg/100g e 105,38 mg/100g, respectivamente, os valores do verde estiveram próximos aos dos demais autores.

Em relação aos extratos como o da casca da Jabuticaba analisado por Ferracini (2015) e de Jatobá estudado por Rocha et al (2013), que obtiveram valores de 6,31 e 19,69 mg/100g, respectivamente, os valores encontrados na presente pesquisa mantem-se altos, o que os torna propícios a possuir uma certa capacidade antioxidante, na medida em que Agati et al. (2007) assinalam os flavonoides como compostos que possuem significativa propriedade antioxidante.

Semelhante aos flavonoides, a concentração de antocianinas foi maior no CVM (12,51 mg/100g) que no CVD (5,13 mg/100g), sendo ambos superiores ao corante alcoólico do repolho roxo analisado por Almeida et al. (2015) que apresentou teores de 4,58mg/100g e ao extrato de jatobá estudados por Rocha et al. (2013) com teor de 0,88mg/100g, ressaltando a qualidade dos corantes como fontes de pigmentos alimentícios.

Na Figura 8 estão dispostos os teores de compostos fenólicos dos corantes verde (CVD) e vermelho (CVM) extraídos do pimentão.

Figura 7. Compostos fenólicos presentes nos corantes alcoólicos obtidos a partir dos pimentões verde (CVD) e vermelho (CVM).



Fonte: Autora (2018).

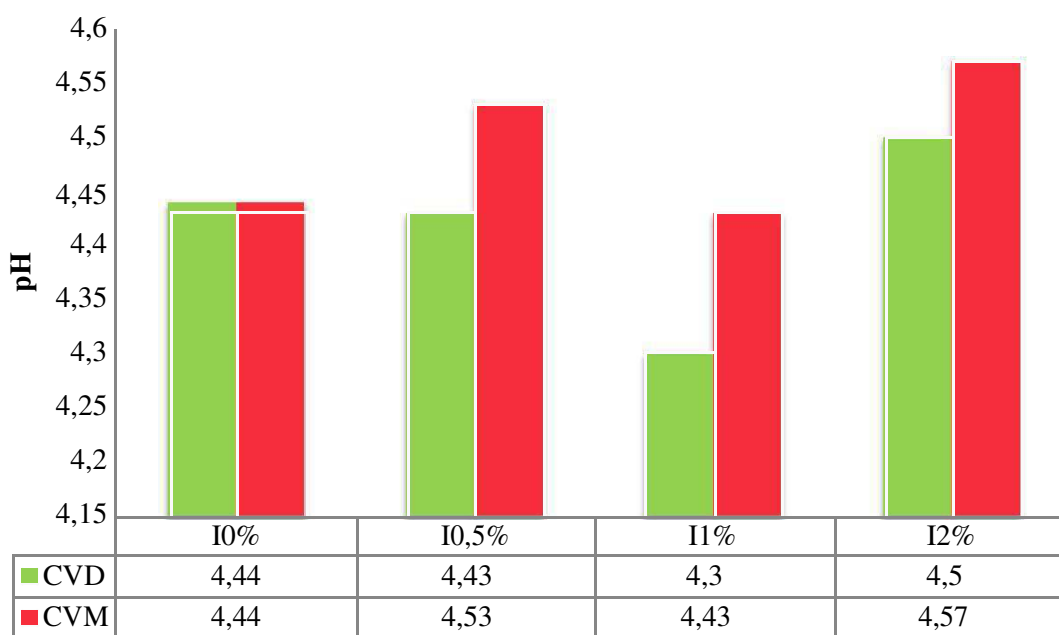
Pode-se observar elevados teores de compostos fenólicos em ambos os corantes, sendo maiores para o CVD (3.217,76 mg/100g) que no CVM (2.964,10 mg/100g), porém os dois apresentaram-se superiores aos demais corantes citados anteriormente (do pimentão vermelho e da pimenta biquinho) que obtiveram valores de 2.321,88 mg/100g, 1.536,81 mg/100g e 1.646,78 mg/100g (AZEVEDO, 2018; PAIVA, 2017; SILVA, 2017). Os dados dos corantes para esse parâmetro são satisfatórios, refletindo a atividade antioxidante das amostras, pois segundo Del Ré e Jorge (2012) a atividade antioxidante está diretamente ligada a presença de compostos fenólicos. Outros autores destacam ainda que os compostos fenólicos apresentam-se multifuncionais como antioxidantes, pois atuam de várias formas no combate a radicais livres (PODSEDEK, 2007; KYUNGMI & EBELER, 2008).

Ambos os corantes foram submetidos às análises microbiológicas, utilizando os parâmetros de Coliformes à 35 e à 45°C (NMP/mL), *Salmonella* sp. (presença/ausência) e *Staphylococcus* spp. (UFC/mL), onde foi verificado um valor de <0,3 NMP/ml para Coliformes a 35° e a 45°C e ausência para os demais parâmetros, demonstrando que estavam aptos a serem adicionados a alimentos para consumo humano.

5.2. CARACTERIZAÇÃO DOS IOGURTES ADITIVADOS COM CORANTES DE PIMENTÃO VERDE E VERMELHO

A Figura 9 apresenta os dados de pH obtidos para os iogurtes com e sem adição dos corantes alcoólicos dos pimentões.

Figura 8. Valores de pH dos iogurtes elaborados.



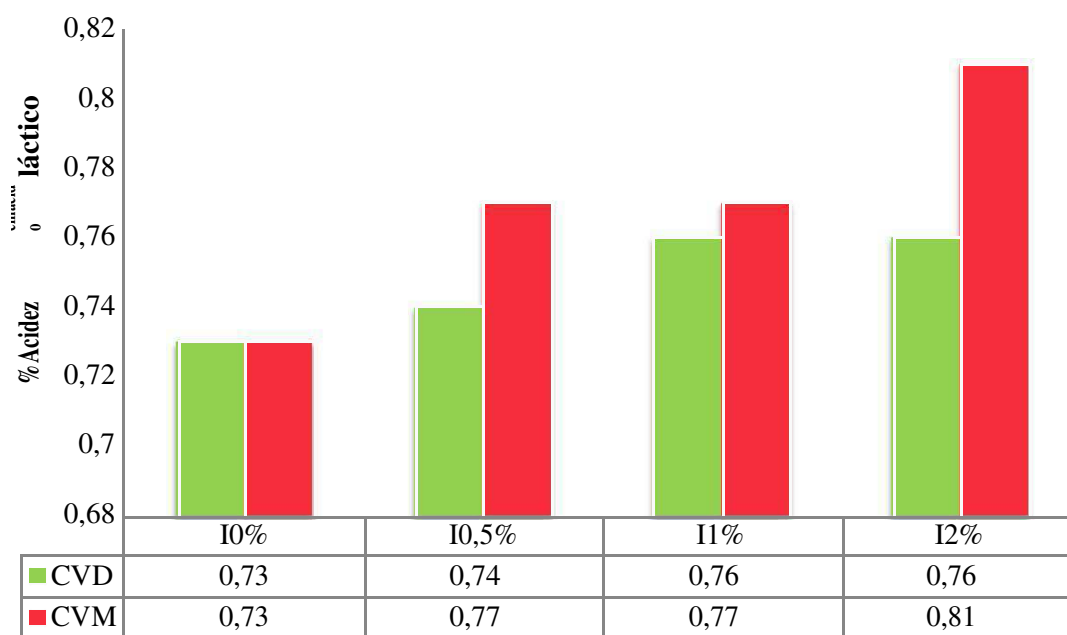
*As amostras não apresentaram diferença significativa utilizando teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autora (2018).

Os valores de pH não diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$) e apresentaram pequenas variações, onde os aditivados com o CVD estiveram entre 4,30 e 4,50 e os CVM entre 4,43 e 4,57. Levando em consideração a Instrução Normativa 46 (BRASIL, 2007) que estabelece uma faixa ideal para o pH dos iogurtes entre 3,6 e 4,5, as amostras avaliadas apresentaram-se dentro dos padrões assim como os iogurtes comercializados no sul de Minas Gerais avaliados por Magalhães e Torre (2018) que variaram de 4,26 a 4,40 e os industriais e artesanais comercializados em Santa Maria (RS) analisados por Silva e seus colaboradores (2012), com variação de 3,57 a 4,03.

Na Figura 10 estão apresentados os dados para o parâmetro de acidez (% ácido láctico) dos iogurtes com e sem adição dos corantes obtidos do pimentão.

Figura 9. Valores de acidez dos iogurtes elaborados.



*As amostras não apresentaram diferença significativa utilizando teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autora (2018).

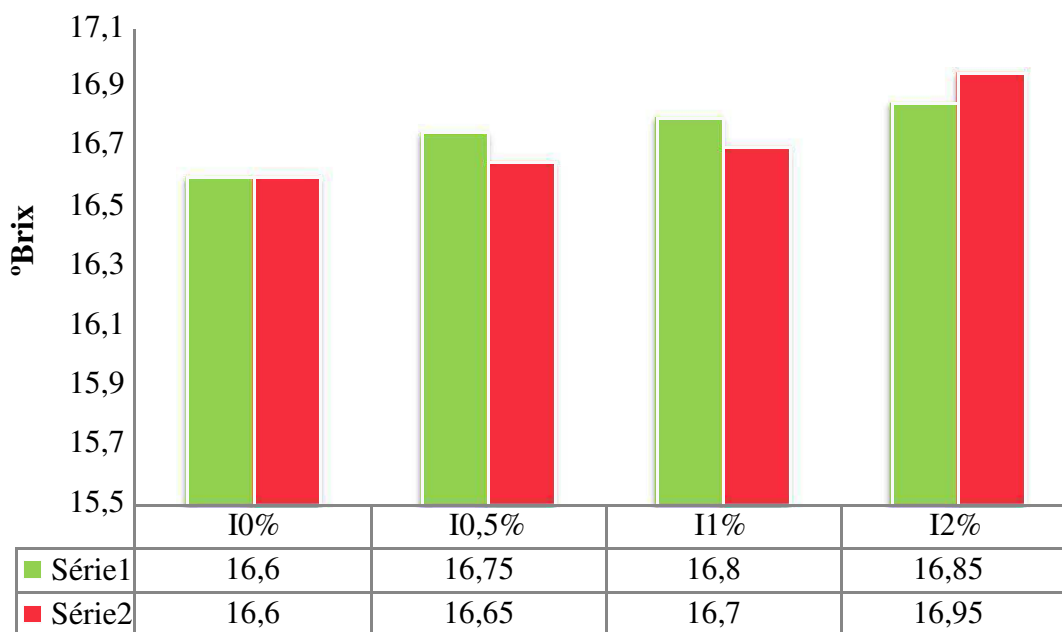
A inserção dos corantes não interferiu no tocante acidez, uma vez que não diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$), variando de 0,73 a 0,76% e 0,73 a 0,81% nos iogurtes adicionados de CVD e CVM, respectivamente. Segundo a legislação vigente (BRASIL, 2007) a acidez mínima e máxima permitida nesse tipo de produto alimentício é de 0,6 e 1,5%, portanto os iogurtes elaborados obedecem a essa faixa. Outros tipos de iogurtes também estiveram de acordo com a legislação, apesar de apresentarem valores diferentes, como é o caso dos comerciais estudados por Domingo (2011) que apresentaram acidez de 0,75 a 1,08% e 0,58 a 0,84%, do natural aditivado com extrato da pimenta Biquinho com acidez de 0,677 a 0,70% (SILVA, 2017), dos prebióticos que obteve 0,93% para todas as formulações (SILVA; SILVA, 2017), além do natural com polpa de abacaxi e mel (0,803 a 0,934%; PAIVA et al., 2015).

As discrepâncias observadas entre os diferentes tipos de iogurtes podem está relacionadas à acidez do leite, bem como das diferentes matérias-primas que foram incorporadas as amostras, além das bactérias utilizadas e dos métodos de elaboração.

É indispensável ressaltar que apesar da obtenção de corantes ácidos, a adição dos mesmos não influenciou o pH e a acidez das amostras, agindo apenas com o intuito de adicionar cor aos iogurtes.

Os resultados para o parâmetro de sólidos solúveis (°brix) dos iogurtes analisados estão dispostos na Figura 11 a seguir.

Figura 10. Valores de sólidos solúveis dos iogurtes elaborados.



*As amostras não apresentaram diferença significativa utilizando teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autora (2018).

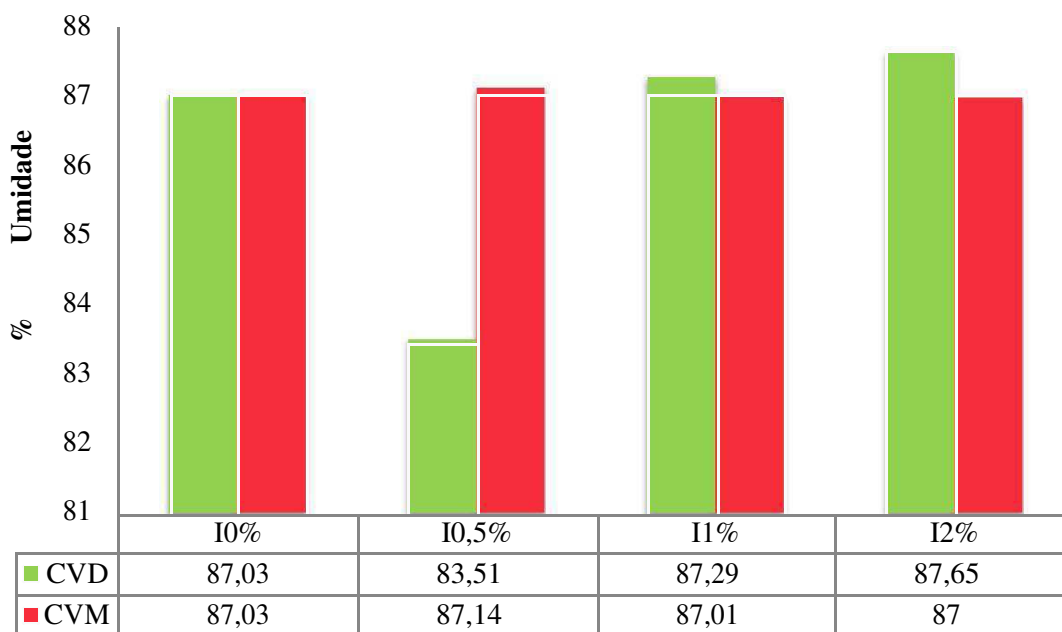
Como nos demais parâmetros, os teores de sólidos solúveis não diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,05$). A legislação não impõe limites máximos ou mínimos nesse caso, o que nos leva a diferentes valores em diversos estudos.

Avaliando outros iogurtes, entre os que estiveram mais próximos aos níveis aqui encontrados estão o iogurte aditivado com extrato da pimenta Biquinho (14,5 a 14,88°brix) analisado por Silva (2017) e o iogurte de leite bovino sem adições (15,6°brix) avaliado por Borges et al. (2009).

O fato importante a ser observado é que em mais um parâmetro, os corantes não influenciaram as amostras.

A Figura 12 apresenta os teores de umidade dos iogurtes analisados.

Figura 11. Valores de umidade dos iogurtes elaborados.



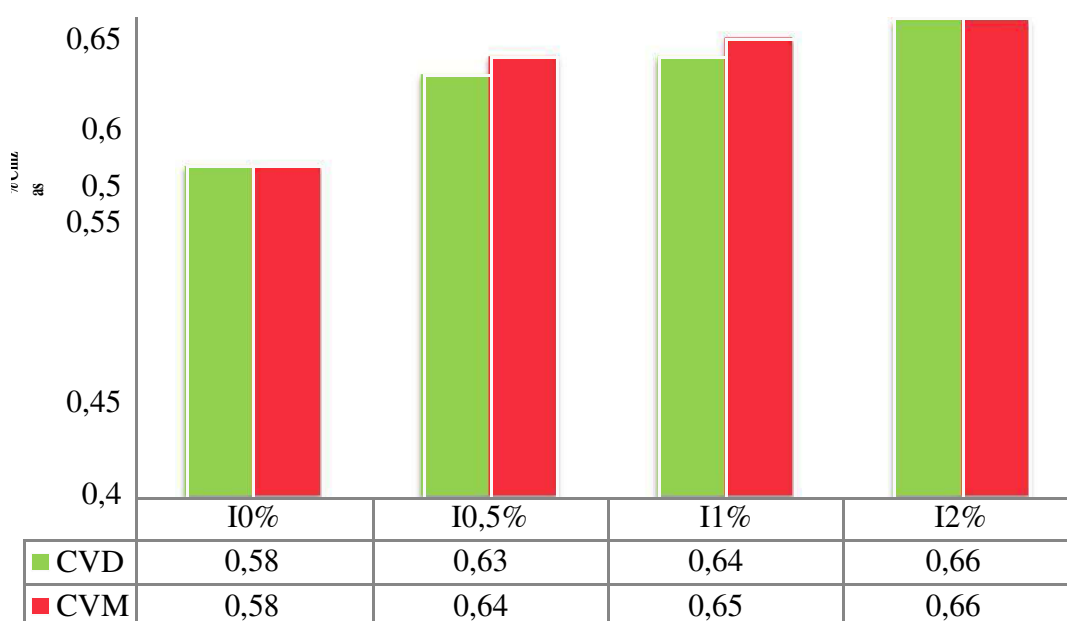
*As amostras não apresentaram diferença significativa utilizando teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autora (2018).

Ainda que ambos os corantes tenham apresentado elevada umidade, a adição deles aos iogurtes não afetou os produtos, pois não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre o sem adição e os demais. Como não existem padrões para esse parâmetro, as discordâncias entre os índices apresentados em iogurtes são provocadas principalmente pelas matérias-primas utilizadas durante elaboração, como ocorre nos iogurtes tradicionais e líquidos analisados por Pacheco et al. (2015) que estiveram com níveis de 75 a 82% e os iogurtes sabor coco e morando estudados por Oliveira et al. (2017) com teores de 78,99 e 79,70%, respectivamente.

Os teores de cinzas dos iogurtes aditivados com os corantes do pimentão estão apresentados na figura a seguir.

Figura 12. Teores de cinzas dos iogurtes elaborados.



*As amostras não apresentaram diferença significativa utilizando teste de Tukey ($p < 0,05$).

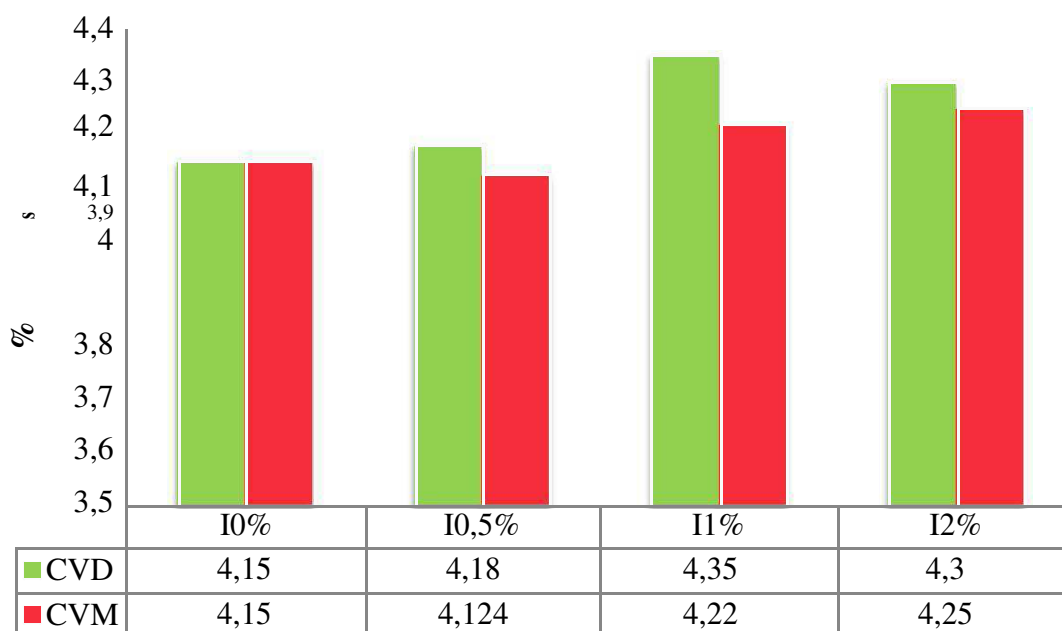
Fonte: Autora (2018).

Assim como ocorreu em relação a umidade, o teor de cinzas dos corantes não provocou mudanças nos iogurtes aditivados, sendo que não houve diferença significativa ($p < 0,05$). Outra vez a legislação não impõe limites para o parâmetro de resíduo mineral fixo, sendo assim níveis distintos são encontrados em diversos trabalhos.

Em iogurte integral o teor de cinzas foi de 0,5% (REVES et al., 2016) e o iogurte aditivado com extrato da pimenta biquinho os níveis variaram de 0,52 a 0,64% (SILVA, 2017) apresentando-se similares aos desse trabalho. Maiores variações foram encontradas por Leite et al. (2018) em iogurte de polpa de Juçara com valores de 0,76 a 0,90% e Pacheco et al. (2015) em amostras comerciais que variaram de 0,24 a 2,98%. Todos os resultados relatados anteriormente demonstram que esse parâmetro, assim como os demais, está relacionado com os componentes utilizados durante elaboração. Outro fator importante é que mais uma vez, a atuação dos corantes tratou-se apenas de pigmentar os produtos.

Na Figura 14 estão dispostos os resultados de proteínas dos iogurtes analisados.

Figura 13. Valores de proteínas dos iogurtes elaborados.



*As amostras não apresentaram diferença significativa utilizando teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autora (2018).

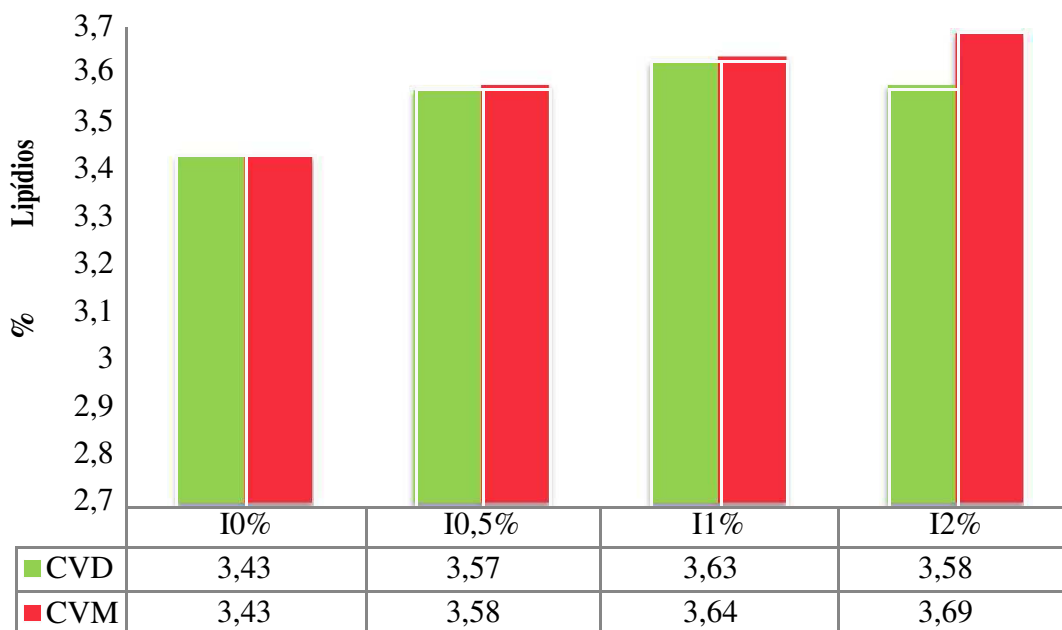
Mais uma vez pode ser percebida uma homogeneidade entre os iogurtes, não havendo diferença significativa ($p < 0,05$), onde todos estiveram dentro da legislação vigente (BRASIL, 2007), visto que possuem teor de proteínas maior que 4,0% e o limite mínimo imposto pela legislação é de 2,9% para esse componente.

Há uma dessemelhança entre os iogurtes apresentados por alguns autores, com uma faixa de variação relativamente alta. É o caso dos iogurtes comerciais do estado de Minas Gerais que apresentaram níveis entre 3,21 e 8,17% (MAGALHÃES; TORRE, 2018).

Contudo, outros autores apresentaram valores mais próximos uns dos outros, como Schuck (2014) em iogurte integrais naturais com teores de 2,9 a 3,37% e Silva (2017) em iogurtes aditivados com extrato de pimenta biquinho com variação de 4,92 a 5,18%.

Na Figura a seguir estão apresentados os resultados de lipídios obtidos a partir dos iogurtes analisados.

Figura 14. Valores de lipídios dos iogurtes elaborados.



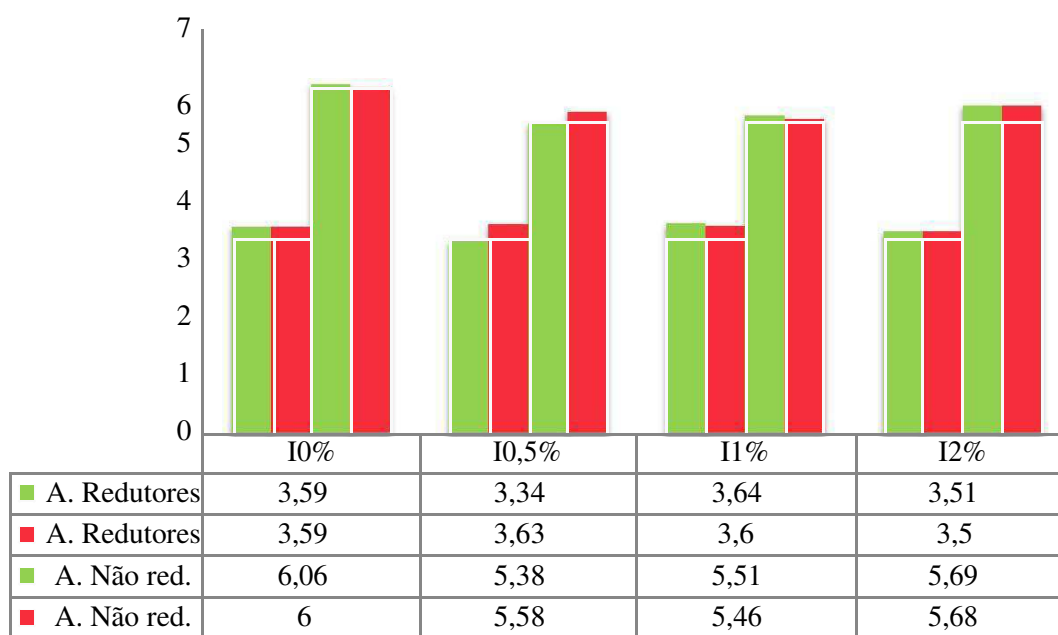
*As amostras não apresentaram diferença significativa utilizando teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autora (2018).

No que se refere à gordura, novamente pode ser verificada homogeneidade entre as amostras e a ausência de diferença significativa ($p < 0,05$), sendo elas classificadas de acordo com a legislação (BRASIL, 2007) em integrais, por estarem numa faixa de 3 a 5,9% de lipídios. Na mesma classificação estiveram os iogurtes produzidos por Borges et al. (2017) citado anteriormente que estiveram na faixa de 5,67 a 5,78% e por Schuck (2014) em iogurtes naturais com teores de 3,08, 3,14 e 3,16%.

A Figura 16 apresenta os valores de açúcares redutores e não redutores dos iogurtes com e sem adição dos corantes.

Figura 15. Valores de açúcares redutores e não redutores dos iogurtes elaborados.



*As amostras não apresentaram diferença significativa utilizando teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autora (2018).

Não houve diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$), em relação a açúcares redutores e não redutores. Não existem padrões para esses parâmetros segundo a legislação vigente (BRASIL, 2007), o que novamente provoca altas variações entre os tipos de iogurtes produzidos e comercializados.

Os iogurtes sabor cajá elaborados por Ferreira (2012) apresentaram variação de 6,41 a 8,03% para açúcares redutores e 3,36 a 5,26% para não redutores. Os elaborados por Silva (2017) com adição de extrato da pimenta biquinho foram os mais próximos aos desse trabalho, em relação a açúcares redutores apresentando teores de 3,77 a 4,14% e superior em relação aos não redutores variando de 7,30 e 7,69%. No mais, os resultados encontrados para ambos os parâmetros são aceitáveis, visto que apresentaram-se dentro da faixa já relatada por outros autores.

A caracterização microbiológica dos iogurtes está disposta na Tabela 3.

Tabela 3. Caracterização microbiológica dos iogurtes elaborados com e sem adição de corantes.

Parâmetros	Coliformes à 45°C	<i>Salmonella sp.</i>	Fungos filamentosos e Leveduras
I0%	<0,3 NMP/mL	Ausência	<10 ¹ UFC/g
I0,5% CVD	<0,3 NMP/mL	Ausência	<10 ¹ UFC/g
I0,5% CVM	<0,3 NMP/mL	Ausência	<10 ¹ UFC/g
I1% CVD	<0,3 NMP/mL	Ausência	<10 ¹ UFC/g
I1% CVM	<0,3 NMP/mL	Ausência	<10 ¹ UFC/g
I2% CVD	<0,3 NMP/mL	Ausência	<10 ¹ UFC/g
I2% CVM	<0,3 NMP/mL	Ausência	<10 ¹ UFC/g

Fonte: Autora (2018).

Como é possível observar na Tabela 3, os resultados apontam que as amostras avaliadas estão dentro dos padrões estabelecidos (BRASIL, 2001), demonstrando que todas as etapas envolvidas na produção, embalagem e acondicionamento dos iogurtes foram realizadas corretamente, estando os mesmos aptos ao consumo humano.

5.3. CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS

Nas Tabelas 4 e 5 estão dispostos os teores de clorofilas, carotenoides, flavonoides e antocianinas dos extratos dos pimentões verde e vermelho.

Tabela 4. Teores de clorofilas e carotenoides dos extratos de pimentões verdes e vermelhos.

Extratos	Clorofilas (mg/100g)	Carotenoides (mg/100g)
Alcoólico VM	0,786 ^a ± 0,58	1089,370 ^a ± 0,35
Hidroalcoólico VM	1,357 ^b ± 0,12	1389,367 ^a ± 0,93
Aquoso VM	0,994 ^{ab} ± 0,18	1089,371 ^a ± 0,24
Alcoólico VD	3458,482 ^a ± 0,45	386,181 ^a ± 0,13
Hidroalcoólico VD	11,351 ^b ± 0,26	615,122 ^a ± 0,83
Aquoso VD	12,692 ^b ± 0,38	610,766 ^a ± 21

*Letras diferentes numa mesma coluna indicam que houve diferença estatística de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$)

Fonte: Autora (2018).

Em relação ao teor de clorofilas, excelentes dados foram encontrados para os extratos verdes, com destaque para o alcoólico, que apresentou 3.458,482 mg/100g e diferiu significativamente ($p < 0,05$) dos demais. Os outros extratos (hidroalcoólico e aquoso) obtiveram valores próximos um ao outro (11,351 e 12,692 mg/100g). Todos eles foram superiores aos níveis de clorofilas encontrados por Nascimento et al. (2017) em pimentão verde *in natura* (6,5 mg/100g) e Hojo et al. (2007) no mesmo tipo de pimentão conservado em temperatura ambiente (6,79 mg/100g).

Os extratos vermelhos também diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre si, com destaque para o hidroalcoólico que apresentou teor de 1,357 mg/100g, seguido do aquoso com 0,994 mg/100g e alcoólico com 0,786mg/100g. Apesar de menores que os teores apresentados nos VD, os resultados aqui apresentados para os VM foram satisfatórios, pois apresentaram teores próximos e/ou superiores a outros extratos de frutos não verdes, como é o caso do da pimenta biquinho analisado por Silva (2017) que apresentou teor de 1,83 mg/100g e da polpa da acerola avaliado por Lemes et al. (2015) com 0,322 mg/100g de clorofilas.

No que se refere a carotenoides, não houve diferença significativa entre os solventes em ambos os pimentões, onde os hidroalcoólicos se sobressaíram aos demais

tanto no VM quanto no VD, com resultados de 1389,367 mg/100g e 615,122mg/100g, respectivamente.

Segundo Tawata (2010) os carotenoides são pigmentos responsáveis pelas cores amarelo, laranja e vermelha dos frutos e hortaliças. Sendo assim, os teores presentes nos extratos VM e VD foram superiores mesmo aos extratos de coloração vermelha e amarela, como no caso do extrato alcoólico da pimenta biquinho (10,84 mg/100g) estudado por Silva (2017) e do extrato do fruto do buriti (7,78mg/100g) analisado por Sousa et al (2010), sendo assim, apresentam-se como uma opção para atuar como antioxidante.

Tabela 5. Teores de flavonoides e antocianinas dos extratos de pimentões verdes e vermelhos.

Extratos	Flavonoides (mg/100g)	Antocianinas (mg/100g)
Alcoólico VM	1707,667 ^a ± 0,25	89,097 ^a ± 0,93
Hidroalcoólico VM	1134,000 ^b ± 1,08	40,343 ^b ± 0,26
Aquoso VM	1464,000 ^{ab} ± 0,18	35,492 ^b ± 0,52
Alcoólico VD	2712,000 ^a ± 0,56	40,693 ^a ± 0,94
Hidroalcoólico VD	797,212 ^b ± 0,12	5,540 ^b ± 0,03
Aquoso VD	768,130 ^b ± 0,31	7,567 ^b ± 0,75

*Letras diferentes numa mesma coluna indicam que houve diferença estatística de acordo com o teste de Tukey (p<0,05).

Fonte: Autora (2018).

Quando aos teores de flavonoides e antocianinas houve diferença significativa (p<0,05) entre os solventes em ambas as cores, onde os extratos alcoólicos apresentaram quantidades mais elevadas para ambos os pigmentos, o que demonstra maior capacidade de arraste do álcool etílico, principalmente no VD, em que os níveis de flavonoides encontrados para os extratos alcoólicos foram quase 2000mg/100g mais elevados que nos hidroalcoólico e aquoso. Dessa forma, os resultados apresentados são satisfatórios, exibindo altos níveis de flavonoides, que se sobressaem aos do extrato da pimenta biquinho com teor de 219,04 mg/100g (SILVA, 2017) e do extrato de jatobá

que apresentou teor de 19,69 mg/100g (ROCHA et al., 2013). Em relação a antocianinas, os dados obtidos nos extratos também se sobressaem aos do extrato do fruto do jatobá que apresentou 0,88 mg/100g (ROCHA et al., 2013). O extrato da pimenta biquinho avaliado por Silva (2017) apresentou teor de 24,97mg/100g, sendo também inferior aos VD e VM, exceto para o hidroalcoólico e aquoso do VD. Os dados demonstram a eficiência do processo de extração e mais uma vez que os extratos de pimentão se tornam opções quando se trata de aditivos naturais.

Na Tabela 6 estão dispostos dados sobre a atividade antioxidante dos extratos obtidos a partir dos pimentões verde e vermelho.

Tabela 6. Atividade antioxidante dos extratos de pimentões verdes e vermelhos.

Extratos	Compostos Fenólicos (mg/100g)	ABTS (μM de trolox/g)
Alcoólico VM	2176,297 ^a \pm 9,08	4805,240 ^a \pm 0,33
Hidroalcoólico VM	2859,626 ^b \pm 3,10	3979,140 ^b \pm 0,82
Aquoso VM	1352,411 ^c \pm 17,31	1768,740 ^c \pm 0,41
Alcoólico VD	2093,657 ^a \pm 8,40	4828,580 ^a \pm 0,76
Hidroalcoólico VD	1539,581 ^b \pm 11,20	5387,610 ^b \pm 0,90
Aquoso VD	952,811 ^c \pm 2,18	5584,900 ^b \pm 1,05

*Letras diferentes numa mesma coluna indicam que houve diferença estatística de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autora (2018).

Em relação a atividade antioxidante, tanto para compostos fenólicos como ABTS, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os extratos avaliados.

Quanto ao teor de compostos fenólicos os solventes que se destacaram foram o hidroalcoólico e o alcoólico. Resultados que ressaltam a maior eficiência para esses dois solventes, pois possuem máxima capacidade de arraste no método de extração adotado, quando comparado aos aquosos.

Os níveis de compostos fenólicos dos extratos são satisfatórios, uma vez que é superior aos encontrados em outros produtos, como no extrato aquoso e hidroalcoólico do gergelim preto elaborado por Queiroga (2018) que apresentou teores de 735,5 e 751,5mg/100g, respectivamente e no pimentão verde *in natura* analisado por Nascimento et al. (2017) que obteve 57,6 mg/100g.

Para ABTS, todos os resultados foram excelentes, onde o alcoólico se sobressaiu em relação aos outros solventes (4805,240 μM de trolox/g) no VM e pela primeira vez, o aquoso apresentou maior resultado (5584,900 μM de trolox/g) no VD, porém não diferiu significativamente ($p < 0,05$) do hidroalcoólico (5387,610 μM de trolox/g). Apesar disso, todos os extratos apresentaram-se como boas opções para serem utilizados como agentes antioxidantes, pois mesmo o menor valor de todos os extratos apresenta-se cerca de 13 vezes maior que o extrato da pimenta biquinho (138,01 μM de trolox/g). Quando comparados a outros tipos de extratos de frutos, como de acerola, manga, morango, açaí e uva, com resultados de 67,6 μM de trolox/g, 13,2 μM de trolox/g, 12,0 μM de trolox/g, 9,4 μM de trolox/g, 9,2 μM de trolox/g (KUKOSKI et al., 2005), a capacidade antioxidante dos extratos de pimentão continua elevada.

6. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados no presente trabalho evidenciam a possibilidade de utilizar os pimentões em ambos os estágios de maturação como aditivos naturais, tanto como corantes, quanto como agentes antioxidantes, em substituição aos aditivos sintéticos.

A adição dos corantes aos iogurtes foi bem sucedida, uma vez que eles cumpriram sua função como aditivos, colorindo os iogurtes e não modificaram as características nutricionais dos mesmos.

No que se refere aos solventes utilizados durante a obtenção dos extratos, os que apresentaram melhores resultados e conseqüentemente maior capacidade de arraste, foram o alcoólico etílico e o álcool etílico e água deionizada na proporção de 70/30.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRANTES, S. et al. Avaliação de corantes artificiais em bebidas não alcoólicas e não gaseificadas. **Revista Analytica**, Rio de Janeiro, n. 27, p. 30-33, 2007.

AGATI, G.; MATTEINI, P.; GOTI, A.; TATTINI, M. Chloroplast-located flavonoids can scavenge singlet oxygen. **New Phytologist**, v. 174, n. 1, p. 77-89, 2007.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. **Guia de procedimentos para pedidos de inclusão e extensão de uso de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia de fabricação na legislação brasileira**. 2009.

ALBUQUERQUE, M. V.; SANTOS, S. D.; CERQUEIRA, N. D. V.; SILVA, J. D. **Educação alimentar: uma proposta de redução do consumo de aditivos alimentares**. *Química nova na escola*, v. 34, n. 2, p. 51-57, 2012.

ALMEIDA, D. F. **Efeitos do extrato de *Agrostemma Githago* L. no cultivo de pimentão no estado do Amazonas**. 2012. 78 p. Dissertação. Mestrado em Agronomia/Fitotecnia. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, CE. 2012.

ALMEIDA, J. C.; SEVERO, D. S.; ARAÚJO, A. S.; CORDEIRO, M. A. S.; DEODATO, J. N. V. **Obtenção de corante do repolho roxo (*Brassica oleracea*) por dois métodos de extração**. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*. v. 10, n.3, p 47 - 51. Pombal, PB. 2015.

ALMEIDA, P. G. Alimentos industrializados versus saúde do consumidor. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 6, n. 3, 2015.

ALVES, G. S. **Nutrição mineral e produtividade de pimentão (*Capsicum annuum* L.) em resposta a diferentes biofertilizantes líquidos no solo**. 2006. 95 p. Dissertação. Mestrado em Agronomia. Universidade Federal da Paraíba. Areia, PB. 2006.

AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B.; RAHIMI-MOGHADDAM, P.; BARL, B.; & WEIL, J. A. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. **Food Chemistry**, v.84, n.4, p.551- 62, 2004.

ANASTÁCIO, L. B.; OLIVEIRA, D. A.; DELMASCHIO, C. R.; ANTUNES, L. M. G.; CHEQUER, F. M. D. Corantes alimentícios amarantho, eritrosina B e tartrazina, e seus possíveis efeitos maléficos à saúde humana. **J Appl Pharm Sci**, v. 2, n. 3, p. 16-30, 2016.

AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis**. 19th ed. Gaithersburg, 2012. 3000p.

AUN, M. V.; MAFARA, C.; PHILIPPI, J. K.; AGONDI, R. C.; MOTTA, A. A. **Aditivos em alimentos**. *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*. 34(5): 177 – 186, 2011.

AZEVEDO, P. T. M. **Corante natural obtido do pimentão vermelho na elaboração de sorvete**. 2018. 38 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Alimentos, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, Paraíba, 2018.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, London, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BAUER, A. K.; DWYER-NIELD, L. D.; HANKIN, J. A.; MURPHY, R. C.; MALKINSON, A. M. The lung tumor promoter, butylated hydroxytoluene (BHT), causes chronic inflammation in promotion-sensitive BALB/cByJ mice but not in promotion-resistant C57BL/6 mice. **Toxicology**, v.169, n.1, p.1-15, 2001.

BEZERRA, A. S.; STANKIEVICZ, S. A.; KAUFMANN, A. I.; MACHADO, A. A. R.; UCZAY, J. Composição nutricional e atividade antioxidante de plantas alimentícias não convencionais da região sul do Brasil. **Arquivos Brasileiros de Alimentação**, v. 1, n. 1, p. 182-188, 2017.

BISSACOTTI, A. P.; ANGST, C. A.; SACCOL, A. L de F. Implicações dos aditivos químicos na saúde do consumidor. **Disciplinarum Scientia Saúde**, v. 16, n. 1, p. 43-59, 2016.

BORGES, G. C.; NOGUEIRA, T. R.; BUENO, C. P.; NEVES, R. B. S.; COELHO, K. O. Avaliação da vida de prateleira do iogurte sabor morango, enriquecido com concentrado proteico de soro, quinoa e linhaça dourada. In: **Anais do Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG (CEPE)(ISSN 2447-8687)**. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006**. Oficializa Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para controle de leite e produtos Lácteos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 14 dez de 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. Instrução **Normativa Nº 46, de 23 de outubro de 2007**.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. **Portaria 540**, de 27 de outubro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos alimentares – definições, classificação e emprego.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. **Portaria 540**, de 27 de outubro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos alimentares – definições, classificação e emprego.

CEASA-PE. **Participação e procedência dos produtos comercializados na CEASA-PE**. Central de Abastecimento de Pernambuco, Recife-PE, 2005.

CESAR, M. N. Z.; RIBEIRO, R. L. D.; PAULA, P. D.; POLIDORO, J. C.; MANERA, T. C.; GUERRA, J. G. M. **Desempenho do pimentão em cultivo orgânico, submetido ao desbaste e consórcio.** Horticultura Brasileira, v. 25, p. 322-326, 2007.

CHANDER, M.; ARORA, D. S. Evaluation of some White-rot fungi for their potential to descolourise industrial dyes. **Dyes and pigments**, v. 72, p. 192-198, 2007.

CODEX ALIMENTARIUS. **International Food Standards.** 2013. Disponível em: <<http://www.codexalimentarius.org/>>. Acesso em: 11 jun. 2018.

CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P. C.; SANDI, D. Corantes Alimentícios. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 203-220, 2002.

CONTE, F. A. **Efeitos do consumo de aditivos químicos alimentares na saúde humana.** Revista espaço acadêmico, v. 16, n. 181, p. 69-81, 2016.

CORDEIRO, A. M. T. M. Desenvolvimento de bioativos antioxidantes para otimização da estabilidade oxidativa de óleos comestíveis. 2013. 131 p. Tese. Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. João Pessoa, PB. 2013.

COUTO, S. R. Dye removal by immobilized fungi. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 227-235, 2009.

CRISTEA, D.; VILAREM, G. Improving light fastness of natural dyes on cotton yarn. **Dyes Pigments**, Huddersfield, v. 70, p. 238–245, 2006.

CUNHA, A. D. C. **Farmacognosia e Fitoquímica.** 3ª edição. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, pp.478-502. 2010.

DALL'AGNOL, R. P. A **Utilização De Corantes Artificiais Em Produtos Alimentícios No Brasil.** In: Simpósio Internacional de Inovação Tecnológica, 4., Aracaju: SIMTEC, p. 26-37, 2013.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. **Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde.** Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.14, n.2, p.389-399, 2012.

DOMINGO, E. do C. **Avaliação da qualidade e da competitividade de iogurtes produzidos no sul de Minas Gerais.** 2011. 118 p. Dissertação. Mestrado em Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG. 2011.

ECHER, M. M.; FERNANDES, M. C. A.; RIBEIRO, R. L. D.; PERACCHI, A. L. Avaliação de genótipos de *Capsicum* para resistência a ácaro branco. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v.20, p. 217-221, 2002.

EMBRAPA Hortaliças. Planaltina, Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/util/tabelas/index.htm>>. Acesso em: 30 julho. 2018.

FABRI, E. G.; TERAMOTO, J. R. S. Urucum: fonte de corantes naturais. **Horticultura brasileira**, v. 33, n. 1, p. 140, 2015.

FENNEMA, O.R. **Química de alimentos**. 4º ed, Porto Alegre, Artmed, 2010, 900 p.

FERRACINI, L. dos A. **Microencapsulação e avaliação da estabilidade do corante natural extraído da casca da jabuticaba (*Myrciaria spp.*) para aplicação em alimentos**. 2015. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2015.

FERREIRA D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciênc. agrotec.** [online]. 2014;38(2):109-112.

FERREIRA, L. C. **Desenvolvimento de iogurtes probióticos e simbióticos sabor cajá (*Spondias mombun L.*)**. 2012. 93f. Dissertação. Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, PE. 2012.

FILGUEIRA, F.A.R. Novo Manual de Olericultura - Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3º edição, Editora UFV. 2008.

FRANCIS, F. J. **Analysis of anthocyanins in foods**. In: Markakis P, Anthocyanins as Food Colors. New York, Academic Press, p. 181-207. 1982.

FREITAS, A. S. Tartrazina: uma revisão das propriedades e análises de quantificação. **Acta Tecnológica**. Vol. 7, N° 2, 2012.

FU, L.; XU, B.T.; XU, X.R.; GAN, R.Y.; ZHANG, Y.; XIA, E.Q.; LI, H.B. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry**, v.129, p.345-350, 2011.

GOMES, L. M. M. Inclusão de carotenoides de pimentão vermelho em ciclodextrinas e avaliação da sua estabilidade, visando aplicação em alimentos. 2012. 108 p. Dissertação. Mestrado em Ciências aplicadas a produtos para saúde. Universidade Federal Fluminense. Niteroi, RJ. 2012.

GOMES, L. M. M. **Inclusão de Carotenoides de Pimentão Vermelho em**

Ciclodextrinas e Avaliação da Sua Estabilidade, Visando Aplicação Em Alimentos. 2012. 108p. 2012. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestre em Ciências Aplicadas), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, 2012.

GRIFONI, D., BACCI, L., ZIPOLI, G., CARRERAS, G., BARONTI, S., SABATINI, F. Laboratory and outdoor assessment of UV protection offered by flax and hemp fabrics dyed with natural dyes. **Photochemical and Photobiological Sciences**, Padova, v. 85, p. 313-320, 2009.

GUIMARÃES, N. M. C. P. **Perturbação de Hiperatividade e Défice de Atenção – para além da genética**. 2010. 31f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina- Universidade do Porto, Porto, 2010.

- HABIBI, M. H.; HASSANZADEH, A.; MAHDAVI, S. The effect of operational parameters on the photocatalytic degradation of three textile azo dyes in aqueous TiO₂ suspensions. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 172, n. 1, p. 89-96, 2005.
- HENZ, G. P.; COSTA, C. S. R.; CARVALHO, S.; BANCI, C.A. **Como cultivar pimentão**. Caderno Técnico da edição da Cultivar HF, n.42, p.1-7, 2007.
- HERVERT-HERNÁNDEZ, D.; GARCÍA, O. P.; ROSADO, J. L.; GOÑI, I. The contribution of fruits and vegetables to dietary intake of polyphenols and antioxidant capacity in a Mexican rural diet: Importance of fruit and vegetable variety. **Food Research International**, v.44, n.5, p.1182–1189, 2011.
- HOJO, E. T. D.; CARDOSO, A. D.; HOJO, R. H.; BOAS, E. V. B. V.; MARCO ALVARENGA, A. R. Uso de películas de fécula de mandioca e pvc na conservação pós-colheita de pimentão. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.31, n.1, p.184- 190, 2007.
- HONORATO, T. C.; BATISTA, E.; NASCIMENTO, K. de O.; PIRES, T. Aditivos alimentares: aplicações e toxicologia. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 5, p. 01-11, 2014.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4 ed, São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.
- INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL - INMETRO; INSTITUTO BRASILEIRO DE DEFESA DO CONSUMIDOR - IDEC. **Segurança e Saúde do Consumidor**. Coleção para o consumo responsável. 2002.
- KOBYLEWSKI, S.; JACOBSON, M. F. **Food dyes - A rainbow of risks**. Washington, DC: Center for Science in the Public Interest, 2010. 68p.
- KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; GARCIA-PARILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M.; FELT, R. **Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos**. *Ciên. Tecnol. Alimentos*, v. 24, n. 4, p. 691-3, 2005.
- KYUNGMI, M.; EBELER, S.E. Flavonoid effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n.1, p.96- 104, 2008.
- LAGUERRE, M.; LECOMTE, J., VILLENEUVE, P. **Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges**. Review. *Progress in Lipid Research*, v. 46, p. 244-282, 2007.
- LEAL, P. F. et al. Functional properties of spices extracts obtained via supercritical fluid extraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 9, p. 2520-2525, 2003.

LEDEVER, J. **Enciclopédia moderna de higiene alimentar**. Trad. Ivone Castilho Beneditt, Creusa Magalhães Machado, Magda Seuto de Fonseca e Carla Murad Túlio. São Paulo: Dois, 1991.

LEITE, S. T.; ROBERTO, C. D.; SILVA, P. I.; CARVALHO, R. V. **Polpa de juçara: fonte de compostos fenólicos, aumento da atividade antioxidante e da viabilidade de bactérias probióticas de iogurte**. Revista Ceres, v. 65, n. 1, 2018.

LEME, S. C. **Qualidade de pimentão armazenado sob refrigeração em atmosfera modificada**. 2008. 82 p. Dissertação. Mestrado em Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG. 2008.

LEMES, R. S.; BORGES, E. B.; PRADO, D. M. F.; SILVA, V. P.; SILVA, L. S.; EGEA, M. B. **Compostos bioativos presentes na polpa dos frutos de Acerola (*Malpighia emarginata*)**. IV Congresso Estadual de Iniciação Científica do IF Goiano. 2015.

LICHTENTHALER, H.K. **Chlorophylls and carotenoids: pigment photosynthetic biomembranes**. Methods in Enzymology, New York v.148, p.362-385, 1987.

LIMA, A. R; PEREIRA, R. G. F. A; ABRAHÃO, S. A.; Duarte, S. D. S.; Paula, F. D. A. **Compostos bioativos do café: atividade antioxidante in vitro do café verde e torrado antes e após a descafeinação**. In: Quím. Nova, v. 33, n.1, p.20-24, 2010.

MAGALHÃES, A. U.; TORRE, A. C. G. D. Composição química e análise sensorial do iogurte grego comercializado no sul do estado de Minas Gerais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 73, n. 1, p. 10-18, 2018.

MARMITT, Sandro; PIROTTA, Lilian V.; STÜLP, Simone. **Aplicação de fotólise direta e UV/H₂O₂ a efluente sintético contendo diferentes corantes alimentícios**. Química Nova, v. 33, n. 2, p. 384-388, 2010.

MEINICKE, R. M. **Estudo da produção de pigmentos por *Monascus ruber* CCT 3802 utilizando glicerol como substrato em cultivo submerso**. 2008. 117 p. Dissertação. Mestrado em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC. 2008.

MENDONÇA, J. N. **Identificação e Isolamento de colorantes naturais produzidos por Actinobactérias**. Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências, Área: Química. Ribeirão Preto, São Paulo, 2011.

MONTEIRO, A. B. P. **Produção de pigmento vermelho pelo fungo *Monascus Ruber* por fermentação em estado sólido e sua aplicação na elaboração de pães**. 2016. 75 p. Dissertação. Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Goiás. Goiania, GO. 2016.

MURCIA, M. A.; EGEA, I.; ROMOJARO, F.; PARRAS, P.; JIMÉNEZ, A. M.; MARTÍNEZ-TOMÉ, M. **Antioxidant evaluation in dessert spices compared with common food additives, influence of irradiation procedure.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, Easton, v. 52, p. 1872-1881, 2004.

NASCIMENTO, A. M.; DA COSTA, F. B.; DA SILVA, J. L.; DE ARAÚJO, C. R.; DOS SANTOS FORMIGA, A. **Compostos bioativos do pimentão verde in natura e desidratado.** Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, v. 12, n. 3, p. 552-555, 2017.

NOGUEIRA, L. **Composição química e atividade antioxidante de diferentes variedades de pimento (*Capsicum annum* L.).** 2013. 89f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar). Instituto Politécnico de Bragança. Bragança, SP. 2013.

PACHECO, H. F. B.; SÍGOLO, L. M. N.; RIBEIRO, A. P. B.; DE OLIVEIRA, J. M. **Composição centesimal de iogurtes tradicionais e iogurtes líquidos: incompatibilidade com as descrições da rotulagem.** Revista do Instituto Adolfo Lutz, v. 74, n. 4, p. 380-389, 2015.

PAIVA, Y. F. **Obtenção e caracterização físico-química, microbiológica e atividade antioxidante de pigmento extraído da pimenta ‘biquinho’ (*Capsicum chinense*) cultivadas em São João Do Cariri-PB.** 2017. 27 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Alimentos, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, Paraíba, 2017.

PAIVA, Y. P.; DEODATO, J. N. V.; SILVA, E. E. V.; SILVA, E. V.; ARAÚJO, A. S. **Iogurte adicionado de polpa de abacaxi, base mel: Elaboração, perfil microbiológico e físico-químico.** Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, v. 10, n. 5 (ESPECIAL), p. 22 - 26, 2015.

PAREJO, I.; VILADOMAT, F.; BASTIDA, J.; ROSAS-ROMERO, A.; FLERLAGE, N.; BURILLO, J.; CODINA, C. **Comparison between the radical-scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and non-distilled mediterranean herbs and aromatic plants.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, Easton, v. 50, n. 23, p. 6882-6890, 2002.

PEGORARO, B. **Desenvolvimento de um iogurte com geléia de amora-preta (*Morus nigra* L.) e pólen apícola.** 2011. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, PR. 2011.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants capacity of brassica vegetables: a review. **Food Science and Technology**, v.40, n.1. p.1-11, 2007.

POLÔNIO, M. L. T. **Percepção de mães quanto aos riscos à saúde de seus filhos em relação ao consumo de aditivos alimentares: o caso dos pré-escolares do Município de Mesquita, RJ.** 2010. 129 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2010.

POLÔNIO, M. L.T; PERES, F. **Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira.** In: Cad. Saúde Pública. v.25, n.8, p. 1653-1666, 2009.

QUEIROGA, V. T. F. **Estabilidade oxidativa de hambúrguer caprino adicionado de extrato de gergelim preto.** 2018. 33 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Alimentos, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, Paraíba, 2018.

RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v.29, n.4, p.755-60, 2006.

RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Atividade antioxidante do ácido ascórbico e do extrato de alecrim em óleo de soja purificado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.65, n.1, p15-20, 2006.

RAMÍREZ, J. R. M.; MARTINEZ, V. A.; ROCHA, O. L. F.; LOPEZ, D. N. M.; CHIU, J. F. V.; Cárdenas, M. E. C. **Colorantes y pigmentos microbianos en la belleza cosmética.** Revista Digital Universitária, v. 16, n. 4, p. 1-17. 2015.

RÊGO, T. de F.; CORREIA, A. M. M.; ARAÚJO, J. A. R.; GURGEL, J. C.; SOUZA, A. **Expectativas de retorno e riscos percebidos no agronegócio corante natural de caju para o mercado B2B.** Custos e @gronegócio on line - v. 11, n. 2 – Abr/Jun -2015.

REHMAN, Z.; HABIB, F.; SHAH, W. H. **Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil.** Food Chemistry, London, v. 85, n. 2, p. 215-220, 2004.

REVERS, L. M., DANIELLI, A. J., ILTCHENCO, S., ZENI, J., STEFFENS, C., & STEFFENS, J. **Obtenção e caracterização de iogurtes elaborados com leites de ovelha e de vaca.** Ceres, v. 63, n. 6, 2017.

RIBEIRO, C. S. C.; CRUZ, D.M.R. **Tendências de Mercado: comércio de pimentão esta em expansão.** Revista Cultivar Hortaliças e Frutas, Pelotas, v. 3, n. 14, p. 16-19, 2002.

RIBEIRO, E. P. SERAVALLI, E .A. G. **Química de Alimentos.** 2ª Ed. ver. São Paulo. Ed. Geral Blucher, 2007.

ROCHA, F. I. G. **Avaliação da cor e da atividade antioxidante da polpa e extrato de mirtilo (*Vaccinium myrtillus*) em pó.** 2009. 105p. Tese de Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 2009.

ROCHA, M. S.; FIGUEIREDO, R. W.; ARAÚJO, M. A. M.; MOREIRA-ARAÚJO, R. S. R. **Caracterização físico-química e atividade antioxidante (*in vitro*) de frutos do Cerrado Piauiense.** Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 35, n. 4, p. 933-941, 2013.

ROMO-HUALDE, A.; YETANO-CUNCHILLOS, A. I.; GONZÁLEZ-FERRERO, C.; SÁIZ-ABAJO, M. J.; GONZÁLEZ-NAVARRO, C. J. **Supercritical fluid extraction and microencapsulation of bioactive compounds from red pepper (*Capsicum annuum* L.) by-products.** *Food Chemistry*, 133, pp. 1045-1049.

ROSSI, T. **Corantes Naturais: Fontes, Aplicações e Potencial para Uso da Madeira.** 15 jul 2008. IPEF – Instituto de Pesquisas Florestais.

RUFINO, M. M; ALVES, R. E.; BRITO, E. S; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS.** Comunicado técnico 128, Embrapa, Fortaleza, CE. 2007.

RUFINO, M. M; ALVES, R. E.; BRITO, E. S; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre dpqh.** Comunicado técnico 127, Embrapa, Fortaleza, CE. 2007.

SANTOS, G. R.; DIAS, S. S.; CONSTANT, P. B. L.; SANTOS, J. A. B. **Caracterização físico-química do repolho roxo (*Brassica oleracea*).** Anais do Simpósio Internacional de Inovação

SANTOS, M. C. L. et al. **Aditivos químicos potencialmente genotóxicos encontrados em alimentos vendidos em supermercados de São Luis - MA.** In: Congresso Brasileiro De Genética, 54., 2008, Anais... Salvador: [s.e.]. Disponível em: <<http://bit.ly/1ErWcfP>>.

SANTOS, R. M. P. dos; SANTOS, S. A. dos. **O ensino do tema aditivos químicos com o apoio de mapas conceituais e fluxogramas na sétima série do ensino fundamental.** 2008.

SANTOS, V. S. (2009). **Caracterização morfológica e derterminação da pungência em pimentos picantes.** [Tese de Mestrado]. Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia. 2009.

SCHUCK, J. **Qualidade do leite cru nas características físico-químicas, microbiológicas e fermentativas de iogurte integral natural.** 2014. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia do Leite, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Norte do Paraná, Londrina, 2014.

SCHWEIGGERT, U.; KURZ, C.; SCHIEBER, A.; CARL, R. **Effects of processing and storage on the stability of free and esterified carotenoids of red peppers (*Capsicum annuum* L.) and hot chilli peppers (*Capsicum frutescens* L.).** *European Food Research and Technology*, v. 225, p. 261–270, 2007.

SEDIYAMA, M. A. N.; SANTOS, M. R.; VIDIGAL, S. M.; PINTO, C. L. O.; JACOB, L. L. **Nutrição e produtividade de plantas de pimentão colorido, adubadas com biofertilizante de suíno**. R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental, v.18, n.6, p.588–594, 2014.

SHAHID, M.; SHAHID-UL-ISLAM; MOHAMMAD, F. Recent advancements in natural dye applications: a review. **Journal of Cleaner Production**, Knoxville, v. 53, p. 310-331, 2013.

SHONGWE, V. D.; MAGONGO, B. N.; MASARIRAMBI, M. T.; MANYATSI, A. M. Effects of irrigation moisture regimes on yield and quality of paprika (*Capsicum anuum* L). **Physics and Chemistry of the Earth**, v. 35, p. 717 – 722, 2010.

SILVA, A. G. F.; BESSA, M. M.; SILVA, J. R. Elaboração e caracterização físico-química e sensorial de iogurte light prebiótico adoçado com mel. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 72, n. 2, p. 74-84, 2017.

SILVA, E. V. **Potencialidades da pimenta biquinho (*Capsicum chinense*) como aditivo natural**. 2017. 170 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

SILVA, L. C.; MACHADO, T. B.; SILVEIRA, M. L. R.; DA ROSA, C. S.; BERTAGNOLLI, S. M. M. **Aspectos microbiológicos, pH e acidez de iogurtes de produção caseira comparados aos industrializados da região de Santa Maria - RS**. *Disciplinarum Sciential Saúde*, v. 13, n. 1, p. 111-120, 2012.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. dos, GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4 edição. São Paulo: Livraria Varela, 614p, 2010.

SOUSA, P. B.; SILVA, E. F.; MONÇÃO, E. C.; SILVA, J. N.; SILVA, M. J. M.; SOUSA, M. M. **Fenólicos totais, carotenóides e capacidade antioxidante de raspas de Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) in natura comercializadas em Teresina - Piauí**. In: V Congresso Norte e Nordeste de Pesquisa e Inovação Tecnológica–V CONNEPI, Maceió–Alagoas. 2010.

SOUZA, R. M. **Corantes naturais alimentícios e seus benefícios à saúde**. Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Farmácia, Centro Universitário Estadual da Zona Oeste. Rio de Janeiro, 2012.

SOUZA, R. M. **Corantes naturais alimentícios e seus benefícios à saúde**. 2012. 65 f. Trabalho de Conclusão de *Curso* (Graduação em Farmácia). Centro Universitário Estadual da Zona Oeste. Rio de Janeiro, 2012.

SOUZA, V. F. de; MAROUELLI, W. A.; COELHO, E. F.; PINTO, J. M.; COELHO FILHO, M. A. **Irrigação e fertirrigação em fruteira e hortaliças**. Brasília DF. Embrapa Informação Tecnológica, p. 721-736, 2011.

SPOTO, M. A, B. R.; OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimento**. III. Título. Barueri, SP : Manole, 2006.

SUN, T.; XU, Z.; WU, C.T.; JANES, M.; PRINYAWIWATKUL, W.; NO, H.K. **Antioxidant activities of different colored sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.)**. Journal of Food Science, v. 72, p. 98-102, 2007.

TAWATA, N. **Determinação de carotenóides em alimentos brasileiros in natura, processados e preparados para a tabela nacional de composição de alimentos**. 2010. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência de Alimentos, Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2010.

TORRES, D. E. G.; MANCINI, D. A. P.; TORRES, R. P.; MANCINI-FILHO, J. **Antioxidant activity of macambo (*Theobroma bicolor* L.) extracts**. Eur. J. Lipid Sci. Technol., v. 104, p. 278- 281, 2002.

VALENTÃO, P.; FERNANDES, E.; CARVALHO, F.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; BASTOS, M. L. Antioxidative properties of cardoon (*Cynara cardunculus* L.) infusion against superoxide radical, hydroxyl radical, and hypochlorous acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.17, p.4989-93, 2002.

VENIL, C. K., ZAKARIA, Z. A., AHMAD, W. A. Bacterial pigments and their applications. **Process Biochemistry**, Vandoeuvre, v. 48, p. 1065 – 1079, 2013.

VIUDA-MARTOS, M.; RUIZ-NAVAJAS, Y.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A. Spices as functional foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.51, n.1, p.13-28, 2011.

WANASUNDARA, P. K. J. P. D.; SHAHIDI, F. Antioxidants: Science, Technology, and Applications. In **ailley's ndustrial Oil and Fat Products**. v. 1. Edible oil and fat products: chemistry, properties, and health effects. 6 ed, Ed. Fereidoon Shahidi, 2005.

WATERHOUSE, A. **Folin-ciocalteau micro method for total phenol in wine**. American Journal of Enology and Viticulture, p.3-5, 2006.

WILLCOX J. K.; ASH, S.L.; CATIGNANI, G. L. Antioxidants and prevention of chronic disease. **Critical Reviews in Food Science Nutrition**, v.44, n. 4, p.275–295, 2004.

YANISHLIEVA, N.V.; MARINOVA, E.M.; POKORNY, J. Natural antioxidants from herbs and spices. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.108, n.9, p.776-93, 2006.