



Licenciatura em Química

Aplicação de compostos fenólicos extraídos da casca de pequi em revestimentos comestíveis

Lucas Silva Oliveira

Brasília

2023

Lucas Silva Oliveira

Aplicação de compostos fenólicos extraídos da casca de pequi em revestimentos comestível

Trabalho de conclusão de curso de Licenciatura em Química do Campus Gama do IFB como requisito parcial para a obtenção do título de licenciado em química

Brasília

2023

Oliveira, Lucas Silva Oliveira.

Aplicação de compostos fenólicos extraídos da casca de pequi em revestimentos comestíveis / Lucas Silva Oliveira Oliveira ; orientação Débora Kono Taketa Moreira. — Gama, DF: 2023.

79 f. : 30 cm.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) — Instituto Federal de Brasília, Campus Gama, Gama, DF, 2023.

Orientador(a): Débora Kono Taketa Moreira.

1. Revestimento comestível. 2. Atividade antioxidante. 3. Ácido gálico.
I. Moreira, Débora Kono Taketa, orient. II. Instituto Federal de Brasília. III. Título.

Lucas Silva Oliveira

Aplicação de compostos fenólicos extraídos da casca de pequi em revestimentos comestível

Trabalho de conclusão de curso de Licenciatura em química do Campus Gama do IFB como requisito parcial para a obtenção do título de licenciado em química

Banca examinadora

Dra. Débora Kono Taketa Moreira - Orientadora.
Instituto Federal de Brasília - *Campus Gama*

Dr. Rodrigo Alves da Silva - Membro.
Instituto Federal de Brasília - *Campus Gama*

Dr. Marley Garcia Silva - Membro.
Instituto Federal de Brasília - *Campus Gama*

Dedico este trabalho a Deus, aos meus familiares, especialmente a minha mãe e meus avós.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por nunca me desamparar nos meus momentos de dificuldade e por sempre estar disposto a me encorajar a superar meus limites.

Agradeço aos meus familiares por todo o apoio, paciência e o suporte financeiro que me permitiu concluir o curso, em especial a minha mãe Cláudia, que mesmo muito ocupada em seu trabalho sempre lembrou de dedicar um pouco de tempo para seu filho, um ato que tem um valor inestimável para a minha evolução.

Agradeço aos meus avós que me ensinaram que os verdadeiros momentos de alegria e satisfação estão em atos de simplicidade e de amor ao próximo.

Agradeço aos meus amigos que trilharam a trajetória até o fim da graduação comigo, em especial a Jenniffer, Hellen, Luana e Arthur que compartilharam sorrisos durante os momentos de falha e acreditaram em mim até mesmo quando eu não acreditei.

Agradeço aos meus professores pela sua dedicação ao ensino e por disponibilizar seu tempo a auxiliar no meu amadurecimento profissional. Em especial à Adriana Linhares, Breno Cunha, Nizamara Simenremis e Rodrigo Fleury.

Agradeço a minha orientadora Débora Kono Taketa Moreira, que me transmitiu seus conhecimentos e sempre se mostrava paciente em corrigir meus erros com um sorriso no rosto me ensinando a perseverar nos meus objetivos.

Por fim agradeço a banca examinadora e aos servidores do IFB, por dedicarem o seu tempo para contribuir com a minha formação profissional oferecendo seu melhor serviço.

Se cheguei até aqui foi porque me apoiei
no ombro dos gigantes.

- Isaac Newton.

RESUMO

Os revestimentos comestíveis são definidos como uma película bioquímica constituída de biopolímeros alimentares como polissacarídeos, ceras (lipídeos) e/ou proteínas que possuem a capacidade de prolongar o tempo de prateleira de frutos e vegetais que amadurecem rapidamente contribuindo com a diminuição do descarte de alimentos. A utilização de uma matriz como a casca de pequi apresenta um potencial para aprimorar a funcionalidade do revestimento devido ao alto teor de compostos com propriedades antioxidantes presentes na amostra. O objetivo do trabalho foi produzir um revestimento comestível enriquecido com os compostos bioativos do extrato para retardar os processos fisiológicos do amadurecimento de alimentos. Para atingir esse objetivo foram produzidas farinhas de diferentes partes da casca de pequi (mesocarpo, exocarpo e pericarpo) que foram submetidas a um processo de liofilização, em seguida avaliadas quanto ao teor de compostos fenólicos, flavonoides, taninos totais, capacidade antioxidante por DPPH e FRAP. Em seguida o extrato liofilizado do pericarpo foi analisado em um HPLC para quantificação de ácido gálico e posterior adição a solução filmogênica composta por cera de carnaúba e tween 80. Os frutos revestidos por aspersão foram analisados quanto ao pH, acidez titulável, sólidos solúveis totais e perda de massa, em seguida os dados coletados foram comparados com amostras não revestidas para observar a influência do revestimento na conservação dos alimentos. Foi possível observar a necessidade de aumentar a concentração da cera de carnaúba e do extrato de pequi na composição dos revestimentos, pois os frutos revestidos não apresentaram uma menor perda de massa em relação ao controle, no entanto as análises fitoquímica e cromatográfica evidenciaram a alta presença de compostos bioativos da casca de pequi ressaltando o seu valor científico e econômico.

Palavras-chave: Revestimento comestível, atividade antioxidante e ácido gálico.

ABSTRACT

Edible coatings are defined as a biochemical film consisting of food biopolymers such as polysaccharides, waxes (lipids) and/or proteins that have the ability to extend the shelf life of fruits and vegetables that ripen quickly, contributing to the reduction of food waste. The use of a matrix such as pequi peel has the potential to improve the functionality of the coating due to the high content of compounds with antioxidant properties present in the sample. The aim of the work was to produce an edible coating enriched with the bioactive compounds of the extract to slow down the physiological processes of food ripening. To achieve this objective, flours were produced from different parts of the pequi peel (mesocarp, exocarp and pericarp) that were subjected to a freeze-drying process, then evaluated for the content of phenolic compounds, flavonoids, total tannins, antioxidant capacity by DPPH and FRAP. Then, the lyophilized extract of the pericarp was injected into an HPLC for gallic acid quantification and subsequent addition to a filmogenic solution composed of carnauba wax and tween 80. The sprinkler-coated fruits were analyzed for pH, titratable acidity, total soluble solids and weight loss, then the collected data were compared with uncoated samples to observe the influence of the coating on food preservation. It was possible to observe the need to increase the concentration of carnauba wax and pequi extract in the composition of the coatings, because the coated fruits did not show a lower mass loss in relation to the control, however the phytochemical and chromatographic analyses showed the high presence of bioactive compounds of the pequi peel, emphasizing its scientific and economic value.

Keywords: Edible coating, antioxidant activity and gallic acid.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura I - Estrutura dos flavonoides.....	23
Figura II - Estrutura do pequi.....	29
Figura III - Esquema de formulação do revestimento.....	32
Figura IV - Cromatograma da injeção do extrato do pequi.....	41
Figura V - Curvas de calibração.....	42
Figura VI - Soluções dos revestimentos.....	46
Figura VII - Amostras de tomate.....	47
Figura VIII - Gráfico de sólidos solúveis.....	48
Figura IX - Gráfico de pH dos tomates.....	49
Figura X – Gráfico de acidez titulável dos tomates.....	50
Figura XI - Perda de massa percentual dos tomates.....	52
Figura XII - Identificação de fenólicos totais.....	53
Figura XIII - Teste para taninos e flavonoides.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela I - Classificação brasileira de cera de carnaúba refinada.....	17
Tabela II - Rendimento percentual da produção de farinha.....	37
Tabela III - Rendimento percentual da extração.....	38
Tabela IV - Resultados para as análises fitoquímicas e antioxidantes.....	39
Tabela V - Resultados dos testes de homocedasticidade.....	43
Tabela VI - Testes para verificação do efeito matriz.....	43
Tabela VII - Limite de detecção e quantificação para o ácido gálico.....	44
Tabela VIII - Recuperação e precisão para o ácido gálico.....	44
Tabela IX - pH e sólidos solúveis dos revestimentos.....	46
Tabela X - Crescimento fúngico nos tomates.....	47
Tabela XI - Índice de maturidade dos tomates.....	51

SUMÁRIO

1. Introdução.....	13
2. Revisão bibliográfica.....	14
2.1. Revestimentos comestíveis.....	14
2.2. Cera de carnaúba.....	16
2.3. Compostos bioativos da casca do pequi.....	17
2.4. Aplicação de compostos bioativos em revestimentos.....	19
2.5. Análises físico-químicas.....	20
2.5.1. Sólidos solúveis totais.....	20
2.5.2. Acidez titulável e pH.....	21
2.5.3. Perda de massa.....	21
2.6. Análises fitoquímicas.....	21
2.6.1. Fenólicos.....	21
2.6.2. Flavonoides.....	22
2.6.3. Taninos.....	23
2.7. Capacidade antioxidante.....	24
2.7.1. Sequestro do radical DPPH.....	24
2.7.2. Redução do ferro (FRAP).....	25
2.8. Validação de método.....	25
2.9. Contextualização do ensino de química.....	27
3. Objetivos.....	27
3.1. Objetivo geral.....	27
3.2. Objetivos específicos.....	28
4. Materiais e métodos.....	28
4.1. Obtenção da farinha de pequi e extração de compostos fenólicos.....	28
4.1.1. Obtenção da farinha de pequi.....	28
4.1.2. Extração de compostos bioativos.....	29
4.2. Análises físico-químicas.....	29
4.2.1. Fenólicos totais.....	29

4.2.2. Flavonoides totais.....	30
4.2.3. Taninos totais.....	30
4.3. Atividade antioxidante.....	30
4.3.1. DPPH.....	30
4.3.2. FRAP.....	31
4.4. Produção do revestimento.....	31
4.5. Controle de qualidade dos frutos.....	33
4.5.1. Sólidos solúveis totais.....	33
4.5.2. Acidez titulável e pH.....	33
4.5.3. Perda de massa.....	33
4.5.4. Avaliação da deterioração.....	33
4.6. Validação de método.....	34
4.6.1. Seletividade.....	34
4.6.2. Linearidade.....	34
4.6.3. Efeito matriz.....	35
4.6.4. Limite de detecção.....	35
4.6.5. Limite de quantificação.....	35
4.6.6. Recuperação.....	36
4.6.7. Precisão.....	36
4.7. Avaliação estatística.....	36
4.8. Proposta de aula.....	36
5. Resultados e discussão.....	37
5.1. Processamento do pequi e rendimento da farinha da casca de pequi.....	37
5.2. Rendimento do extrato liofilizado da casca de pequi.....	38
5.3. Resultados das análises fitoquímicas e atividade antioxidante.....	39
5.4. Resultados para a validação de método.....	40
5.4.1. Seletividade.....	40
5.4.2. Linearidade.....	41
5.4.3. Efeito matriz.....	43
5.4.4. Limite de detecção e limite de quantificação.....	44
5.4.5. Ensaios de recuperação e precisão.....	44
5.5. Resultados para as análises com os frutos revestidos.....	45

5.5.1. Avaliação dos revestimentos.....	45
5.5.2. Avaliação visual da deterioração dos frutos.....	46
5.5.3. Sólidos solúveis.....	48
5.5.4. Acidez titulável e pH.....	49
5.5.5. Perda de massa.....	51
5.6. Aula sobre identificação de compostos fenólicos.....	52
6. Conclusão.....	55
6.1. Sugestões para trabalhos futuros.....	55
7. Referências.....	57
8. ANEXOS.....	71
8.1. A - Plano de aula sobre análise de compostos fenólicos	71
8.2. B - Roteiro experimental	73
8.3. C - Fluxograma de análises nas cascas de pequi.....	78
8.4. D - Fluxograma de análises nos tomates revestidos.....	79

1. INTRODUÇÃO

O pequi (*Caryocar brasiliensis*) é um fruto nativo amplamente produzido e consumido no cerrado brasileiro, principalmente na região do centro-oeste do país. O consumo do fruto e a utilização de seu óleo para fins medicinais estão intimamente ligados a origem dos povos indígenas da região do Xingu no estado de Goiás, tornando o alimento um prato típico da região e evidenciando a herança cultural tipicamente brasileira que moldou a alimentação dos habitantes dessa região (RAMOS, 2017). Entretanto, deve-se ressaltar que apenas 16% da composição do pequi representa a parte comestível do fruto, enquanto 84% do alimento é constituído pela casca que é descartada provocando o aumento de lixo orgânico e poluição ambiental.

Um estudo realizado pela FAO (2020) reitera a contribuição da comercialização de frutas no exterior para a economia brasileira, apresentando o Brasil como o terceiro maior produtor contribuindo com cerca de 45% da produção mundial de frutas. Os dados divulgados pelo CEASA, (2017) indicam que cerca de 11 toneladas de pequi foram comercializadas em território brasileiro no período de 2016 a 2017, registrando um arrecadamento de cerca de 4 milhões de dólares, ressaltando a sua importância para a economia, além do seu valor sociocultural.

Os dados associados a grande comercialização de alimentos direcionam a atenção para o problema da perda e desperdício de alimentos, cujo maior percentual, cerca de 55% está associado a frutos desperdiçados na América Latina (FAO, 2021). Desse modo várias pesquisas tentam evitar o descarte e a perda de alimentos que são agravados devido a processos metabólicos como a respiração celular, danos mecânicos ou armazenamento incorreto dos frutos (KADER, 1999; GIMENEZ, et al. 2017).

A utilização dos revestimentos comestíveis tem se apresentado uma solução eficaz para combater o problema da perda e desperdício de alimentos, além de contribuir para aprimorar as características sensoriais dos frutos, como cor, textura e odor tornando-os mais atrativos para o consumidor final (SUSMITA DEVI, et al. 2022). A elaboração de formulações de revestimentos comestíveis envolve a utilização de matérias primas que possuem substâncias com atividades biológicas como antioxidante e antimicrobiana para retardar os processos de oxidação e respiração celular que degradam os alimentos (ROHASMIZAH, et al. 2022; SUHAG, et al. 2020).

Nesse sentido a riqueza de nutrientes como os compostos fenólicos presentes em resíduos como a casca de pequi tornou essa matriz atrativa para diversos pesquisadores que buscam desenvolver alimentos mais nutritivos utilizando as cascas do fruto (NASCIMENTO, et al. 2019).

Dessa forma, a relevância das pesquisas envolvendo o aprimoramento dos revestimentos comestíveis possibilitam avanços na ciência e tecnologia de alimentos, contribuindo para o reaproveitamento de resíduos alimentares, desenvolvimento dos métodos de armazenamento e conservação que são essenciais para garantir a qualidade dos produtos (BRASIL, 2004).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Revestimentos comestíveis

Os revestimentos comestíveis são uma película bioquímica constituída de polissacarídeos, ceras (lipídeos) e/ou proteínas que tem como principal finalidade a aplicação na superfície de diferentes tipos de alimentos com o objetivo de reduzir a perda e desperdício de produtos pós-colheita, que se encontram em estágio de maturação decorrente de processos metabólicos. Esses processos promovem a alteração das características organolépticas dos frutos como cor, sabor, aroma e textura (GIMENEZ, et al. 2017; ROHASMIZAH, et al. 2022).

Relatos na literatura indicam que os primeiros revestimentos comestíveis foram produzidos pelos chineses utilizando ceras alimentícias para proteger laranjas e limões de agentes microbianos durante os séculos XII e XIII. Em 1992 o processo de produção de revestimentos foi aprimorado, o que contribuiu para o surgimento de películas comerciais ecologicamente corretas destinadas a aplicação em frutos e vegetais. As técnicas de produção dos revestimentos são constantemente estudadas para promover uma melhor manutenção da qualidade dos alimentos por mais tempo e aumentar suas funcionalidades preventivas relacionadas a difusão de gás, migração de água e troca de solutos (ROHASMIZAH, et al. 2022; SUHAG, et al. 2020).

É necessário ressaltar a diferença entre os termos revestimentos comestíveis e biofilmes, sendo que os revestimentos são produzidos a partir de materiais biodegradáveis, não tóxicos que podem ser aplicados diretamente nos alimentos, enquanto os filmes comestíveis atuam como uma espécie de embalagem alimentícia

comestível designando a uma estrutura dinâmica que apresenta alterações ao longo de seu envelhecimento, como seu crescimento (SUHAG, et al. 2020).

As coberturas comestíveis geralmente são classificadas em hidrofílicas, nas quais há uma predominância de substituintes químicos caracterizados pela presença de ligações covalentes polares como carboxilatos (COO^-) e hidroxilas (OH^-) atribuindo regiões eletricamente positivas ou negativas na cadeia carbônica, cuja aplicação é recomendada para superfícies fatiadas, aquosas e brilhosas. Os revestimentos hidrofóbicos apresentam moléculas com grupos orgânicos alquila e aromático contribuindo para a neutralidade elétrica do esqueleto carbônico, essas formulações são indicadas para frutos com alta taxa de transpiração (ASSIS, et al. 2014; GIMENEZ, et al. 2017). Essa classificação permite organizar as diferentes propriedades dos revestimentos a partir dos mecanismos de interação bioquímica entre as películas e a região superficial dos alimentos, contribuindo para escolher os melhores constituintes para produzir determinada cobertura.

Há cinco tipos de mecanismos de interação superficial para a fixação das coberturas no exterior dos alimentos, sendo: interação por dipolo induzido (forças de curto alcance), ligação de hidrogênio, interação entre adsorvente e adsorvato através de regiões polares, interação hidrofóbica, atração entre grupos apolares (maior grau de fixação), polarização de elétrons decorrente da presença de substituintes aromáticos no adsorvato e atração eletrostática proveniente de íons com cargas opostas (GIMENEZ, et al. 2017).

A formação das coberturas ocorre a partir da caracterização do alimento a ser revestido e seleção dos principais constituintes poliméricos a serem aplicados para produzir os revestimentos. Posteriormente é realizado a dissolução das macromoléculas em um solvente adequado, ajustando pH e temperatura para promover o processo de reticulação do material. As últimas etapas têm como objetivo alterar a consistência do invólucro, através da adição de um plastificante como glicerol ou sorbitol, seguida da homogeneização da membrana e do escoamento do excesso de gel formado pela adição do plastificante (ASSIS, et al. 2014). Devido à variedade de compostos na formulação do revestimento vários comportamentos químicos podem ocorrer. É necessário realizar testes para verificar o desempenho do material filmogênico.

Os materiais filmogênicos que serão utilizados como coberturas devem apresentar algumas características desejáveis como: boa aderência (para garantir um manuseio adequado), translucidez, não alterar aspectos particulares do fruto como sabor e textura, espessura fina, porosidade apropriada para permitir a passagem de oxigênio (ASSIS, et al. 2014; AZEREDO, et al. 2022; ROHASMIZAH, et al. 2022; SUHAG, et al. 2020), sendo preferível poros com dimensão nanométrica para obter melhor desempenho no processo de respiração aeróbica.

2.2. Cera de carnaúba

A cera é produzida a partir da extração de substâncias das folhas de palmeiras de carnaúba (*Copernicia prunifera*), encontradas na região nordeste do Brasil (FREITAS, et al. 2019; OLIVEIRA FILHO, et al. 2022). A cera de carnaúba é um tipo de lipídeo que contém majoritariamente ésteres, ácidos alifáticos, ácidos aromáticos e hidrocarbonetos, esses compostos atribuem um caráter altamente hidrofóbico que conferem ao material propriedades impermeabilizantes e um ponto de fusão relativamente alto, 82 a 86 °C, sendo descrito na literatura como o maior ponto de fusão entre as ceras naturais (FREITAS, et al. 2019; SUSMITA DEVI, et al. 2022). Essas características justificam a maior utilização da cera de carnaúba, garantindo a estabilidade mecânica e química, devido aos componentes inertes que não são prejudiciais à saúde dos consumidores (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2012; FDA, 1983; SUSMITA DEVI, et al. 2022).

Há três classificações para a cera de carnaúba relacionadas ao processamento da matriz: coloração do produto, o procedimento de refino e o tratamento para purificar as substâncias presentes na matriz principal. O padrão internacional norte americano apresenta as seguintes classificações: Tipo 1 (clareada e filtrada), Tipo 3 (Limpa, filtrada e clareada), Tipo 4 (centrifugada) e Tipo 4 (filtrada), enquanto a padronização brasileira possui cinco tipos descritos na tabela I (FREITAS, et al. 2019).

Tabela I: Classificação brasileira de cera de Carnaúba refinada.

Tipo	Coloração	Refino
I – Filtrada	Amarela clara	Filtração
II – Extra gordurosa	Laranja clara	Filtração
III – Gordura filtrada	Laranja escura	Filtração
IV – Filtrada	Marrom escuro	Filtração
V - Centrifugada	Preto	Centrifugação

Fonte: FREITAS, et al. 2019, apud Carnaúba, 2004.

A aplicação da cera de carnaúba para formulações revestimentos comestíveis também é recomendada devido a atividade antioxidante e antimicrobiana das substâncias presentes na cera que possibilitam prolongar o tempo de prateleira de frutos e aumentar a eficiência dos revestimentos produzidos (CHEN, et al. 2019; Da SILVA ANDRADE, et al. 2018; OLIVEIRA FILHO, et al. 2022; SUSMITA DEVI, et al. 2022). A utilização da cera de carnaúba em revestimento das amostras de mamão papaya (OLIVEIRA FILHO, et al. 2022) e maçã chinesa (*Zizyphus Mauritiana* Lawk) (CHEN, et al. 2019) promoveu uma boa preservação dos parâmetros de amadurecimento dos frutos pelo período de estocagem de 12 dias até a observação de mudança do peso, perda de água e mudança de coloração.

2.3. Compostos bioativos da casca do pequi

O pequi (*Caryocar brasiliensis*) é um fruto que apresenta cerca de 84% do seu peso localizado em sua casca, região constituída pelo mesocarpo e epicarpo, enquanto o restante de sua composição em massa é distribuído entre a polpa e a semente do fruto. O descarte destas partes do pequi evidencia o grande desperdício alimentício associado ao consumo do produto, considerando que a maior parte das cascas que compõem o resíduo agroindustrial são destinados a aterros sanitários ou enviados para incineração, contribuindo para o aumento de lixo orgânico presente no meio ambiente (OLIVEIRA, et al. 2008).

Segundo a FAO (2021) o desperdício de alimentos pode ser definido como a perda ou rejeição de estruturas de um determinado alimento que ocorre quando este produto é destinado ao consumidor final ou a um centro comercial. A maior parte dos resíduos alimentares mal aproveitados são provenientes de países desenvolvidos ou

subdesenvolvidos onde há uma produção excessiva de comida. O Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA) atua no sentido de promover campanhas a favor do consumo sustentável de comida de modo a evitar perdas e desperdícios, tema presente nos 17 objetivos do desenvolvimento sustentável (ODS) (FAO, 2021; SANTOS, et al. 2020).

É necessário ressaltar o potencial nutricional e propriedades antioxidantes da casca de pequi que é rica em compostos fenólicos como o ácido gálico, ácido elágico, e da polpa, boa fonte de provitamina A, α e β caroteno, assim como flavonoides que contribuem para enriquecer a atividade antioxidante do fruto, ressaltando o valor socioeconômico em reaproveitar esses resíduos agroindustriais cujas características são subestimadas (BRITO CANGUSSU, et al. 2021). Algumas sugestões encontradas na literatura para o reprocessamento das cascas incluem a extração de compostos bioativos, produção de alimentos nutritivos com baixo teor de glúten e formulações de rações para animais (ANESE, et al. 2015; OLIVEIRA, et al. 2008).

O preparo da casca de pequi é realizado a partir da higienização do material por meio de lavagem com água, seguida de sanitização com soluções de hipoclorito, permitindo remover microrganismos e impurezas presentes nos resíduos do pequi antes de produzir a farinha. Segundo dados da literatura o teor de compostos bioativos na casca de pequi é maior quando comparado a polpa do fruto (BRITO CANGUSSU, et al. 2021; LEÃO, et al. 2017). O pericarpo do alimento é rico principalmente em polifenólicos, flavonóides, carotenóides e fibras digeríveis. Isto demonstra que o descarte dos resíduos de pequi representa desperdício e mal aproveitamento dos nutrientes durante o processamento comercial e industrial. A composição centesimal das cascas é estimada em 50% de fibras, 20% de fibras solúveis, 10% de polifenóis, 8-10% de carotenóides e o percentual restante é constituído por flavonoides e diferentes tipos de taninos (ALVES-SANTOS, et al. 2022).

O principal polifenol identificado no exocarpo do pequi é o ácido gálico, sendo a substância majoritária responsável pela capacidade antioxidante do fruto. Outras substâncias com essa atividade também foram identificadas: ácidos protocateico, p-cumárico, elágico, quínico, p-hidrobenzóico, quercetina e luteolina. A maior parte do teor de carotenóides encontrados foram compostos pela β -criptoxantina, neoxantina e β -caroteno (ALVES-SANTOS, et al. 2022; BRITO CANGUSSU, et al. 2021).

As propriedades dos compostos polifenólicos incluem a redução da cardiotoxicidade do miocárdio de cobaias laboratoriais, redução dos níveis de glicose no sangue, inibição de enzimas como α -glucosidase e amilases (marcadores medicinais que em determinadas concentrações indicam inflamações no organismo e doenças como diabetes). A catequina, luteolina e demais flavonóides são responsáveis por atribuir peculiaridades benéficas ao fruto como poder antimicrobiano, anti-inflamatório, combater células carcinogênicas e prevenir algumas doenças metabólicas (ALVES-SANTOS, et al. 2022; LEÃO, et al. 2017; ROCHA, et al. 2015).

2.4. Aplicação de compostos bioativos em revestimentos

A modificação dos revestimentos comestíveis tem como principal objetivo adicionar substâncias com propriedades antioxidantes ou antimicrobianas contribuindo para aprimorar a maneira de conservar os frutos, prolongando o tempo de prateleira dos alimentos e contribuindo para manter o sabor dos produtos envolvidos pelo filme (GOL, et al. 2013). O processo de aplicação de compostos bioativos em revestimentos é realizado a partir da seleção da camada do fruto onde se deseja manter os nutrientes, a partir disso pode-se incorporar a substância na superfície externa do fruto, na interface entre a película e o alimento ou em multicamadas presente na superfície da comida (QUIRÓS-SAUCEDA, et al. 2014).

Os bioativos aplicados aos revestimentos comestíveis são metabólitos secundários obtidos de diversas fontes como carotenoides, flavonoides e ácidos fenólicos, entre as principais vantagens de se utilizar essas substâncias está ampliar o prazo de validade dos produtos, incrementar a qualidade nutricional, modificar levemente o sabor, reduzir o risco de agentes patogênicos, diminuir os danos que os fatores ambientais podem causar e interagir com outros componentes da amostra, tornando as características visuais do fruto mais comercialmente atrativas (QUIRÓS-SAUCEDA, et al. 2014).

A funcionalidade dos revestimentos é totalmente dependente da interação entre a película polimérica e os bioativos utilizados, é necessário considerar as forças de coesão, ligações covalentes, iônicas e interações intermoleculares. As estratégias mais divulgadas pela literatura para a fixação dos nutrientes nos biofilmes é a utilização de plastificantes e agentes emulsificantes, pois a aplicação dessas

ferramentas biológicas permite atuar na cadeia carbônica e na polaridade entre os componentes do biofilme (QUIRÓS-SAUCEDA, et al. 2014; ROBLES-SÁNCHEZ, et al. 2013).

Na indústria alimentícia a pectina geralmente tem a função de estabilizantes, incorporantes e espessantes, porém são realizadas alterações estruturais na pectina adicionando grupos metil para produzir metóxidos no esqueleto carbônico da molécula. Essas substâncias são conhecidas pela classe complexa de polissacarídeos com alta densidade molecular que tem funções essenciais para as plantas como a adesão entre as células (MOALEMIYAN, et al. 2011; VALDÉS, et al. 2015). O grau de esterificação das pectinas modifica as propriedades gelificantes da molécula, as cadeias poliméricas podem interagir eletrostaticamente promovendo a formação de uma espécie de gel (ROHASMIZAH, et al. 2022).

A presença de alguns grupos funcionais na pectina e sua capacidade de gerar diferentes tipos de interações por forças intermoleculares possibilita o composto atuar como uma espécie de agente incorporador, contribuindo para adicionar outras substâncias com propriedades bioativas na composição do revestimento produzido, na literatura há indicações que explicitam que o método de emulsificação em solução é mais vantajoso para incorporar substâncias com caráter lipídico na superfície dos alimentos atribuindo propriedades mecânicas a película (ROHASMIZAH, et al. 2022).

2.5. Análises físico-químicas

Os frutos são considerados sistemas dinâmicos que ocorrem diversos processos bioquímicos como oxidação e atuação de enzimas durante sua etapa de maturação. Em uma dessas etapas, denominada transpiração ocorre a perda de massa fresca dos alimentos através da perda de água e trocas gasosas com o meio externo. Portanto, é importante avaliar os parâmetros que influenciam o avanço na perda de massa dos frutos e elaborar alternativas para diminuir essa perda (PINTO, et al. 2012).

2.5.1. Sólidos Solúveis Totais (SST):

A produção de etileno nos frutos indica o início de uma etapa de amadurecimento denominada etapa fisiológica climatérica, caracterizada pelo aumento de sólidos solúveis totais (SST) com aumento de açúcares, ácidos e nutrientes que podem ser dissolvidos em solução aquosa (LI, et al. 2020). A análise

de sólidos solúveis totais podem ocorrer por dois tipos de métodos, os destrutivos, que danificam a amostra para obter os resultados e os não destrutivos que apesar de não danificar a matriz demandam mais recursos laboratoriais e tempo de análise, geralmente esses são mais caros.

Os métodos não destrutivos se baseiam em mensurar uma propriedade correlacionada com os parâmetros físico-químicos dos frutos, por exemplo o monitoramento por software de características vibracionais e elétricas em um ambiente controlado, alguns exemplos desses métodos são a espectroscopia Raman, espectroscopia de infravermelho próximo e tomografia computadorizada (LI, et al. 2020).

2.5.2. Acidez titulável e pH:

As análises de acidez titulável e pH são correlacionadas entre si, ambas buscam determinar analiticamente parâmetros para avaliar a qualidade dos alimentos a partir da concentração de ácido na amostra. A acidez titulável é um ensaio que procura medir a concentração total de ácido na matriz, sendo mais útil para avaliar como essa variável impacta no sabor do alimento, enquanto as análises de pH permitem avaliar o ponto final de uma titulação e a faixa de acidez para um determinado fruto (SADLER, 2010).

2.5.3. Perda de massa:

A perda de água dos frutos também é relacionada a perda de massa dos alimentos, provocando um impacto variável de acordo com a composição e características particulares de cada produto, geralmente a perda de massa está associada a textura ruim, maior escurecimento do alimento, aceleração da senescência e tem um impacto direto no sabor dos frutos, afetando seu interesse comercial (LUFU, et al. 2020).

2.6. Análises fitoquímicas

2.6.1. Fenólicos:

Os polifenólicos são compostos descritos como metabólitos secundários no organismo das plantas, sendo uma classe de substâncias orgânicas abundante no reino vegetal. Esses compostos apresentam propriedades antioxidante e conseqüentemente possuem funções fisiológicas importantes para as espécies vegetais, por exemplo evitar a infecção de patógenos e produção de nutrientes

degradantes a estrutura morfológica da planta, fornece um suporte estrutural para a realização de processos como fixação de água nas raízes e fotossíntese, cujo há relatos da existência de mais de 200.000 polifenóis identificados (DE LA ROSA, et al. 2019; LATTANZIO, 2013).

As substâncias denominadas como metabólitos secundários são quimicamente bem variados estando presentes em células atuantes em processos respiratórios e fotossintéticos, enquanto os primários são constituídos por açúcares, aminoácidos e ácidos nucleicos que auxiliam no desenvolvimento das plantas (DE LA ROSA, et al. 2019). O teor de compostos fenólicos presentes em frutos está relacionado à composição do solo, maturação do vegetal e condições de armazenamento das espécies da flora (HAMINIUK, et al. 2012).

Quimicamente os fenólicos são classificados de acordo com a presença de um ou mais grupos funcionais hidroxila ligados a um anel aromático, a partir disso pode-se classificar esses compostos considerando o número de anéis presentes na estrutura da molécula em ácidos fenólicos, flavonóides, lignanas, taninos condensados, estilbenos, xantonas e demais designadores (LATTANZIO, 2013).

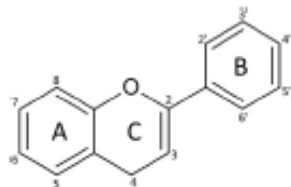
A determinação dos compostos fenólicos de uma amostra é realizada através de diferentes métodos, como os ensaios colorimétricos envolvendo Folin-Denis, Folin-Ciocalteu e titulação com permanganato, entretanto há uma preferência na utilização do método do Folin-Ciocalteu devido a sua sensibilidade, menor número de interferentes e maior facilidade para padronizar erros de manipulação de equipamentos pelos analistas. O ensaio tem como princípio uma reação de oxirredução que ocorre em meio alcalino provocando a formação de um complexo entre o Folin-Ciocalteu e o composto fenólico que possui coloração azulada e apresenta um máximo de absorbância em torno de 760 nm que possibilita a sua quantificação e identificação (DAI, et al. 2010; SINGLETON, et al. 1999).

2.6.2. Flavonoides:

Os flavonoides são definidos como substâncias que contém em sua estrutura dois anéis fenólicos em um esqueleto carbônico heterocíclico, representado pela figura I, cuja grupo apresenta seis subclassificações denominadas: flavonóis, flavononas, isoflavonas, flavonas, antocianinas e flavan-3-ols. Essa classe de compostos são os fenólicos mais encontrados em diferentes tipos de vegetais

distribuídos em inúmeras espécies onde é relatado na literatura a caracterização de mais de 5.000 tipos de flavonoides (BATE-SMITH, 1954; GEISSMAN, 1954; HAMINIUK, et al. 2012).

Figura I: Estrutura dos flavonoides.



Fonte: DE LA ROSA, et al. 2019.

Os benefícios associados ao consumo dos flavonoides estão mais relacionados ao fortalecimento do sistema imunológico, prevenção de doenças cardiovasculares e neurodegenerativas incluindo combate contra alguns tipos de vírus e bactérias que atacam células com funções nessas regiões do corpo, propriedades anti-inflamatórias e anticarcinogênicas (GEISSMAN, 1954).

A identificação de flavonoides geralmente é realizada por análises espectrofotométricas devido ao seu baixo custo, praticidade e sensibilidade. Uma metodologia bastante reportada na literatura consiste na reação de flavonoides com $AlCl_3$ em um solvente alcoólico que contribui para a formação de um complexo que proporciona uma intensificação da absorvância e permite a sua identificação e quantificação (BATE-SMITH, 1954; ZINSHEN, 1999)

2.6.3. Taninos:

Alguns compostos fenólicos apresentam forma polimérica com alto peso molecular, essas substâncias são denominadas como taninos, que tem como principal característica apresentar a propriedade de complexar ao interagir quimicamente com proteínas ou carboidratos. O peso molecular para classificar uma substância como um tanino é estimado de 500 a 3000, cuja classe de compostos é subdividida em taninos hidrolisáveis, ácidos, bases ou algumas enzimas que podem ser fragmentados em outros subprodutos ao reagir em meio aquoso e podem formar uma solução com coloração azul em cloreto férrico (HASSANPOUR, et al. 2011). Os taninos condensados são metabólitos que possuem uma estrutura mais complexa que podem interagir com ácidos ou enzimas formando substâncias poliméricas que atribuem

coloração vermelha às cascas de alguns vegetais (DE LA ROSA, et al. 2019; LATTANZIO, 2013; WHITE, 1957).

O alto teor de diferentes tipos de taninos em vegetais atribuem algumas peculiaridades as plantas, sensorialmente no pequi por exemplo está associado ao sabor amargo de suas cascas, auxiliam na digestão metabólica de proteínas no organismo de alguns animais e promovem o ampliamto da absorção de aminoácidos essenciais para o bom funcionamento do metabolismo (HASSANPOUR, et al. 2011).

O elevado grau de polimerização dos taninos possibilita a formação de complexos entre essas substâncias e diferentes proteínas, devido a essa característica peculiar, a utilização de um agente complexante como o PVPP (polivinilpolipirrolidona) permite a identificação de taninos totais a partir da precipitação dos complexos formados, alguns fatores como o pH, a temperatura e a quantidade de polifenóis estruturais influenciam na reação colorimétrica de identificação de taninos possibilitando realizar a quantificação dessas substâncias por espectrofotometria (MAKKAR, et al. 1995; VERZA, et al. 2008).

2.7. Capacidade antioxidante

O metabolismo oxidativo participa de algumas reações químicas presentes no organismo humano sendo importante para contribuir com a sobrevivência de algumas células, entretanto essas oxidações promovem a produção de radicais livres, espécies reativas que podem sobrecarregar e degradar algumas enzimas, proteínas e até mesmo o DNA. Uma substância antioxidante é definida como uma espécie química que mesmo em concentração baixa em relação ao substrato oxidativo consegue atrasar ou inibir parcialmente o processo de oxidação (ANTOLOVICH, et al. 2002).

As substâncias que apresentam capacidade antioxidante classificadas como primárias inibem a oxidação impedindo a propagação em cadeias dos radicais livres formando compostos neutros por meio de mecanismos orgânicos homolíticos com peróxil e alcóxil, enquanto o secundário retarda os processos oxidativos a partir da remoção de um substrato ou composto que participa das reações com os radicais livres. Deve-se ressaltar que a atividade antioxidante é medida considerando os efeitos do antioxidante utilizado para controlar a oxidação e não pode ser mensurado diretamente (ANTOLOVICH, et al. 2002).

2.7.1. Sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil):

Entre os ensaios para mensurar a atividade antioxidante um dos mais recorrentes e utilizados citados pela literatura é o método de captura do radical orgânico por DPPH, um reagente na forma de um radical cromogênico (produz pigmentos). A realização do experimento para quantificar a atividade antioxidante tem como princípio a transferência de elétrons da substância antioxidante para neutralizar o radical DPPH (RUFINO, et al. 2008; SHAHIDI, et al. 2015).

A avaliação da capacidade antioxidante por DPPH em metanol se baseia na redução do reagente DPPH permitindo realizar o monitoramento da diminuição de sua absorvância através de técnicas espectrofotométricas (BRAND-WILLIAMS, et al. 1995). Os resultados para a atividade antioxidante pode ser fornecida como a concentração efetiva para reduzir em 50% a concentração inicial do DPPH (EC_{50}) a partir da leitura da solução em um espectrofotômetro a 516 nm, outra forma comum de se expressar os resultados é calcular a concentração a partir de um padrão por meio de uma regressão linear fornecendo a capacidade antioxidante equivalente ao padrão de referência utilizado (SHAHIDI, et al. 2015).

2.7.2. Análise antioxidante a partir da redução do ferro (FRAP):

Uma das formas de medir a atividade antioxidante é realizar o ensaio de redução do ferro em um complexo com TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil-S-triazina)), que absorve fortemente em 595 nm. Esse experimento requer um pH baixo para promover uma reação redox com redução das espécies de ferro complexadas, o ensaio é colorimétrico devido a variação do nox das espécies de ferro $3+$ para $2+$ (de vermelho para azul), a reação ocorre de maneira não específica (BENZIE, et al. 1996).

2.8. Validação de método

A validação dos métodos analíticos são processos essenciais para garantir a confiabilidade dos resultados expressos a partir de uma determinada análise, apesar do processo de validação ser longo e exaustivo é importante, pois apresentam evidências por meio de critérios objetivos que um determinado processo analítico está apto para a utilização e permite a obtenção de um nível minimamente aceitável de qualidade para as análises propostas (INMETRO, 2020; MARSON, et al. 2020). O

processo de desenvolvimento e validação de um método científico não apresenta apenas a função de garantir os parâmetros de qualidade exigidos, mas promovem conseqüentemente o aprimoramento dos processos analíticos envolvidos, contribuindo para obter a melhor eficiência de cada etapa do controle de qualidade, de forma a evitar a perda de tempo, dinheiro e recursos destinados a obtenção de determinados produtos ou serviços, evidenciando que a validação é mais lucrativa para a performance das análises a longo prazo (GREEN, 1996).

O desenvolvimento das características adotadas para uma determinada validação de método tem suas especificidades pautadas na aplicação da metodologia pré-estabelecida para realizar uma análise, conseqüentemente o desenvolvimento e a validação de um método são caracterizados como um processo iterativo, ou seja, algumas etapas da validação podem ser repetidas a partir da obtenção de alguns resultados que apontam evidências da necessidade de realizar mais testes para alcançar um critério exigido por algum parâmetro durante uma etapa do método aplicado (INMETRO, 2020; GREEN, 1996).

A partir disso infere-se que as particularidades de cada matriz analisada influenciam consideravelmente no desenvolvimento de um procedimento analítico, para análises cromatográficas por CLAE (HPLC) fatores intrínsecos como o pH da fase móvel, a interação do analito com a coluna, temperatura da fase estacionária, fluxo de injeção do solvente e outras variáveis tornam a otimização das análises mais complexas e conseqüentemente mais importantes para garantir o melhor aproveitamento de tempo e recursos (SAHU, et al. 2018).

A verificação de parâmetros de desempenho é essencial para validar o método justificando a sua confiabilidade. Nas análises cromatográficas por CLAE (HPLC), esses parâmetros são a linearidade, seletividade, limite de detecção e quantificação, precisão, recuperação e efeito matriz (INMETRO, 2020). A avaliação de cada parâmetro pode ser realizada de diversas formas, sendo que esses procedimentos avaliativos estão descritos em documentos normativos que orientam sobre os aspectos gerais de parâmetro na validação.

2.9. Contextualização do ensino de química

A construção de conhecimentos segue um mecanismo de interpretação a partir da experimentação e aplicação de objetos de interesse em situações problemas, a partir disso os indivíduos conseguem utilizar de sua percepção para reconstruir a informação de acordo com suas perspectivas adquirindo a aquisição de conhecimento (MORIN, 2018). Na perspectiva de ensino, o educador atua como um facilitador da aquisição de conhecimento, sendo essencial se conectar com os estudantes para promover uma comunicação coerente que auxilie na transmissão de informação que corrobore com a realidade multidimensional dos discentes (ARROIO, et al. 2006).

De acordo com Mortimer, et al. (2018), a utilização de uma ideia central para explorar conceitos químicos que circundam esse objetivo como uma maneira de aproximar os objetos de estudo com aspectos cotidianos dos estudantes. Esses aspectos podem ser observados em fenômenos como a oxidação de compostos orgânicos que provocam o escurecimento enzimático de uma maçã, indicando a presença de uma reação química que contribui para a degradação do fruto, alteração de textura e sabor. Essas propostas permitem utilizar os aspectos fenomenológicos, representacionais e teóricos da química para formular aulas em diferentes níveis educacionais.

As aulas propostas podem ser elaboradas levando em consideração a atuação hipotético-dedutiva, ressaltando-se a possibilidade de utilizar caminhos alternativos para avaliar um problema e obter diferentes soluções, essa abordagem permite uma melhor compreensão do trabalho de pesquisa científica ao considerar fatores como custo-benefício, equipamentos disponíveis e duração de análises para promover uma aprendizagem significativa em que o aluno é protagonista de modo ativo (MORTIMER, et al. 2000; SANTOS, et al. 2018).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Produzir e caracterizar um revestimento comestível enriquecido com os compostos bioativos do pericarpo da casca de pequi para retardar os processos fisiológicos do amadurecimento de vegetais.

3.2. Objetivo específico

- Produzir farinha das diferentes partes da casca do pequi;
- Extrair os compostos bioativos da casca do pequi;
- Analisar a quantidade de fenólicos, flavonóides e taninos totais;
- Avaliar a capacidade antioxidante do extrato liofilizado da casca de pequi;
- Produzir uma formulação para o revestimento comestível;
- Aplicar o revestimento comestível em vegetais;
- Realizar análises de controle de qualidade dos alimentos;
- Validar um método para quantificação de ácido gálico presente no pericarpo da casca de pequi;
- Quantificar o teor de ácido gálico presente no pericarpo da casca de pequi;
- Elaborar uma aula sobre os compostos fenólicos.

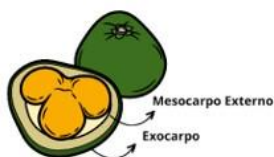
4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Obtenção da farinha de pequi e extração de compostos fenólicos

4.1.1. Obtenção da farinha de pequi:

As cascas foram doadas por comerciantes na região do Gama-DF no período de novembro de 2022 a janeiro de 2023. Os resíduos alimentícios inicialmente foram lavados em água corrente e sanitizados em solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm por 15 min e enxaguadas a 20 ppm. Após o procedimento de sanitização foram retiradas as partes danificadas por injúrias mecânicas ou oxidação, em seguida as cascas foram processadas em três diferentes lotes, um contendo apenas o mesocarpo do fruto, outro apenas com o exocarpo e um terceiro sendo a casca inteira (constituído pelo mesocarpo e o exocarpo do pequi), conforme a figura II. Esses três lotes de cascas foram cortados transversalmente em quatro partes, obtendo-se pedaços de dimensões semelhantes e uniformes. Posteriormente as cascas foram submetidas à secagem em um secador com circulação de ar forçada a 60 °C até peso constante. As cascas secas foram trituradas em moinho de facas e o tamanho de partícula homogeneizados em peneiradas com abertura de malha de 600 µm.

Figura II: Estrutura do pequi.



Fonte: Elaborado pelo autor

4.1.2. Extração de compostos bioativos:

A extração dos compostos bioativos foi realizada conforme Wu, et al. (2020) que consiste na utilização de 0,5 gramas de amostra em uma solução contendo 15 mL de metanol 70% acidificado com 0,1% de HCl, submetida ao banho ultrassom por 30 minutos, centrifugados por 20 minutos e filtrados em papel de filtro qualitativo (80 g/m²), repetindo esse procedimento duas vezes. Os extratos obtidos foram rotaevaporados a 40 °C, liofilizados (-40 °C, a -660 mmHg) e armazenados em freezer até a realização das análises. O rendimento do extrato liofilizado foi realizado em quadruplicata para o mesocarpo (M), exocarpo (E) e pericarpo (P), obtido por gravimetria e o resultado expresso em gramas de amostra *in natura*, necessárias para obter 1,0 g de extrato liofilizado.

Para a realização das análises de fenólicos totais, flavonoides totais, taninos totais e ensaio de atividade antioxidante por DPPH e FRAP, o extrato liofilizado foi ressuspenso em metanol 70%. O procedimento experimental foi resumido no fluxograma do anexo D.

4.2. Análises físico-químicas

4.2.1. Fenólicos totais:

A quantificação de fenólicos totais foi realizada conforme Lin, et al. (2018) a partir da reação de 0,1 mL de extrato da amostra, 0,5 mL de solução de Folin-Ciocalteu 10% e 0,4 mL de carbonato de sódio 7,5% (m/v). Os reagentes com a amostra foram homogeneizados em agitador de tubos, armazenados na ausência de luz por 30 minutos e a leitura foi realizada em espectrofotômetro Biospectro SP-22 com comprimento de onda de 760 nm. Os resultados foram calculados a partir da regressão linear de uma curva analítica de cinco pontos, empregando-se como padrão

o ácido gálico (GA), e expressos em micrograma de GA por miligrama de farinha de casca de pequi ($\mu\text{g GA/mg}$).

4.2.2. Flavonoides totais:

A análise foi realizada de acordo com Zhishen, et al. (1999), a partir da adição de 1,6 mL de solução de AlCl_3 a 1% (m/v) e 0,4 mL de extrato da amostra, homogeneizados em agitador de tubos e mantida na ausência de luz por 30 min. Em seguida, a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 420 nm e os resultados foram calculados a partir da regressão linear de uma curva analítica de cinco pontos e expressos em micrograma de rutina por miligrama de farinha ($\mu\text{g RU/mg}$).

4.2.3. Taninos totais:

O teor de taninos totais foi realizado segundo Makkar, et al. (2003) utilizando a quantificação dos fenólicos totais antes e depois da precipitação dos taninos com a polivinilpolipirrolidona (PVPP). Para a precipitação dos taninos foram adicionados, em um tubo de ensaio, 100 mg de PVPP, 1 mL de água destilada e 1 mL de amostra. A mistura foi homogeneizada em agitador de tubos tipo vórtex por 1 minuto, levada a geladeira a 4 °C por 15 minutos, posteriormente os tubos foram centrifugados a 6000 rpm por 20 minutos, o sobrenadante foi transferido para um microtubo e centrifugado novamente a 10000 rpm por 20 minutos. Para a quantificação dos fenólicos, em tubo de ensaio foram adicionados 0,25 mL de amostra ou do sobrenadante obtido na primeira etapa, 0,125 mL de Folin-Ciocalteau (50% v/v) e 0,625 mL de carbonato de sódio (20% m/v). As soluções foram homogeneizadas, armazenadas por 40 minutos na ausência de luz e em seguida lidas em um espectrofotômetro a 725 nm. Os resultados foram calculados a partir da subtração dos taninos totais pelos fenólicos simples. Estes foram obtidos por meio da regressão linear de uma curva analítica de cinco pontos, empregando-se como padrão o ácido tânico (TA), e expressos em micrograma de TA por miligrama de farinha de casca de pequi ($\mu\text{g TA/mg}$).

4.3. Atividade antioxidante:

4.3.1. DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil):

A atividade antioxidante foi determinada por meio do ensaio de captura do radical DPPH e a solução de DPPH foi preparada a partir de 2,4 mg do reagente em

100 mL de etanol. A análise foi realizada com 975 μL de uma solução com etanol e DPPH com 25 μL de amostra. A leitura foi efetuada em um espectrofotômetro a 515 nm, após 60 minutos em um ambiente escuro. O branco da análise foi feito apenas etanol e o controle foi elaborado com alíquotas da solução de DPPH contendo 25 μL de etanol e 975 μL da solução de DPPH (BRAND-WILLIAMS, et al. 1995; RUFINO, et al. 2007). Os resultados foram calculados por regressão linear em uma curva analítica de cinco pontos, expressos em TEAC (atividade antioxidante equivalente ao Trolox) por grama de amostra ($\mu\text{mol TEAC/g}$).

4.3.2. FRAP:

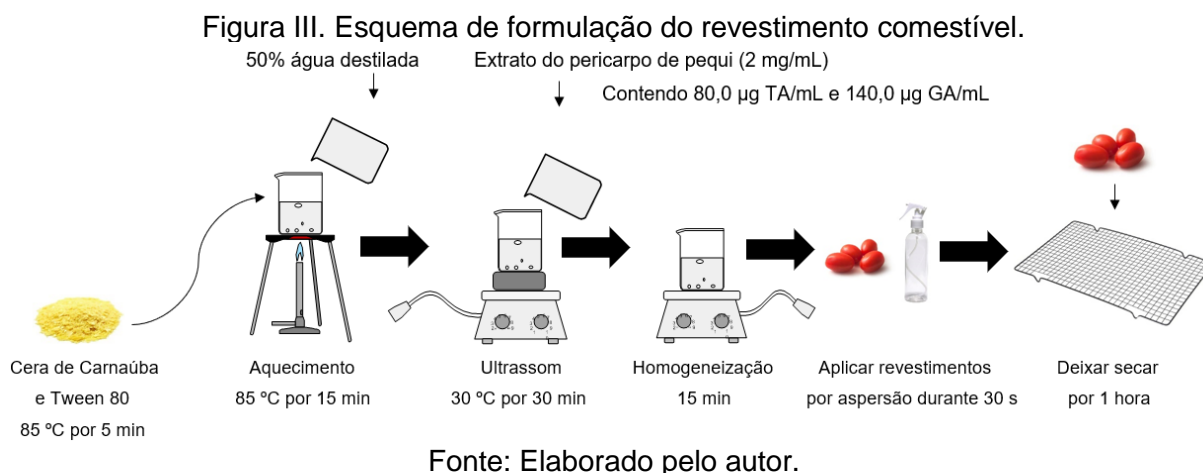
O reagente FRAP foi elaborado a partir de 50 mL de tampão acetato $0,3 \text{ mol.L}^{-1}$ de $\text{pH}=3,6$, 5,0 mL de uma solução de TPTZ 10 mmol.L^{-1} e 5,0 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mmol.L^{-1} . Em um ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 30 μL de cada diluição do extrato para eppendorfs, adicionou-se 30 μL de água destilada e 900 μL do reagente FRAP. A reação foi homogeneizada e levada a uma estufa biológica para descansar por 30 minutos a $37 \text{ }^\circ\text{C}$. O ensaio foi realizado em triplicata e as alíquotas foram lidas em um espectrofotômetro a 595 nm (RUFINO, et al. 2007). Os resultados foram submetidos à regressão linear por meio de uma curva padrão, expressos em TEAC (atividade antioxidante equivalente ao Trolox) por grama de amostra ($\mu\text{mol TEAC/g}$).

4.4. Produção e aplicação do revestimento

A amostra selecionada para a aplicação do extrato no revestimento foi o pericarpo do pequi devido ao seu maior teor de taninos e a possibilidade de utilizar a maior parte dos resíduos do pequi.

Foram produzidos 2 tipos de revestimento conforme Devi, et al. (2023) com adaptações. O primeiro contém apenas cera de carnaúba e o segundo foi preparado com cera de carnaúba e extrato da casca de pequi. Uma mistura foi preparada contendo 2% (m/v) de cera de carnaúba fundida e 2,5% de Tween 80 mantidos sob aquecimento por 5 minutos a 85°C . Em seguida acrescentou-se 50% do volume final de água destilada quente a cada solução e o aquecimento a $85 \text{ }^\circ\text{C}$ foi mantido por mais 15 minutos. Após atingir $40 \text{ }^\circ\text{C}$, foi adicionado uma solução de 2 mg/mL de extrato liofilizado do pericarpo da casca de pequi contendo 80 $\mu\text{g TA/mg}$ ao revestimento

aprimorado, em seguida as soluções foram transferidas para um banho ultrassom a 30 °C por 30 minutos. O revestimento apenas com cera de carnaúba foi elaborado de maneira análoga, sem a adição do extrato da casca de pequi. Ambos os revestimentos foram mantidos sob agitação de 1000 rpm por 15 minutos até sua completa homogeneização, como ilustrado na figura III.



Os tomates pera orgânicos foram adquiridos em mercado local no DF, sendo selecionados no estágio de maturação “de vez”, lavados em água corrente, sanitizados em solução clorada a 100 ppm por 15 minutos e enxaguados a 10 ppm. Depois de secos a temperatura ambiente, os tomates foram submetidos a aplicação dos dois tipos de revestimento comestível por aspersão durante 30 segundos, sendo necessários cerca de 200 mL de cada solução para revestir completamente 80 frutos. Em seguida, os tomates foram mantidos em bandejas para a secagem por 1 hora e posteriormente adicionados em embalagens previamente sanitizadas, pesados e transferidos para uma câmara B. O. D. com temperatura de 25 °C e umidade de 46-48% por 9 dias.

Foi realizado a separação dos tomates em três grupos, sendo estes: o controle, revestimento com extrato da casca de pequi e cera de carnaúba e o revestimento apenas com cera de carnaúba. Para cada grupo foram separadas 10 embalagens com cerca de 54 gramas de tomate pera. Durante o período de 9 dias foram retiradas 2 embalagens de cada grupo nos dias 0, 2, 3, 6 e 9 para análise quanto ao pH, acidez titulável, sólidos solúveis totais (°Brix), perda de massa e avaliação da deterioração visual em função da porcentagem de frutos contaminados. O procedimento experimental foi resumido no fluxograma do anexo C.

4.5. Controle de qualidade dos frutos

4.5.1. Sólidos solúveis totais:

O teor de sólidos solúveis totais foi obtido a partir de uma análise por refratometria, esse ensaio foi realizado com o auxílio de um refratômetro digital calibrado com água, utilizando algodão para transferir a amostra líquida para o equipamento, obtendo-se assim o °Brix, posteriormente corrigido para a temperatura de 20 °C (IAL, 2008).

4.5.2. Acidez titulável e pH:

Para a realização das análises, 5 g de amostra foi dissolvida em 100 mL de água destilada. Primeiramente, foi realizada a análise de pH por meio da leitura direta em um pHmetro devidamente calibrado e posteriormente foi realizada a análise de acidez total por meio da titulação da amostra contra uma solução padronizada de NaOH 0,1 mol/L até a faixa de pH 8,2-8,4. Os resultados da acidez titulável foram expressos em g de ácido cítrico por 100 g de amostra, calculados a partir da equação abaixo (IAL, 2008).

$$acidez = \frac{v_{NaOH} \cdot F \cdot [NaOH] \cdot MM.}{10 \cdot m \cdot n_{H^+}}$$

Legenda: V_{NaOH} – Volume de NaOH gasto na titulação em mL, F – Fator de correção da solução de NaOH, [NaOH] – Concentração molar da solução de NaOH, MM – Massa molar do ácido orgânico presente na amostra em gramas, m – massa da amostra em gramas, n_{H^+} - Número de hidrogênios ionizáveis do ácido orgânico presente na amostra.

4.5.3. Perda de massa fresca:

O parâmetro da perda de massa foi obtido por gravimetria e o resultado foi expresso em percentual de perda de massa fresca de acordo com a fórmula abaixo.

$$Perda\ de\ massa\ (\%) = \frac{(Massa\ inicial - Massa\ final)}{(Massa\ final)}$$

4.5.4. Avaliação da deterioração:

A avaliação foi realizada visualmente em função da porcentagem de frutos degradados durante a realização do experimento.

4.6. Validação de método

A validação do método foi realizada de acordo com Yamaguchi, et al. (2017) com adaptações. Os extratos foram inseridos em um cromatografo (Shimadzu) com injetor automático e volume de injeção de 10 μL . Foi utilizada uma coluna C18 (Phenomenex - Gemini 5 μm , 110 A) de dimensões (150 x 4,60mm) e a fase móvel era composta pelo solvente (A) - Água (H_2O):Ácido fórmico (CH_2O_2) na proporção 99,5:0,5 (v/v) e pelo solvente (B) - Acetonitrila (CH_3CN): Ácido fórmico (CH_2O_2) na proporção 99,5:0,5 (v/v). A separação cromatográfica foi aplicada em gradiente na proporção 95-5% (A/B) de 0 a 35 minutos, 80-20% (A/B) de 35 a 38 minutos, 10-90% (A/B) de 38 a 42 minutos e 95-5% de 42 a 57 minutos para realizar a limpeza da coluna. A temperatura do forno de coluna foi ajustada em 40 °C, com fluxo de injeção de 0,7 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e a detecção do ácido gálico foi efetuada por um detector UV/Vis a 270 nm. O ácido gálico foi quantificado através de uma curva padrão com 6 pontos em triplicata e os resultados foram expressos em mg GA/g.

A validação do método proposto foi realizada de acordo com os pressupostos estabelecidos pelo INMETRO (2020) em suas diretrizes para a orientação sobre a validação de métodos analíticos. Os parâmetros analisados para validar o método foram a seletividade, linearidade, efeito matriz, limite de detecção, limite de quantificação, tendência (recuperação) e precisão.

4.6.1. Seletividade

A seletividade foi avaliada a partir da comparação dos cromatogramas das amostras sem adição de ácido gálico com os cromatogramas das amostras contendo adição do padrão, comparando os tempos de retenção do pico de interesse e verificando a ausência de interferentes próximos.

4.6.2. Linearidade

A avaliação do parâmetro foi realizada a partir da elaboração de uma curva padrão de ácido gálico, em triplicata, contendo 6 pontos, nas seguintes concentrações: 0,01 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 0,016 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 0,02 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 0,03 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 0,04 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ e 0,08 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Inicialmente, verificou-se a igualdade entre a variância (homocedasticidade) dos resíduos e a ausência de valores discrepantes (outliers) para cada nível de concentração, posteriormente a relação linear foi avaliada por

regressão linear utilizando o método dos mínimos quadrados entre o sinal analítico e a concentração de ácido gálico mg GA.mL⁻¹ presente na amostra.

4.6.3. Efeito matriz

A interferência da matriz foi testada através da comparação entre o coeficiente angular da curva de ácido gálico em metanol e a inclinação da curva de ácido gálico na matriz do extrato liofilizado do pericarpo do pequi utilizando o teste de F (*Snedecor*) e o teste de t (*Student*) para avaliar diferenças estatísticas.

4.6.4. Limite de detecção

O limite de detecção (LD) do ácido gálico foi obtido a partir do ensaio de linearidade da curva analítica do padrão de ácido gálico previamente preparado utilizando a equação abaixo.

$$LD = \frac{3,3(DP)}{a}$$

Legenda: DP – Desvio padrão do sinal analítico do branco, a – Coeficiente angular (inclinação) da curva.

4.6.5. Limite de quantificação

O limite de quantificação (LQ) foi determinado pela relação sinal-ruído através da equação abaixo, utilizando o sinal obtido pelo ruído presente no branco do ensaio e o coeficiente angular da curva analítica.

$$LQ = \frac{10(DP)}{a}$$

Legenda: DP – Desvio padrão do sinal analítico do branco, a – Coeficiente angular (inclinação) da curva.

4.6.6. Tendência (Recuperação)

A tendência foi determinada a partir do ensaio de recuperação utilizando a amostra de pericarpo do pequi com a adição de três concentrações distintas do padrão de ácido gálico (0,01 mg.mL⁻¹, 0,04 mg.mL⁻¹ e 0,08 mg.mL⁻¹) com 5 réplicas e um branco. A porcentagem de recuperação foi obtida de acordo com a equação abaixo.

$$\% \text{ de recuperação} = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100$$

Legenda: C₁ – Concentração do analito na amostra fortificada, C₂ – Concentração de analito na amostra não fortificada, C₃ – Concentração do analito adicionado a amostra fortificada.

4.6.7. Precisão

A precisão foi avaliada a partir da repetibilidade de medição, ou seja, as análises foram realizadas pelo mesmo analista, no mesmo equipamento sob as mesmas condições experimentais em dias distintos. Para a análise utilizou-se a amostra do extrato do pericarpo do pequi na concentração de 1 mg.mL⁻¹, com adição padrão de ácido gálico em três concentrações: 0,01 mg.mL⁻¹, 0,04 mg.mL⁻¹ e 0,08 mg.mL⁻¹, com 5 réplicas e um branco. O parâmetro foi calculado como desvio padrão relativo percentual (%DPR), conforme exibido na equação abaixo:

$$\%DPR = \left(\frac{DP}{CMD} \right) \times 100$$

Legenda: DP – Desvio padrão, CMD – Concentração Média Determinada.

4.7. Análise Estatística

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos como média seguida do desvio padrão. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e para comparações entre as médias foi utilizado o teste de Tukey (p<0,05) por meio do software Minitab 16.

4.8. Proposta de aula

A aula foi elaborada explorando tópicos fundamentais para o aprendizado da química. A partir disso foi realizada uma adaptação didática de aspectos dos compostos fenólicos, como sua definição e identificação para incluí-los em um plano de aula e um roteiro experimental para execução em laboratório, conforme os anexos A e B.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Processamento do pequi e rendimento da farinha da casca de pequi

O processamento das cascas de pequi foi realizado com a remoção de resíduo da amêndoa, partes de outros resíduos alimentícios presentes nas cascas e regiões com alto escurecimento enzimático resultando em uma perda de $19,4\pm 3,1\%$ da massa total das cascas obtidas, como observado na tabela II. As cascas de pequi foram divididas em duas regiões, onde o mesocarpo obteve maior representatividade com $74,1\pm 4,9\%$, enquanto o exocarpo detém de apenas $25,9\pm 4,9\%$ do total da casca. Essas observações são coerentes com os dados expostos por Nascimento, et al. (2019) que encontrou cerca de 75-84% do peso do pequi representado pelo pericarpo do fruto.

Após a secagem das diferentes amostras de pequi (exocarpo, mesocarpo e pericarpo), o maior rendimento foi obtido pela farinha do exocarpo, seguido do pericarpo e do mesocarpo, conforme a tabela II. Este resultado pode ser explicado ao considerar que o mesocarpo do pequi possui cerca de $88,6\pm 0,39\%$ de umidade, conforme Costa et al. (2017), portanto a maior parte da água do fruto se encontra nesta região, justificando a maior perda de massa e o menor rendimento para o mesocarpo em relação ao peso inicial utilizado na secagem.

Tabela II: Rendimento percentual da produção de farinha das diferentes partes da casca de pequi.

Amostra	Rendimento da farinha (%)
Mesocarpo	$12,3\pm 0,2$ _b
Exocarpo	$21,1\pm 0,7$ _a
Pericarpo	$16,9\pm 2,3$ _{a b}

Legenda: Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão dos ensaios realizados em triplicata. As letras sobrescritas indicam que os valores são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) para o teste de Tukey.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O rendimento obtido para a produção da farinha de pequi na região do mesocarpo foi inferior aos resultados obtido por Filho, et al. (2018) e Costa, et al. (2017), sendo respectivamente, $19,1\pm 0,53\%$ e $12,6\%$ de rendimento.

A produção de farinha das diferentes partes do pequi apresentam um bom rendimento se comparada a produção de farinhas de outros frutos como o buriti com casca e sem casca, apresentando rendimento menor que 12% (RESENDE, et al. 2019), cascas de cenoura (10,7%) e beterraba (14,4%) (GASPAR, et al. 2020) e maracujá roxo (5,4%) (SAMPAIO, et al. 2022). Esses dados demonstram um bom aproveitamento dos resíduos alimentares do pequi para a produção de produtos alimentícios que podem contribuir para o aprimoramento nutricional de outros alimentos (BEMFEITO, et al. 2020).

5.2. Rendimento do extrato liofilizado da casca de pequi

A retirada de água por rotaevaporação permitiu obter uma amostra com menor umidade, em seguida o processo de liofilização auxiliou na obtenção de um produto mais puro, apresentando majoritariamente os compostos fenólicos. Os resultados para o rendimento da extração estão presentes na tabela III e evidenciaram um maior rendimento do mesocarpo do pequi em relação as demais partes da casca.

Tabela III: Rendimento percentual da extração.

Amostra	Rendimento (%)
Mesocarpo	62,2±1,0 _a
Exocarpo	46,0±2,0 _c
Pericarpo	55,3±2,3 _b

Legenda: Os resultados estão expressos como média±desvio padrão dos ensaios realizados em triplicata. As letras sobrescritas indicam que os valores são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) para o teste de Tukey.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Após o procedimento de liofilização do extrato da casca de pequi foi possível relacionar os dados presentes na tabela II e III para obter a quantidade de massa de casca de pequi necessária para obter 1 g de extrato liofilizado. Os resultados obtidos evidenciam um melhor rendimento para a amostra do pericarpo (10,96 g de casca/ g de extrato) em relação ao mesocarpo (17,49) e exocarpo (39,78). Isso ocorre, pois, o pericarpo apresenta em sua composição uma maior massa devido a presença do mesocarpo e do exocarpo pequi, resultando conseqüentemente em um maior aproveitamento da massa inicial das cascas antes da secagem e produção da farinha.

5.3. Resultados das análises fitoquímicas e atividade antioxidante

Os resultados obtidos para as análises fitoquímicas, representados na tabela IV, evidenciaram um maior teor de fenólicos totais encontrados no exocarpo do pequi em relação ao mesocarpo do fruto, sendo que o teor de fenólicos do pericarpo do pequi é superior ao teor do mesocarpo, pois essa fração do pequi também contém o exocarpo em sua composição. Essas observações estão coerentes com as informações descritas por Brito Cangussu, et al. (2021) e Alves Santos, et al. (2022). Já o maior teor de flavonoides está presente no mesocarpo do pequi, enquanto a maior concentração de taninos está no pericarpo.

Tabela IV: Resultados para as análises fitoquímicas e antioxidantes.

Amostras	Fenólicos totais (μg [GA] /mg)	Flavonoides (μg [RU] /mg)	Taninos (μg [TA] /mg)	DPPH EC50 (mg/mL)	FRAP (μmol [TEAC] /mg)
Mesocarpo	35,1 \pm 0,8 _c	4,0 \pm 0,1 _a	24,2 \pm 0,9 _c	0,57 \pm 0,0 _d	472,5 \pm 7,0 _c
Exocarpo	162,5 \pm 3,0 _a	3,3 \pm 0,3 _c	71,3 \pm 2,0 _b	0,25 \pm 0,0 _a	772,3 \pm 17,3 _a
Pericarpo	70,7 \pm 0,6 _b	3,7 \pm 0,0 _b	80,0 \pm 2,1 _a	0,30 \pm 0,0 _b	662,1 \pm 7,6 _b
Ácido ascórbico	-	-	-	0,34 \pm 0,0 _c	-

Legenda: Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão dos ensaios realizados em triplicata. As letras sobscritas indicam que os valores são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) para o teste de Tukey.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os valores de fenólicos totais encontrados no mesocarpo e pericarpo do pequi foram superiores aos encontrados por Brito Cangussu, et al. (2021) e Alves Santos, et al. (2022) que obtiveram respectivamente, 0,11 \pm 0,003 e 21,35 \pm 7,52 μg GA/mg para o mesocarpo, e 0,44 \pm 0,003 e 22,83 \pm 3,85 μg GA/mg para o pericarpo do pequi. No entanto, os valores de fenólicos obtidos para o pericarpo foram menores que os resultados encontrados por Santos, et al. (2022), 123,74 \pm 9,40 μg GA/mg. A variação dos valores obtidos para a quantificação de fenólicos totais é comumente justificada pela origem geográfica, condições de cultivo, maturação e espécie do fruto (SANTOS, et al. 2022; ZARGOOSH, et al. 2019).

Os resultados encontrados para a quantificação de flavonoides totais foram superiores para a amostra do mesocarpo, seguido do pericarpo e exocarpo do pequi. Os valores obtidos foram inferiores ao teor flavonoides encontrados por Chen, et al.

(2020) em extratos da casca de limão, $6,17 \pm 0,06$ μg RU/mg e superiores aos encontrados por Chen, et al. (2020) para o extrato da casca de pitaia chinesa $2,38 \pm 0,15$ μg RU/mg.

A quantidade de taninos encontrada nas diferentes partes da casca do pequi evidência sua colaboração na quantidade de compostos fenólicos totais nas amostras, apresentando maiores valores para o pericarpo. Ao comparar os resultados com o trabalho de Cangussu, et al. (2021), todas as amostras apresentaram valores superiores ao da farinha de umbu ($10,56 \pm 5,5$ μg TA/mg), porém inferiores ao resultado de Muniyandi, et al. (2019) para amoras indianas, $565,11 \pm 4,9$ μg TA/mg.

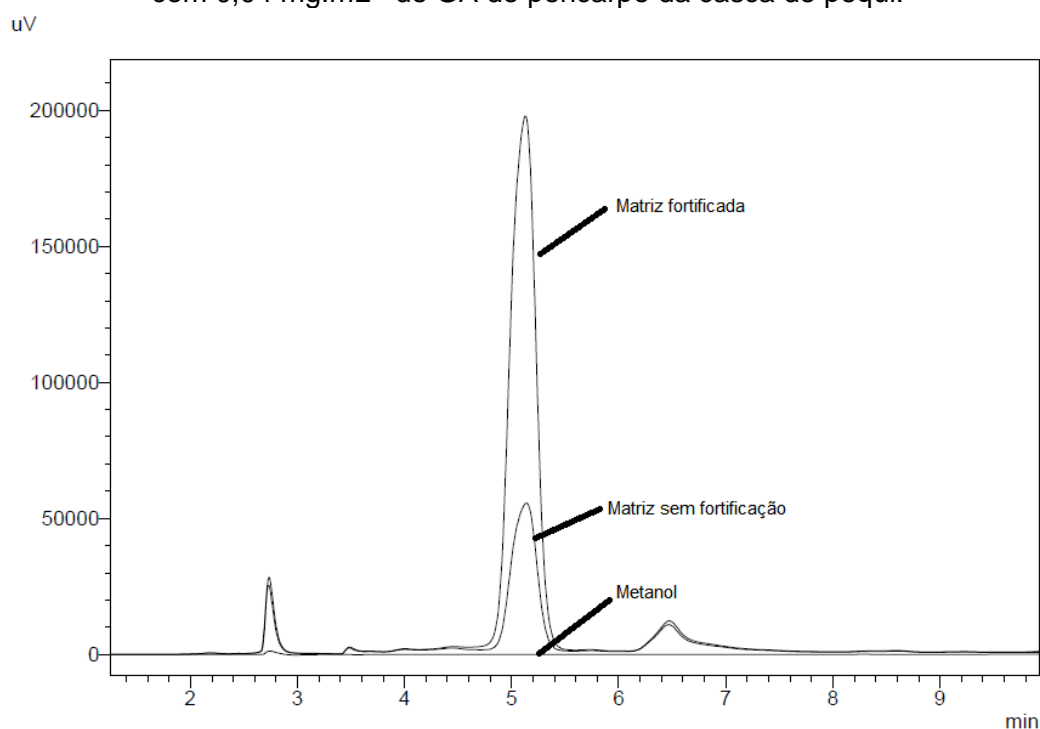
Em relação a capacidade antioxidante, o extrato de exocarpo apresentou melhores resultados quanto ao sequestro do radical DPPH e a capacidade de reduzir o Fe^{3+} , do que as demais amostras, resultado proveniente da maior quantidade de compostos fenólicos nesta parte da casca. Assim, quando comparado ao ácido ascórbico, que é um antioxidante de referência, o exocarpo também apresentou uma atividade antioxidante superior, evidenciando sua alta capacidade quanto ao sequestro do radical DPPH, superando os resultados obtidos em análises de casca de limão fresco e limão siciliano, sendo respectivamente, $1,30 \pm 0,42$ e $1,83 \pm 0,25$ mg/mL de DPPH, em um estudo realizado Azman, et al. (2019). Para a análise de FRAP, os resultados para o extrato liofilizado da casca do pequi foram superiores aos valores encontrados por Otero, et al. (2020) para a polpa de pequi, $1,75 \pm 0,07$ μM TE/mg e inferiores ao dados obtidos por Sethi, et al. (2020) para casca de maçã, $52500 \pm 4,23$ μM TE/mg.

5.4. Resultados para a validação de método

5.4.1. Seletividade

A seletividade do método foi avaliada a partir da comparação entre o cromatograma obtido pela injeção do extrato liofilizado do pericarpo da casca de pequi em metanol com o cromatograma obtido a partir da fortificação do mesmo extrato, conforme a figura IV.

Figura IV. Cromatograma da injeção do extrato de pequi sem fortificação e matriz fortificada com 0,04 mg.mL⁻¹ de GA do pericarpo da casca de pequi.



Fonte: Elaborado pelo autor.

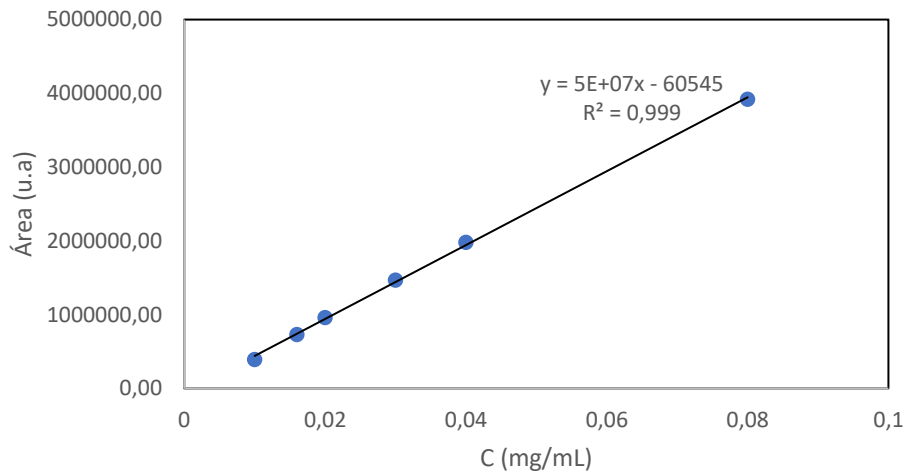
A avaliação do cromatograma exposto na figura IV demonstra a boa separação do pico de ácido gálico presente no tempo de retenção de 5,1 minutos. A ausência de interferentes nas proximidades do analito a ser quantificado garante a uma boa seletividade do método para quantificar o padrão na matriz analisada.

5.4.2. Linearidade

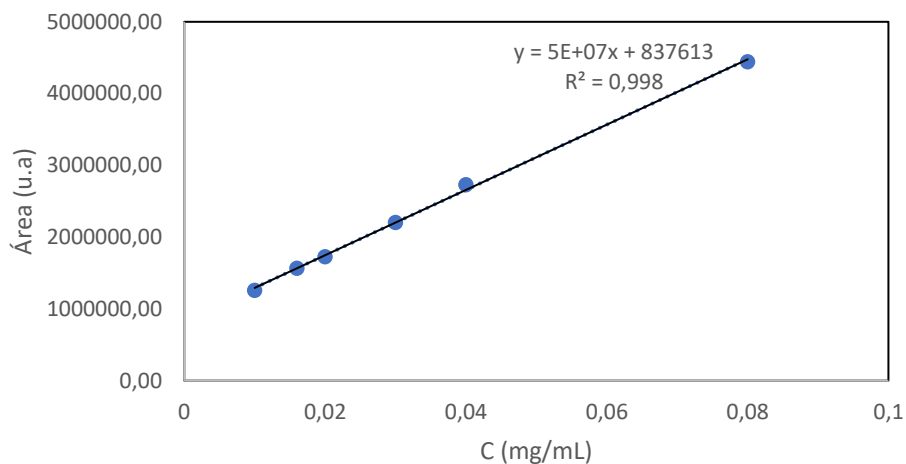
A curva analítica para a análise da linearidade foi plotada para o padrão de ácido gálico e para o extrato liofilizado do pericarpo da casca de pequi fortificado com o analito permitindo avaliar o coeficiente de correlação de cada curva e o ajuste de cada ponto experimental ao gráfico obtido presente na figura V.

Figura V. Curvas de calibração.

a) Ácido gálico em metanol



b) Ácido gálico em pericarpo



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os resultados da avaliação das diferentes curvas analíticas construídas por regressão linear utilizando o ácido gálico na faixa de concentração de $0,01 \text{ mg.mL}^{-1}$ a $0,08 \text{ mg.mL}^{-1}$ evidenciam o ajuste linear do modelo matemático entre o sinal e os níveis de concentração. Ambas as curvas apresentaram o coeficiente de correlação superior a $R^2=0,99$, sendo o parâmetro de aceitação mínimo definido pelo INMETRO (2020), órgão regulatório considerado para a realização deste estudo.

A avaliação gráfica da regressão linear acima não é conclusiva para garantir a linearidade do modelo matemático elaborado sendo necessário realizar uma verificação da homocedasticidade dos resíduos e uma avaliação da linearidade segundo outros testes estatísticos sugeridos pelo Inmetro, como o teste de F e o teste

de Cochran que comprovam a ausência de valores aberrantes para os níveis de concentração utilizados (INMETRO, 2020). Os dados para ambos os testes estão representados na tabela V.

Tabela V: Resultados dos testes de homocedasticidade dos resíduos para 6 níveis.

	$F_{tab} (0,05)$	F_{cal}	$C_{tab} (0,05)$	C_{cal}
Ácido gálico	19	1,25	0,616	0,346
Pericarpo		7,99		0,521

Legenda: $F_{tab} > F_{cal}$ - resíduos homocedásticos, $F_{cal} > F_{tab}$ - resíduos heterodásticos; $C_{tab} > C_{cal}$ - resíduos homocedásticos, $C_{cal} > C_{tab}$ - resíduos heterodásticos.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A comparação entre os resultados para o Teste de F e teste de Cochran evidenciaram uma regressão linear sem a presença de valores aberrantes, permitindo inferir que o ajuste do modelo matemático é realmente linear e apresenta resíduos homocedásticos, portanto é adequado para a quantificar o ácido gálico na matriz.

5.4.3. Efeito matriz

O efeito matriz é um parâmetro que demonstra a supressão ou crescimento do sinal do analito em decorrência das possíveis interferências da amostra. A ausência ou presença desse efeito está diretamente relacionada a natureza da matriz e as influências provocadas por substâncias que compõem a matriz interagirem com o analito (GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, et al. 2019). A tabela XIX apresenta os resultados obtidos para a avaliação do efeito matriz.

Tabela VI: Resultados dos testes para verificação do efeito matriz.

$F_{calculado}$	$F_{tabelado}$	$t_{calculado}$ (uni caudal)	$t_{crítico}$ (uni caudal)	$t_{calculado}$ (bi caudal)	$t_{crítico}$ (bi caudal)
4,00	7,70	0,09	2,91	0,18	4,30

Fonte: Elaborado pelo autor.

A comparação entre as inclinações das curvas analíticas com ácido gálico em metanol e em extrato de pequi não apresentaram diferença estatística nos testes de F e t de Student exibidos na tabela VI, decorrente dos menores valores para os parâmetros calculados em relação as variáveis tabeladas. Portanto pode-se concluir

que a matriz não apresenta efeitos significativos de ampliar ou suprimir os sinais emitidos pelo analito, permitindo a utilização da curva padrão em solvente para quantificar o ácido gálico presente no pericarpo da casca de pequi.

5.4.4. Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção (LOD) indica a menor quantidade de analito que pode ser detectada pelo método desenvolvido, mas não quantificada com precisão, enquanto o limite de quantificação (LOQ) expressa a menor concentração do analito que pode ser quantificada com precisão e exatidão confiáveis (CAVALCANTE, et al. 2022; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, et al. 2019; INMETRO, 2020). A tabela VII apresenta os valores do LOD e LOQ para o ácido gálico.

Tabela VII: Limite de detecção e quantificação para o ácido gálico.

Analito	LOD (mg.mL ⁻¹)	LOQ (mg.mL ⁻¹)
Ácido gálico	0,001	0,001

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os valores obtidos para o limite de detecção e quantificação demonstram a boa sensibilidade do método desenvolvido considerando que os resultados estão abaixo da faixa de concentração de 0,01 a 0,08 mg.mL⁻¹ da curva padrão. A partir disso é possível inferir que o método pode quantificar com precisão as concentrações de ácido gálico presente no pericarpo da casca de pequi.

5.4.5. Ensaios de recuperação e precisão

Os resultados para os testes de recuperação realizados estão dispostos na tabela VIII.

Tabela VIII: Recuperação e precisão para o ácido gálico no pericarpo da casca de pequi.

Concentração (mg.mL ⁻¹)	Recuperação (%)	Precisão (%RSD)
0,01	58,21	11,92
0,04	10,21	22,83
0,08	1,89	31,37

Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com INMETRO (2020), os valores aceitáveis para os testes de recuperação devem estar situados na faixa de 90-107% com desvio padrão relativo abaixo de 20% demonstrando que o método apresenta boa reprodutibilidade (RAPOSO, et al. 2020).

Após analisar os dados da tabela VIII nota-se que os resultados para a recuperação e precisão não foram adequados para satisfazer esses requisitos, portanto a confiabilidade da concentração de ácido gálico estimada pelo método fica prejudicada.

A baixa recuperação obtida nos ensaios pode estar relacionada com a quantidade de etapas realizadas durante o processo de extração, o que promoveu uma diminuição na recuperação. Outro fator que pode contribuir para reduzir a quantidade de ácido gálico recuperada pelo método é a interação entre o analito adicionado e a amostra.

Apesar dos resultados obtidos nos testes de recuperação, foi realizada a quantificação de ácido gálico no pericarpo do pequi foi realizada utilizando a curva analítica do padrão obtida. Dessa forma a farinha do pericarpo apresentou uma concentração de 0,019 mg GA/mg de farinha, sendo necessário ressaltar que muito provavelmente a quantidade de ácido gálico presente na amostra é superior ao relatado devido aos resultados da análise de recuperação que expõem possíveis perdas do analito durante a extração.

5.5. Resultados para as análises com os frutos revestidos

5.5.1. Avaliação dos revestimentos

A avaliação do pH das soluções dos revestimentos apresentou um pH mais ácido e maior teor de sólidos solúveis para a formulação contendo o extrato liofilizado do pericarpo do pequi em relação ao revestimento simples de cera de carnaúba, conforme a tabela IX.

Tabela IX: pH e sólidos solúveis dos revestimentos.

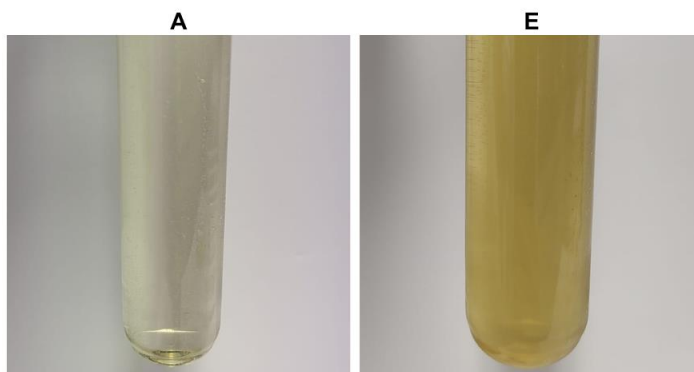
Revestimento	pH	° Brix
Carnaúba	5,05±0,01 _a	3,70±0,00 _b
Extrato de pequi	3,43±0,00 _b	4,20±0,00 _a

Legenda: Os resultados estão expressos como média±desvio padrão dos ensaios realizados em triplicata. As letras sobrescritas indicam que os valores são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) para o teste de Tukey.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A adição do extrato liofilizado do pericarpo de pequi não alterou apenas o pH do revestimento, mas também o seu aspecto visual que apresentou uma coloração levemente marrom diferente do revestimento de carnaúba cuja coloração exibiu um tom levemente amarelo claro, representado na figura VI.

Figura VI. Soluções dos revestimentos. A) Cera de carnaúba, E) Extrato de pequi.

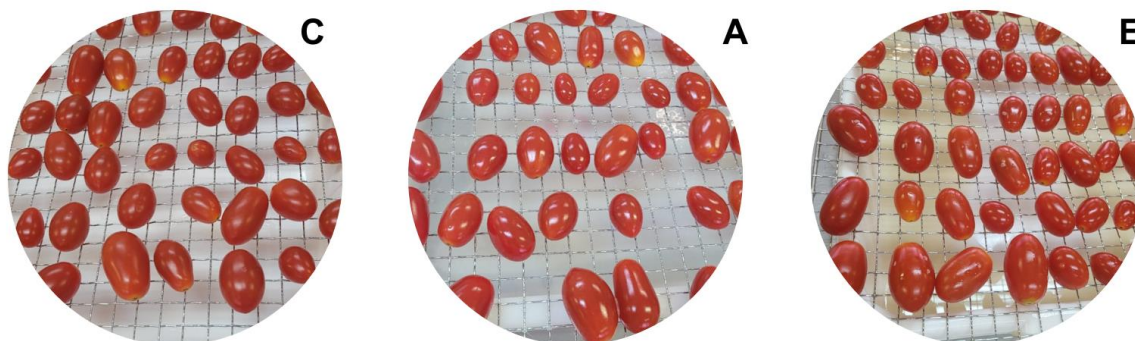


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.5.2. Avaliação visual da deterioração dos frutos

A formulação dos revestimentos comestíveis resultou em um produto homogêneo que ao ser aplicado aos tomates possibilitou uma melhora em seu aspecto visual realçando o brilho de sua casca. Após a secagem do revestimento a superfície externa não se manteve viscosa sendo mais um aspecto positivo de ambos os revestimentos, conforme exposto na figura VII.

Figura VII. Amostras de tomate. C) Controle, A) Tomates revestidos com cera de carnaúba, E) Tomates revestidos com cera de carnaúba e extrato de pequi.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O amadurecimento dos frutos durante o período de estocagem e realização das análises demonstrou crescimento de fungo nos frutos revestidos a partir do 3º dia após o início dos tratamentos, conforme exibido na tabela X.

Tabela X: Crescimento fúngico em porcentagem mássica de tomates.

Tempo (Dias)	Controle (%)	Carnaúba (%)	Extrato de pequi (%)
0	-	-	-
2	-	-	-
3	-	9,16 ± 7,66 _a	9,85 ± 11,86 _a
6	3,14 ± 6,29 _c	16,46 ± 8,60 _a	9,61 ± 7,97 _b
9	10,64 ± 15,05 _c	19,22 ± 6,02 _b	38,48 ± 0,53 _a

Legenda: Os resultados estão expressos como média±desvio padrão dos ensaios realizados em triplicata. As letras sobrescritas indicam que os valores são estatisticamente diferentes considerando as amostras tratadas no mesmo período ($p < 0,05$) para o teste de Tukey.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O crescimento de fungos e degradação por microrganismos são os principais fatores de deterioração que agravam a maturação dos tomates devido à alta presença de água no fruto, que se situa na faixa de 92-95% (YADAV, et al. 2022). É necessário ressaltar que os tomates orgânicos já estão mais propensos ao ataque de fungos e fatores como a composição de metabolitos secundários, alterações bruscas de pH e aumento do teor de etileno podem acentuar a atividade fúngica (SILVA, et al. 2021).

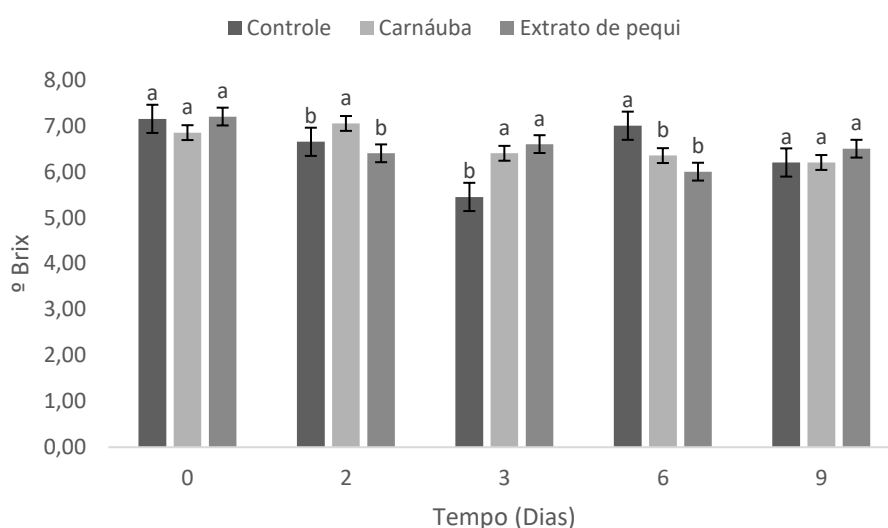
O maior percentual de tomates contaminados nos tratamentos com os revestimentos demonstrou a possibilidade de contaminação por alguma substância presente na cera de carnaúba, além da necessidade de acrescentar etapas de

esterilização previamente a aplicação das soluções que podem ter contribuído para o crescimento dos fungos. Assim é possível notar que a concentração do extrato de pequi não foi o suficiente para promover uma ação antifúngica e conservar os alimentos.

5.5.3. Análise de sólidos solúveis totais

O parâmetro dos sólidos solúveis é essencial para compreender os processos internos que ocorrem no alimento durante seus estágios de maturação, indicando o índice de doçura que geralmente aumenta conforme ocorre a hidrólise dos ácidos orgânicos e outros compostos para açúcares mais simples (DEVI, et al. 2023; YADAV, et al. 2022). É possível notar a tendência decrescente dos sólidos solúveis ao fim do experimento para todos os tratamentos, conforme observado na figura VIII.

Figura VIII: Gráfico de sólidos solúveis totais.



Legenda: Os resultados estão expressos como média±desvio padrão dos ensaios realizados em triplicata. As letras sobrescritas indicam que os valores são estatisticamente diferentes considerando as amostras tratadas no mesmo período ($p < 0,05$) para o teste de Tukey.

Fonte: Elaborado pelo autor.

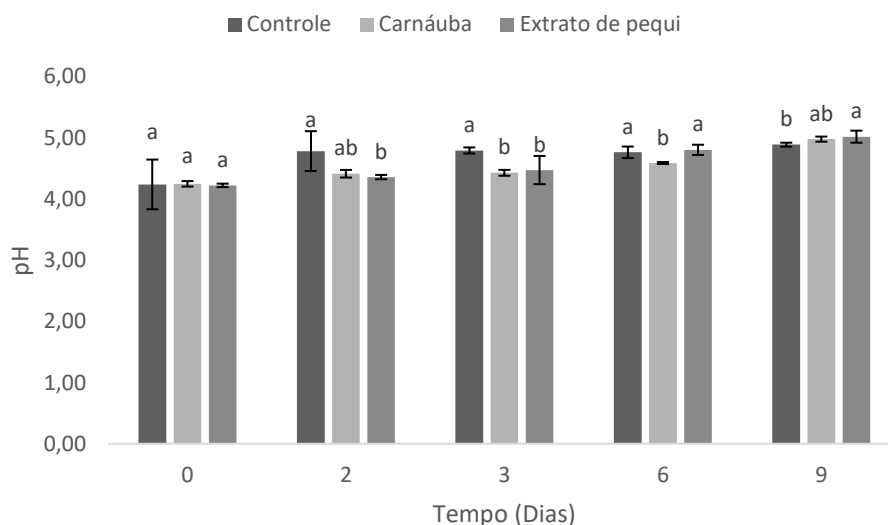
A diminuição dos valores de °Brix contrariam o comportamento comum geralmente reportado na literatura como citado anteriormente. Esse fenômeno indica uma diminuição da taxa de respiração nos frutos durante a senescência que provoca o retardamento da atividade metabólica nos tomates (YADAV, et al. 2022). É necessário ressaltar que a análise foi realizada com tomates independentes, sendo um fator que pode explicar a variação dos sólidos exposta no gráfico.

Os resultados do teor de sólidos solúveis totais não apresentaram diferenças estatísticas no início e no fim do tratamento, apenas apresentando leves divergências entre os frutos revestidos com carnaúba e extrato de pequi em comparação ao controle. Os valores de brix para todos os tratamentos apresentaram variação de 7,0 a 6,30°, sendo um decaimento leve semelhante aos resultados obtidos por Miranda, et al. (2022) que aplicou revestimentos a base de cera de carnaúba em tomates obtendo uma variação de °Brix: 4,5-4,0 que também não apresentou diferenças estatísticas entre as amostras.

5.5.4. Acidez titulável e pH

O comportamento do pH e da acidez titulável pode ser avaliado observando ambos os gráficos das figuras IX e X que apresentam a variação dos parâmetros ao longo do experimento.

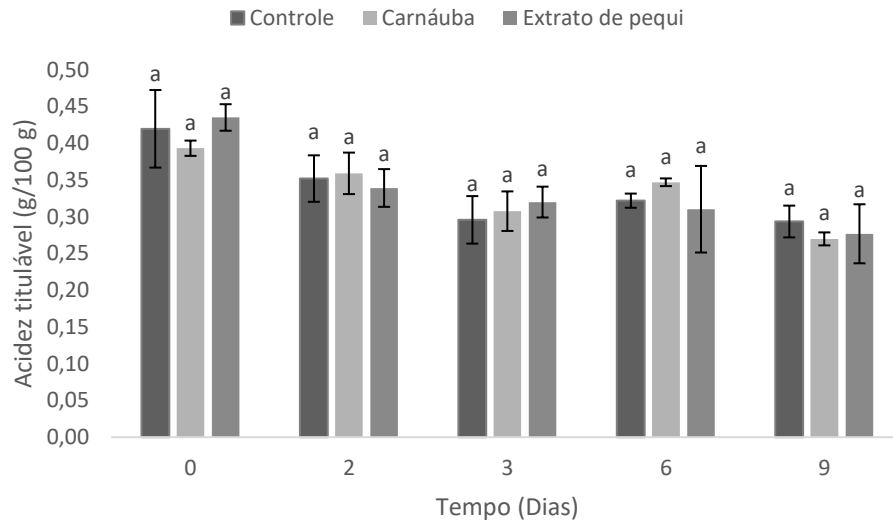
Figura IX: Gráficos de pH dos tomates.



Legenda: Os resultados estão expressos como média±desvio padrão dos ensaios realizados em triplicata. As letras sobrescritas indicam que os valores são estatisticamente diferentes considerando as amostras tratadas no mesmo período ($p < 0,05$) para o teste de Tukey.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura IX: Gráfico de acidez titulável dos tomates.



Legenda: Os resultados estão expressos como média±desvio padrão dos ensaios realizados em triplicata. As letras sobscritas indicam que os valores são estatisticamente diferentes considerando as amostras tratadas no mesmo período ($p < 0,05$) para o teste de Tukey.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O comportamento do pH exhibe um aumento leve e gradual para todos os tratamentos apresentando diferenças estatísticas entre os tomates revestidos e o controle, que se situaram na faixa de 4,2 a 5,0. Ao fim do período da análise os tomates revestidos apresentaram um pH levemente superior ao controle, isso ocorreu devido ao processo de respiração celular durante o amadurecimento (SILVA, et al. 2021; VIGNESH, et al. 2019).

O decréscimo da acidez titulável também está associado a degradação de ácido cítrico, malônico e demais ácidos orgânicos que são substratos atuantes nas etapas de respiração celular (RUIZ-MARTÍNEZ, et al. 2020; YADAV, et al. 2022). Após observar a figura IX foi possível notar como não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos evidenciando a baixa influência dos revestimentos durante o amadurecimento dos frutos.

A relação entre o teor de sólidos solúveis e a acidez titulável permite expressar o índice de maturidade dos frutos (ratio SS/ATT). Esse parâmetro possibilita determinar a qualidade dos frutos, sabor e doçura, aspectos diretamente relacionados com intenção de compra dos consumidores (DEVI, et al. 2023). A variação da maturidade para os testes com os tomates está exibida na tabela XI.

Tabela XI: Índice de maturidade dos tomates.

Tempo (dias)	Controle	Carnaúba	Extrato de pequi
0	16,96 ± 1,26 _a	17,47 ± 1,09 _a	16,46 ± 0,31 _a
2	18,66 ± 1,60 _a	19,67 ± 2,24 _a	18,72 ± 1,13 _a
3	18,89 ± 5,12 _a	20,79 ± 0,96 _a	20,56 ± 2,40 _a
6	21,47 ± 1,63 _a	18,30 ± 1,00 _b	19,95 ± 3,22 _{a,b}
9	21,29 ± 1,62 _a	22,79 ± 0,49 _a	23,72 ± 4,35 _a

Legenda: Os resultados estão expressos como média±desvio padrão dos ensaios realizados em triplicata. As letras sobrescritas indicam que os valores são estatisticamente diferentes considerando as amostras tratadas no mesmo período ($p < 0,05$) para o teste de Tukey.

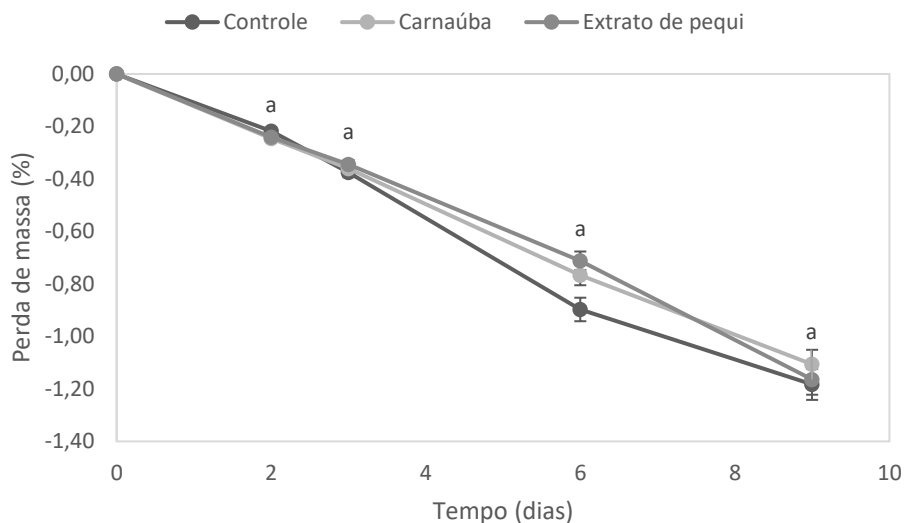
Fonte: Elaborado pelo autor.

O aumento dos valores para o índice de maturidade divergiu estatisticamente apenas no 6º dia do tratamento, no entanto todos os frutos revestidos e não revestidos apresentaram um crescimento gradual na relação de entre sólidos solúveis/acidez titulável. Apesar da diminuição de ambos os parâmetros (SS e ATT), pode-se notar que houve uma maior diminuição da acidez promovendo o crescimento do ratio.

5.5.5. Perda de massa

A perda de massa e a firmeza dos tomates são os dois parâmetros mais importantes para avaliar a eficiência dos revestimentos na conservação dos frutos, pois a perda de massa, proveniente da perda de água implica na alteração da textura dos frutos (YADAV, et al. 2022). A perda de massa percentual está expressa na figura XI.

Figura XI: Perda de massa percentual dos tomates.



Legenda: Os resultados estão expressos como média±desvio padrão dos ensaios realizados em triplicata. As letras sobrescritas indicam que os valores são estatisticamente diferentes considerando as amostras tratadas no mesmo período ($p < 0,05$) para o teste de Tukey.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Após analisar o gráfico da figura XI é possível notar que os tratamentos com os frutos revestidos não apresentaram diferenças significativas das amostras controle, indicando a baixa eficiência dos revestimentos para evitar a perda de água e preservar os alimentos ao longo do tempo.

Esse resultado contradiz as observações experimentais de Miranda, et al. (2022) e Vignesh, et al. (2019) que relataram uma menor perda de massa nos tomates revestidos em relação as amostras controle. A falta de eficiência dos revestimentos na conservação da perda de massa é frequentemente associada aos tipos de interação entre o filme e a superfície do alimento, poucas aplicações das soluções do revestimento e baixa concentração das substâncias ativas na formulação das soluções (YAN, et al. 2019; GIMENEZ, et al. 2017). Conseqüentemente uma forma de aprimorar a efetividade dos revestimentos consiste em adicionar uma maior concentração de cera de carnaúba e do extrato da casca de pequi ou aplicar mais camadas do revestimento na superfície dos frutos.

5.6. Aula sobre identificação de compostos fenólicos

A realização da aula sobre os compostos fenólicos tem como objetivo ensinar os discentes algumas reações químicas que permitem identificar o grupo de fenólicos e os subgrupos de taninos e flavonoides, além de possibilitar a compreensão sobre a

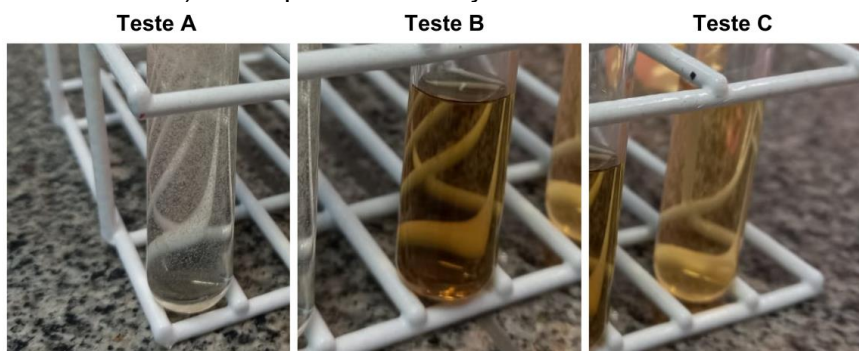
relação entre a intensidade da cor da solução e a concentração dos compostos, desenvolvendo algumas noções de laboratório. Os resultados obtidos para os experimentos estão exibidos nas figuras XII e XIII.

Figura XII: Teste para identificação de fenólicos totais.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura XIII: a) Teste para taninos totais, b) Teste para taninos hidrolisáveis ou condensados, c) Teste para identificação de flavonoides.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O experimento sobre a identificação dos compostos fenólicos demonstra o princípio das reações qualitativas que permitem ao analista aferir a presença ou ausência de um determinado analito a partir de um fenômeno químico, ressaltando como as propriedades dos compostos implicam em reações particulares que possibilitam a sua identificação através de mudanças macroscópicas. Além disso, a diferença na tonalidade da cor azul é uma evidência do aumento da concentração do analito no meio reacional. Essa abordagem permite ao docente explorar temas como preparo de soluções e diluições, destacando as características experimentais observadas.

Os experimentos laboratoriais permitem transmitir fundamentos e noções básicas aos discentes estimulando-os a adquirir perícia no manuseio dos

equipamentos e entender como as boas práticas de laboratório auxiliam na segurança do ambiente.

6. CONCLUSÃO

As etapas de processamento para a produção da farinha de pequi possibilitaram observar um maior rendimento para o exocarpo em relação ao mesocarpo e pericarpo, em virtude do menor teor de umidade nessa região. Entretanto o processo de liofilização da farinha de pequi apresentou um maior rendimento para a região do mesocarpo do fruto. Nas análises fitoquímicas foi possível notar a alta presença de compostos fenólicos na casca do pequi, sendo que o maior teor dessas substâncias está localizado no exocarpo do fruto atribuindo consequentemente maior atividade antioxidante a essa fração do alimento que superou os valores obtidos para o ácido ascórbico.

A validação de método demonstrou a grande quantidade de ácido gálico presente no pericarpo da casca de pequi (0,019 mg GA/mg de casca), sendo descrito em diversos artigos como o fenólico majoritário do pequi. Porém a adição do extrato liofilizado do pericarpo ao revestimento comestível não demonstrou um aprimoramento eficiente na conservação e prolongamento do tempo de vida dos tomates, entretanto a comparação com a formulação contendo apenas cera de carnaúba demonstra a necessidade de avaliar e alterar outras etapas na preparação dos revestimentos para verificar outros possíveis fatores que contribuíram para o crescimento fúngico e deterioração dos tomates, sendo uma alternativa eficaz aumentar a concentração de cera de carnaúba e extrato de pequi nos revestimentos.

Após a realização do estudo ficou evidente a necessidade de utilizar resíduos alimentares como casca de pequi de maneira consciente aproveitando o seu alto potencial bioativo e tecnológico para diferentes aplicações medicinais, farmacológicas ou alimentícias.

6.1. Sugestões para trabalhos futuros

- ✓ Aumentar a concentração de extrato de pequi e cera de carnaúba nas formulações dos revestimentos.
- ✓ Desenvolver uma validação de método para quantificar o ácido gálico presente no mesocarpo e exocarpo das cascas de pequi.
- ✓ Otimizar o processo de extração para promover melhores resultados para os testes de recuperação do ácido gálico.

- ✓ Aplicar o extrato das diferentes frações da casca de pequi em revestimentos comestíveis.
- ✓ Identificar e quantificar outros compostos fenólicos presentes na casca de pequi.
- ✓ Realizar testes antimicrobianos para determinar a concentração inibitória mínima do extrato da casca de pequi.

7. REFERÊNCIAS

- ALVES-SANTOS, A. M; COSTA, P. G. M; NASCIMENTO-SILVA, N. R. R; OLIVEIRA, C. M. A; TEREZAN, A. P; SILVA, A. P. G; NAVES, M. M. V. **The wasted fractions of pequi fruit are rich sources of dietary fibers and phenolic compounds.** Journal of food research: Canadian Center of Science and Education, v. 11, n. 02, p. 26-34, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.5539/jfr.v11n2p26>>.
- ANESE, R. de O; FRONZA, D. **Fisiologia pós-colheita em fruticultura.** Rede E-Tec: UFSM, junho de 2015.
- ANTOLOVICH, M; PRENZLER, P. D; PATSALIDES, E; MCDONALD, S; ROBARDS, K. **Methods for testing antioxidant activity.** The analyst: Royal Society of Chemistry (RSC), v. 127, n. 01 p. 183-198, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1039/B009171P>>.
- ARROIO, A; GIORDAN, M. **Vídeo educativo:** aspectos da organização do ensino. Química nova na escola, v. 03, n. 24, p. 01-08, nov. 2006. Disponível em: <<https://repositorio.usp.br/item/001659013>>.
- ASSIS, O. B. G; BRITTO, D. de. **Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas:** fundamentos e aplicações. Brazilian journal of food technology: FapUNIFESP, v. 17, n. 02, p. 87-97, abr/jun. 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/bjft.2014.019>>.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (A. O. A. C.) **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 16. Ed. Washington: A. O. A. C , 1997. 850p.
- AZEREDO, H. M. C; OTONI, C. G; MATTOSO, L. H. C. **Edible films and coatings -** Not just packaging materials. Current Research in Food Science: Elsevier BV, v. 05, p. 1590-1595, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.09.008>>.
- AZMAN, N. F. I. N; AZLAN, A; KHOO, H. E; RAZMAN, M. R. **Antioxidant Properties of Fresh and Frozen Peels of Citrus Species.** Current Research in Nutrition and Food Science Journal: Enviro Research Publishers, v. 07, n. 02, jul. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.7.2.03>>.
- BATE-SMITH, E. C. **Flavonoid compounds in food.** Advances in food research: Elsevier, v. 05, p. 261-300, 1954. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0065-2628\(08\)60224-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2628(08)60224-4)>.

BEMFEITO, C. M; CARNEIRO, J. de D. S; CARVALHO, E. E. N; COLI, P. C; PEREIRA, R. C; VILAS BOAS, E. V. de B. **Nutritional and function potential of pumpkin (*Cucurbita moschata*) pulp and pequi (*Caryocar brasilienses camb.*) peel flours.** Journal of food science and technology: Springer Science and Business media LLC, n. 57, p. 3920-3925, june. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13197-020-04590-4>>.

BENZIE, I. F; STRAIN, J. J. **The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”:** The FRAP assay. Analytical Biochemistry: Elsevier BV, v. 239, n. 01, p. 70-76, Jul. 1996. Disponível em: <<https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>>.

BRAND-WILLIAMS, W; CUVELIER, M. E; BERSET, C. **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.** LWT - Food Science and Technology, v. 28, n. 01, p. 25-30, jan. 1995. ISSN 0023-6438. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)>.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RDC nº 216, de 15 de Setembro de 2004. **Regulamento de boas práticas para serviços de alimentação.** Brasília: Anvisa, 2004. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0216_15_09_2004.html>.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RDC nº 166, de 24 de Julho de 2017. **Estabelecimento de critérios de validação de métodos analíticos.** Brasília: Anvisa, 2017. Disponível em: <https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401>.

BRASIL. Ministério da educação. **Base Nacional Comum Curricular.** Brasília, 2018. Disponível online em: <http://basenacionalcomum.mec.gov.br/images/BNCC_EI_EF_110518_versaofinal_site.pdf>.

BRITO CANGUSSU, L; P. LEÃO, D; OLIVEIRA, L. S; FRANCA, A. S. **Profile of bioactive compounds in pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) peel flours.** Food chemistry, v. 350, p. 129-221, jul. 2021. Disponível online em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129221>>.

CAVALCANTE, M. A; OLIVEIRA, J.S; BARRETO, M. S. S; PINHEIRO, L. P; CANTUÁRIA, P. C; BORGES, W. L; SILVA, G. A; SOUZA, T. M. **An HPLC Method to Determine Phenolic Compounds of Plant Extracts:** Application to *Byrsonima crassifolia* and *Senna alata* Leaves. *Pharmacog Res*, v. 14, n. 04, p. 395-404, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.5530/pres.14.4.58>>.

CEASA. Central de Abastecimento de Goiás. **Análise Conjuntural**. Goiânia, 2017.

CHEN, H; SUN, Z; YANG, H. **Effect of carnauba wax based coating containing glycerol monolaurate on the quality of maintenance and shelf-life of indian jujube (*Zizyphus mauritiana* lawk) fruit during storage.** *Scientia Horticulturae*, v. 244, p. 157-164, 26 Jan. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.09.039>>.

CHEN, Q; WANG, D; TAN, C; HU, Y; SUNDARARAJAN, B; ZHOU, Z. **Profiling of Flavonoid and Antioxidant Activity of Fruit Tissues from 27 Chinese Local Citrus Cultivars.** *Plants: MDPI AG*, v. 09, n. 02, p. 196-214, Feb. 2020. Disponível em:<<https://doi.org/10.3390/plants9020196>>.

DAI, J.; MUMPER, R. J. **Plant Phenolics:** Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules: MDPI AG*, v. 15, n. 10, p. 7313-7352, Oct. 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/molecules15107313>>.

Da SILVA ANDRADE, L. B; Da SILVA JULIÃO, M. S, et al. **Antioxidant and antifungal activity of carnauba wax powder extracts.** *Industrial crops and products*, v. 125, p. 220-227, 1 Dec. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.004>>.

DE LA ROSA, L. A; MORENO-ESCAMILLA, J. O; RODRIGO-GARCÍA, J; ALVAREZ-PARRILLA, E. **Phenolics compounds (chapter 12).** *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables: Elsevier*, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-813278-4.00012-9>>.

DEVI, L. S; MUKHERJEE, A; DUTTA, D; KUMAR, S. **Carnauba wax based sustainable coatings for prolonging postharvest shelf-life of citrus fruits.** *Sustainable Food Technology: Royal Society of Chemistry (RSC)*, v. 01, p. 415-425, Mar. 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1039/D2FB00049K>>.

DUARTE-ALMEIDA, J. M; SANTOS, R. J. dos; GENOVESE, M. I; LAJOLO, F. M. **Avaliação da atividade antioxidante utilizando o sistema beta-caroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH.** *Food science and technology:*

Campinas, v. 26, n. 02, p. 446-452, jun. 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000200031>>.

European Food Safety Authority. **Scientific Opinion on the re-evaluation of carnauba wax (E 903) as a food additive.** *EFSA Journal*, 10. 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2880>>.

FDA. **Food and Drugs Chapter 9** - federal food, drug, and cosmetic act, Subchapter II - Definitions, Sec. 321 – Definitions; generally, Code of Federal Regulations, Titel 21, Sec. 321 § (1983). Disponível em: <<https://doi.org/CFR>>.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). **Perdas e desperdício de alimentos na segurança alimentar e nutricional.** Março, 2021.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). **Productions índices of food.** Feb, 2020.

FERREIRA, J. A; FERREIRA, J. M. S; TALAMINI, V; FACCO, J. F; RIZZETTI, T. M; PRESTES, O. D; ADAIME, M. B; ZANELLA, R. **Determination of pesticides in coconut (Cocos nucifera Linn.) water and pulp using modified QuEChERS and LC-MS/MS.** *Food chemistry*, v. 213, p. 616-624, July 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.114>>.

FREITAS, C. A. S; DE SOUSA, P. H. M; SOARES, D. J; DA SILVA, J. Y. G; BENJAMIN, S. R; GUEDES, M. I. F. **Carnauba wax uses in food – A review.** *Food Chemistry*, v. 291, p. 38-48, 1 sept. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.133>>.

GASPAR, P. B; SPOTO, M. H. F; BORGES, M. T. M. R; BERNARDI, M. R. V. **Elaboration of flours and cookies with residues from the family agroindustry.** *Brazilian Journal of Development*, v. 06, n. 05, p. 25488–25506, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.34117/bjdv6n5-123>>.

GIMENEZ, A. C; LUIZ, A. V. da S; SOUZA; de A. D. G; BORGES, B. F. et al. **Instrumentação pós-colheita em frutas e hortaliças.** São Carlos, SP: Embrapa instrumentação, 284 p. 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1075734/instrumentacao-pos-colheita-em-frutas-e-hortalicas>>.

GEISSMAN, T. A. **Flavonoids compounds, tannins, lignins and related compounds.** *Journal of Plants Nutrition and Soil Science*, v. 100, n. 01, p. 261-300, 1954. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-1-4831-9718-0.50018-7>>.

GOL, N. B; PATEL, P. R; RAO, T. V. R. **Improvement of quality and shelf-life of strawberries in edible coating enriched with chitosan.** Postharvest Biology and Technology, v. 85, n. 01, p. 185-195, nov. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1413-70542016000100008>>.

GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, R. M; BARRAGÁN-MENDOZA, L; PERAZA-CAMPOS, A. L; MUÑIZ-VALENCIA, R; CEBALLOS-MAGAÑA, S. G; PARRA-DELGADO, H. **Validation of an HPLC-DAD method for the determination of plant phenolics.** Revista Brasileira de Farmacognosia. v. 29, p. 689-693. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.06.002>>.

GREEN, J. M. Peer Reviewed: **A Practical Guide to Analytical Method Validation.** Analytical Chemistry: American Chemical Society (ACS), v. 68, n. 09, p. 305-309, 1996. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/ac961912f>>.

HAMINIUK, C. W. I; MACIEL, G. M; PLATA-OVIEDO, M. S. V; PERALTA, R. M. **Phenolics compounds in fruits - An Overview.** International Journal of Food Science & Technology, v. 47, n. 10, p. 2023-2044, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x>>.

HASSANPOUR, S; MAHERI-SIS, N; ESHRATKHAH, B; MEHMANDAR, F. B. **Plants and secondary metabolites (Tannins): A Review.** International Journal of forest, soil and erosion, n. 01, v. 01, p. 47-53, nov. 2011. Disponível online em: <https://www.researchgate.net/publication/216069956_Plants_and_secondary_metabolites_Tannins_A_Review>.

IAL - Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos 4.** São Paulo: Instituto Adolfo Lutz: 2008.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia Normalização e Qualidade Industrial. **Orientação sobre a validação de métodos analíticos (DOQ-CGCRE-008).** 30. p, 2020.

JACOMINO, A. P; MARTÍNEZ OJEDA, R; KLUGE, R. A; SCAPARE FILHO, J. A. **Conservação de goiabas tratadas com emulsões de cera de carnaúba.** Revista Brasileira de Fruticultura. FapUNIFESP, v. 25, n. 03, p. 401-405, dez. 2003. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-29452003000300010>>.

KADER, A. A. **Fruit maturity, ripening, and quality relationships.** Leuven, Belgium: Acta Horticulturae. International Society for Horticultural Science (ISHS), n. 485, p. 203–208, 1999. Disponível em: <<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1999.485.27>>.

LATTANZIO, V. **Phenolic Compounds: Introduction**. Natural Products: Springer Berlin Heidelberg, p. 1543-1580, july. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_57>.

LEÃO, D. P; FRANCA, A. S; OLIVEIRA, L. S; BASTOS, R; COIMBRA, M. A. **Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flour prepared from pequi (Caryocar brasiliense Camb.) fruit by-products**. Food chemistry, v. 225, p. 146-153, jun. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.027>>.

LI, J. L; SUN, D. W; CHENG, J. H. **Recent advances in nondestructive analytical techniques for determining the total soluble solids in fruits: A review**. Comprehensive reviews in food science and food safety: Wiley, v. 15, n. 05, p. 897-911, sep. 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12217>>.

LIN, S; GUO, H; GONG, J. D. B; LU, M; LU, M. Y; WANG, L; ZHANG, Q; QIN, W; WU D. T. **Phenolic profiles, b-glucan contents, and antioxidant capacities of colored Qingke (Tibetan hulless barley) cultivars**. Journal of Cereal Science v. 81, n. 05, p. 69–75, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.04.001>>.

LUFU, R; AMBAW, A; OPARA, U. L. **Water loss of fresh fruit: Influencing pre-harvest and postharvest factors**. Scientia Horticulturae: Elsevier BV, v. 272, p. 01-16, oct. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109519>>.

MALTA, L. G; LIU, R. H. **Analysis of total phenolics, total flavonoids and total antioxidant activities in foods and dietary supplements**. Encyclopedia of agriculture and food systems: Elsevier, p. 305-314, 2014. Disponível online em: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52512-3.00058-9>>.

MAKKAR, H.P.S. **Measurement of Total Phenolics and Tannins Using Folin-Ciocalteu Method**. In: Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage. Springer, dordrecht. p. 49-51, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-94-017-0273-7_3>.

MAKKAR, H. P. S; BLÜMMEL, M; BECKER, K. **Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins, and their implication in gas production and true digestibility in vitro techniques**. British Journal of Nutrition: Cambridge University Press (CUP), v. 73, n. 06, p. 897-913, Jun. 1995. Disponível em: <<https://doi.org/10.1079/bjn19950095>>.

MUNIYANDI, K; GEORGE, E; SATHYANARAYANAN, S; GEORGE, B. P; ABRAHAMSE, H; THAMBURAJ, S; THANGARAJ, P. **Phenolics, tannins, flavonoids and anthocyanins contents influenced antioxidant and anticancer activities of Rubus fruits from Western Ghats, India.** Food Science and Human Wellness: Tsinghua University Press, v. 08, n. 01, p. 73-81, March. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.03.005>>.

MARCO, G. J. **A rapid method for evaluation of antioxidants.** Journal of American Oil Chemists Society: Wiley, v. 45, n. 09, p. 594-598, sept. 1968. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/BF02668958>>.

MARTINEZ-GONZALEZ, A. I; DÍAZ-SÁNCHEZ, Á. G; ROSA, L. A. de; VARGAS-REQUENA, C. L; BUSTOS-JAIMES, I; ALVAREZ-PARRILLA, E. **Polyphenolic compounds and digestive enzymes: In vitro non-covalents interactions.** Molecules: MDPI AG, v. 22, n. 4, p. 669-693, Apr. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/molecules22040669>>.

MARSON, B; CONCENTINO, V; JUNKERT, A; FACHI, M; VILHENA, R; PONTAROLO, R. **Validation of analytical methods in a pharmaceutical quality system: an overview focused on HPLC methods.** Química Nova: Sociedade Brasileira de Química (SBQ), v. 43, n. 08, p. 1190-1203, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170589>>.

MCDOUGALL, G. J; STEWART, D. **The inhibitory effects of berry polyphenols on digestive enzymes.** BioFactors: Wiley, v. 23, n. 04, p. 189-195, Dec. 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/biof.5520230403>>.

MILLER, H. E. **A simplified method for evaluation of antioxidants.** Journal of American Oil Chemists Society: Wiley, v. 48, n. 02, p. 91, 1971. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/BF02635693>>.

MIRANDA, M; RIBEIRO, M. D. M. M; SPRICIGO, P. C; PILON, L; MITSUYUKI, M. C; CORREA, D. S; FERREIRA, M. D. **Carnauba wax nanoemulsion applied as an edible coating on fresh tomato for postharvest quality evaluation.** Heliyon: Elsevier BV, v. 08, p. 01-09, jul. 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09803>>.

MOALEMIYAN, M; RAMASWAMY, H. S; MAFTOONAZAD, N. **Pectin-based edible coating for shelf-life extension of ataulfo mango.** Journal of food process

engineering: Wiley, v. 35, n. 04, p. 572-600, Aug. 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2010.00609.x>>.

MONTEIRO, S. S; DA SILVA, R. R; Da S. MARTINS, S. C; BARIN, J. S; DA ROSA, C. S. **Phenolics compounds and antioxidant activity of extracts of pequi peel (Caryocar brasiliense Camb.)**. International food research journal, v. 22, n. 05, p. 1985-1992, 2015. Disponível em: <[http://ifrrj.upm.edu.my/22%20\(05\)%202015/\(36\).pdf](http://ifrrj.upm.edu.my/22%20(05)%202015/(36).pdf)>.

MORIN, E. **Os sete saberes necessários para à educação do futuro**. São Paulo, Editora Cortez, 2018.

MORTIMER, E. E; MACHADO, A. H; ROMANELLI, L. I. **A proposta curricular do estado de Minas Gerais: Fundamentos e pressupostos**. Química nova, v. 23, n. 02, p. 273-283, 2000. Disponível em: <https://quimicanova.sbq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=1482>.

NASCIMENTO-SILVA, N. R. R; NAVES, M. **Potential of whole Pequi (Caryocar Spp.) Fruit - Pulp, Almond, Oil, and Shell - as a Medicinal Food**. Journal of Medicinal Food: Mary Ann Liebert Inc, v. 22, p. 952-962, set. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1089/jmf.2018.0149>>.

OLIVEIRA FILHO, J. G. de; SILVA, G. da C; OLDONI, F. C. A; MIRANDA, M; FLORENCIO, C; OLIVEIRA, R. M. D. de; GOMES, M. de P; FERREIRA, M. D. **Edible coating based on carnauba wax nanoemulsion and cymbopogon martinii essential oil on papaya postharvest preservation**. Coatings: MDPI AG, v. 12, n. 11, p. 1700-1709, 8 nov. 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/coatings12111700>>.

OLIVEIRA, M. E. B. de; GUERRA, N. B; BARROS, L. de M; ALVES, R. E. **Aspectos agronômicos e de qualidade do pequi**. Fortaleza: Embrapa agroindústria tropical, 2008. 32 p. (Documentos 113). Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/pequi2_000g6vgzrwj02wx5ok0wtedt3jlubacj.pdf>.

OTERO, D; ANTUNES, B; BOHMER, B; JANSEN, C; CRIZEL, M; LORINI, A; KRUMREICH, F; ZAMBIAZI, R. C. **Bioactive compounds in fruits from different regions of Brazil**. Revista chilena de nutrición, v. 47, n. 01, p. 31-40, fev. 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182020000100031>>.

PINTO, J. A. V; BRACKMANN, A; SCHORR, M. R. W; VENTURINI, T. L; THEWES, F. R. **Indução de perda de massa na qualidade pós-colheita de pêssegos “Eragil” em armazenamento refrigerado.** Ciência rural: Fitotecnia, v. 42, n. 06, p. 962-968, jun. 2012. Disponível online em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782012000600002>>.

PODSEDEK, A; MAJEWSKA, I; REDZY尼亚, M; SOSNOWSKA, D; KOZIOŁKIEWICZ. **In Vitro Inhibitory Effect on Digestive Enzymes and Antioxidant Potential of Commonly Consumed Fruits.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 62, n. 20, p. 4610-4617, May. 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/jf5008264>>.

QUIRÓS-SAUCEDA, A. E; AYALA-ZAVALA, J. F; OLIVAS, G. I. **Edible coatings as encapsulating matrices for bioactive compounds: a review.** Journal of Food Science Technology, v. 51, n. 09, p. 1674-1685, Jan. 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13197-013-1246-x>>.

RAMOS, C. A. M. **O arroz com pequi na formação da cultura alimentar goiana. 2017. 26 f. Trabalho de conclusão de curso (graduação) – Faculdade de nutrição, Universidade Federal de Goiás, 2017.** Disponível em: <<https://repositorio.bc.ufg.br/handle/ri/12434>>.

RESENDE, L. M; FRANCA, A. S; OLIVEIRA, L. S. **Buriti (Mauritia flexuosa L. f.) fruit by-products flours: Evaluation as source of dietary fibers and natural antioxidants.** Food Chemistry, v. 270, p. 53-60, jan. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.079>>.

ROBLES-SÁNCHEZ, R. M; ROJAS-GRAU, M. A; ODRIOZOLA-SERRANO, I; GONZÁLEZ-AGUILAR, G; MARTIN-BELLOSO, O. **Influence of alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut Kent mangoes.** LWT - Food Science and Technology: Elsevier BV, v. 50, n. 01, Jan. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.021>>.

RAPOSO, F; IBELLI-BIANCO, C. **Performance parameters for analytical method validation: Controversies and discrepancies among numerous guidelines.** TrAC Trends in Analytical Chemistry: Elsevier BV, v. 129, p. 01-22, ago. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115913>>.

ROCHA, L. B; MELO, A. M; PAULA, S. L. A; NOBRE, S. A. M; ABREU, I. N. **Gallic acid as the major antioxidant in pequi (Caryocar brasiliense Camb.) fruit peel.**

Revista brasileira de plantas medicinais: FapUNIFESP, v. 17, n. 04, p. 592-598, oct-dec. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-084X/14_062>.

ROESLER, R; MALTA, L. G; CARRASCO, L. C; HOLANDA, R. B; SOUSA, C. A. S; PASTORE, G. M. **Atividade antioxidante de frutas do cerrado**. Ciência e tecnologia de alimentos: FapUNIFESP (SciELO), v. 27, n. 01, p. 53-60, mar. 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000100010>>.

ROHASMIZAH, H; AZIZAH, M. **Pectin-based edible coatings and nanoemulsion for the preservation of fruits and vegetables: A review**. Applied food research: Elsevier BV, v. 02, n. 02, p. 01-09, Dec. 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100221>>.

ROHN, S; RAWEL, H. M; KROLL, J. **Inhibitory Effects of Plant Phenols on the Activity of Selected Enzymes**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 50, n. 12, p. 3566-3571, May. 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/jf011714b>>.

RUFINO, M. d. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. d.; MORAIS, S. M. d. et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP)**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007.

RUFINO, M. d. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. d.; MORAIS, S. M. d. et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007., 2008.

RUIZ-MARTÍNEZ, J; AGUIRRE-JOYA, J. A; ROJAS, R; VICENTE, A; AGUILAR-GONZÁLEZ, M. A; RODRÍGUEZ-HERRERA, R; ALVAREZ-PEREZ, O. B; TORRES-LEÓN, C; AGUILAR, C. N. **Candelilla Wax Edible Coating with Flourensia cernua Bioactives to Prolong the Quality of Tomato Fruits**. Foods: MDPI AG, v. 09, n. 09, p. 1303-1315, set. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/foods9091303>>.

SADLER, G. D; MURPHY, P. A. **pH and titratable acidity**. Food Science texts series: Springer US, 2010. Disponível online em: <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1478-1_13>.

SAHU, P. K; RAMISETTI, N. R; CECCHI, T; SWAIN, S; PATRO, C. S; PANDA, J. **An overview of experimental designs in HPLC method development and validation**. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 147, p. 590-611, Jan. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.05.006>>.

SAMPAIO, R. F.; LIMA, V. da C.; BUNGART, G. A. M.; CORREIA, L. D. B.; TOBAL, T. M. **Flour of Winged-stem Passion Fruit Peel: Nutritional Composition, Incorporation in Cookies, and Sensory Acceptability.** Brazilian Archives of Biology and Technology: FapUNIFESP, v. 65, p. 01-08, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-4324-2022200776>>.

SANTOS, B; TANIGAKI, M; SILVA, M; RAMOS, A. L; LABANCA, R; AUGUSTI, R; MELO, J; TAKAHASHI, J; DE ARAÚJO, R. **Development and Chemical Characterization of Pequi Pericarp Flour (Caryocar brasiliense Camb.) and Effect of in vitro Digestibility on the Bioaccessibility of Phenolic Compounds.** Journal of the Brazilian Chemical Society: Sociedade Brasileira de Química (SBQ), v. 33, n. 09, p. 1058-1068, 2022. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20220022>>.

SANTOS, B. C. D; FERREIRA, M. **Contextualização como princípio para o ensino de química no âmbito de um curso de educação popular.** Experiências em ensino de ciências, v. 13, n. 05, p. 497-511, 2018. Disponível em: <https://if.ufmt.br/eenci/artigos/Artigo_ID554/v13_n5_a2018.pdf>.

SANTOS, K. L. dos; CENCI, M. M; GRABOWSKI, G; JAHNO, V. D. **Perdas e desperdícios de alimentos: reflexões sobre o atual cenário brasileiro.** Reflexões sobre o atual cenário brasileiro. Campinas: Brazilian Journal of food technology. Review article , v. 23, p. 01-12, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1981-6723.13419>>.

SETHI, S; JOSHI, A; ARORA, B; BHOWMIK, A; SHARMA, R. R; KUMAR, P. **Significance of FRAP, DPPH, and CUPRAC assays for antioxidant activity determination in apple fruit extracts.** European Food Research and Technology, v. 246, p. 591-598, jan. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00217-020-03432-z>>.

SHAHIDI, F; ZHONG, Y. **Measurement of antioxidant activity.** Journal of functional foods: Elsevier BV, v. 18, p. 757-781, oct. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>>.

SILVA, C. J; VAN DEN ABEELE, C; ORTEGA-SALAZAR, I; PAPIN, V; ADASKAVEG, J. A; WANG, D; CASTEEL, C. L; SEYMOUR, G. B; BLANCO-ULATE, B. **Host susceptibility factors render ripe tomato fruit vulnerable to fungal disease despite active immune responses.** Journal of Experimental Botany: Oxford

University Press (OUP), v. 72, n. 07, p. 2696-2706, jan. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jxb/eraa601>>.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. **Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents**. American Journal of Enology and Viticulture, 16, n. 3, p. 144, 1965. Disponível em: <<https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>>.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. **Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent**. Methods in enzymology, v. 299, p. 152-178, 1999. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)>.

SUHAG, R.; KUMAR, N.; TRAJKOVSKA PETKOSKA, A.; UPADHYAY, A. **Film formation and deposition methods of edible coating on food products: A review**. Food Research International: Elsevier BV, v. 136, p. 01-16, Oct. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109582>>.

SUSMITA DEVI, L.; KALITA, S.; MUKHERJEE, A.; KUMAR, S. **Carnauba wax-based composite films and coatings: recente advancement in prolonging postharvest shelf-life of fruits and vegetables**. Trends in Food Science & Technology, v. 129, p. 296-305, november 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.09.019>>.

TAN, Y.; CHANG, S. K. C. **Digestive enzyme inhibition activity of the phenolic substances in selected fruits, vegetables and tea as compared to black legumes**. Journal of Functional Foods, v. 38, p. 644-655, Nov. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.04.005>>.

TAN, Y.; CHANG, S. K. C.; ZHANG, Y. **Comparison of α -amylase, α -glucosidase and lipase inhibitory activity of the phenolic substances in two black legumes of different genera**. Food Chemistry, v. 214, p. 259-268, Jun. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.100>>.

VÁLDES, A.; BURGOS, N.; JIMÉNEZ, A.; GARRIGÓS, M. **Natural pectin polysaccharides as edible coatings**. Coatings: MDPI, v. 05, n. 04, p. 865-886, nov. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/coatings5040865>>.

VERZA, S. G.; PAVEI, C.; ORTEGA, G. G. **Study of the Specificity of Cross-Povidone (PVPP) as binding agent in the quantification of polyphenolic compounds**. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 19, n. 08, p. 1627-1633, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-50532008000800025>>.

VIGNESH, R. M; NAIR, B. R. **Improvement of shelf life quality of tomatoes using a novel edible coating formulation.** Plant Science Today: Horizon E-Publishing Group, v. 06, n. 02, p.84-90, 31 mar. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.14719/pst.2019.6.2.443>>.

WHITE, T. **Tannins** - Their occurrence and significance. Journal of the science of food and agriculture: Wiley, v. 08, n. 07, p. 377-385, july. 1957. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jsfa.2740080702>>.

WU, D. T; NIE, X. R; SHEN. D. D; LI, H. Y; ZHAO, L; ZHANG, Q; LIN, D. R; QIN, W. **Phenolic compounds, antioxidant activities and inhibitory effects on digestive enzymes of different cultivars of Okra (*Abelmoschus esculentus*).** Molecules: MDPI AG, v. 25, n. 06, 11 mar, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/molecules25061276>>.

XIAO, F; XU, T; LU, B; LIU, R. **Guidelines for antioxidant assays for food components.** Food Frontiers: Wiley, v. 01, n. 01, p. 60-69, march. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/fft2.10>>.

YADAV, A; KUMAR, N; UPADHYAY, A; SETHI, S; SINGH, A. **Edible coating as postharvest management strategy for shelf-life extension of fresh tomato (*Solanum lycopersicum*L.): An overview.** Journal of Food Science: Wiley, v. 87, n. 06, p. 2256-2290, maio, 2022. Disponível em:<<https://doi.org/10.1111/1750-3841.16145>>.

YAMAGUCHI, K. K. de L; LAMARÃO, C. V; ARANHA, E; SOUZA, R. O. S; OLIVEIRA, P. D; VASCONCELLOS, M; LIMA, E. S; VEIGA-JUNIOR, V. F. **HPLC-DAD profile of phenolic compounds, cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of the amazon fruit *Caryocar villosum*.** Química Nova: Sociedade Brasileira de Química (SBQ), v. 40, n. 05, p. 483-490, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170028>>.

YAN, J; LUO, Z; BAN, Z; LU, H; LI, D; YANG, D.; AGHDAM, M. S; LI, L. **The effect of the layer-by-layer (LBL) edible coating on strawberry quality and metabolites during storage.** Postharvest Biology and Technology: Elsevier BV, v. 147, p. 29-38, jan. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.09.002>>.

ZARGOOSH, Z; GHAVAM, M; BACCHETTA, G; TAVILI, A. **Effects of ecological factors on the antioxidant potential and total phenol content of *Scrophularia striata* Boiss.** Scientific Reports: Springer Science and Business Media LLC, v. 09, n.

01, p. 16021-16036, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-019-52605-8>>.

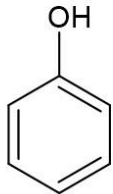
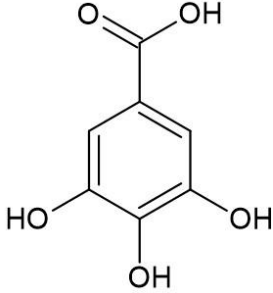
ZHISHEN, J; MENGCHENG, T; JIANMING, W. **The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals.** Food Chemistry: Elsevier BV, v. 64, n. 04, p. 555-559, 1999. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)>.

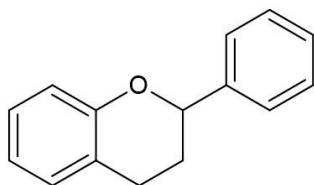
8. Anexo A – Plano de aula sobre identificação de compostos fenólicos

Plano de Aula	
IFB – Campus Gama	
Componente Curricular: Química Analítica	
Duração da aula: 120 minutos	Data: __/__/____
Objetivos	
Geral: Identificar qualitativamente a presença de diferentes compostos fenólicos presentes em uma amostra alimentícia.	
Específico	
Aplicar os conhecimentos de química na área de ciência dos alimentos Compreender como funcionam as reações qualitativas para identificação de fenólicos totais, flavonoides e taninos. Desenvolver uma noção das práticas de um laboratório de química	
Conteúdo	
Compostos fenólicos Reações químicas qualitativas Funções orgânicas Noções de laboratório	
Metodologia	
Aula expositiva com a prática experimental. Competências: Entender as propriedades dos compostos fenólicos Compreender as diferenças entre os subgrupos de substâncias fenólicas estudadas Habilidade: Aprender as características macroscópicas que indicam a presença de uma reação química Entender as reações qualitativas que permitem identificar um tipo de fenólico	
Recursos	

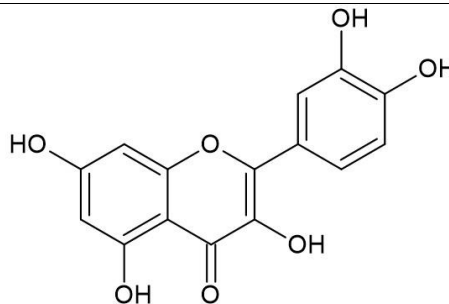
Roteiro experimental, quadro branco, pincel, projetor de imagem e reagentes.
Avaliação
Reunir os estudantes em grupos e responder aos questionamentos levantados após a prática experimental.
Referências
ANGELO, P. M; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. Revista do Instituto Adolfo Lutz, v. 66, n. 01, p. 01-09, 2007. Disponível em: < https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/32841 >.

8. Anexo B – Roteiro sobre identificação de compostos fenólicos

Identificação de compostos fenólicos por reações qualitativas	
Nome:	Data: __ / __ / __
Introdução	
<p>Os compostos fenólicos são substâncias quimicamente caracterizadas pela presença de um grupo funcional hidroxila ligada a um anel de benzeno nas moléculas, como ilustrado na figura I. Os diferentes subgrupos apresentam outras características estruturais que permitem a sua identificação.</p> <p>Figura I. Característica geral e exemplo de um fenólico.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"><div style="text-align: center;"><p>OH</p></div><div style="text-align: center;"><p>O OH</p><p>HO</p><p>OH</p></div></div> <p>Estrutura geral dos fenólicos</p> <p>Ácido gálico</p> <p>Fonte: Elaborado pelo autor.</p> <p>Esse grupo de substâncias é descrito como metabolitos secundários (compostos naturais produzidos pelas plantas) presentes em diversos frutos e vegetais que possuem a função de proteção contra microrganismos, vírus e alguns agentes fúngicos. Sua principal característica são as propriedades antioxidantes (devido a sua riqueza de elétrons) que permitem inibir a oxidação de substratos e capturar radicais livres que contribuem para o início de processos oxidativos. Os compostos fenólicos são divididos em vários subgrupos, no entanto para esse experimento serão estudados apenas os flavonoides e taninos.</p> <p>Os flavonoides são caracterizados pela estrutura geral apresentada abaixo, figura II, seu nome deriva do termo em latim <i>flavus</i>, que significa amarelo e indica a coloração que as substâncias possuem ao reagir com $AlCl_3$. Esses compostos são o grupo de fenólico mais abundante na natureza.</p> <p>Figura II. Característica geral e exemplo de flavonoide.</p>	



Estrutura geral dos flavonoides

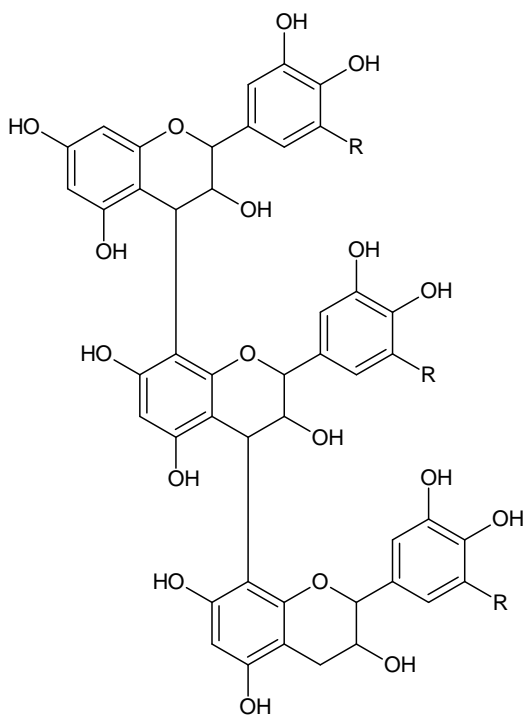


Quercetina

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os taninos são substâncias que apresentam um alto peso molecular (muitos átomos em sua estrutura), devido ao seu alto grau de polimerização (capacidade de combinar várias estruturas menores formando uma estrutura maior), ilustrado na figura III. Esses compostos podem ser identificados pela sua precipitação (formação de um sólido insolúvel) com proteínas.

Figura III. Estrutura de um tanino condensado.



Estrutura de tanino condensado

Fonte: Elaborado pelo autor.

Objetivo

Determinar a presença de compostos fenólicos em um alimento.

Materiais e reagentes

- Almofariz com pistilo;
- Balão volumétrico de 50 mL;
- Algodão;
- Barra magnética

- | | |
|---------------------------------------|---|
| - Béquer | - Chapa aquecedora; |
| - Diferentes tipos de frutos; | - Filtro; |
| - Liquidificador; | - Pipetas Pasteur; |
| - Pisseta com água destilada; | - Solução de Folin-Ciocalteau 10%; |
| - Solução de carbonato de sódio 7,5%; | - Solução de etanol 70%; |
| - Solução de AlCl_3 1%; | - Solução de FeCl_3 1%; |
| - Solução de gelatina (2,5%); | - Solução de HCl (0,1 mol.L ⁻¹). |

Procedimento experimental

- Extração:

1. Cortar 100 g de fruta em pedaços pequenos e triturar em liquidificador doméstico até sua completa homogeneização. Pesar 1 g da fruta triturada em um béquer de 50 mL, adicionar 40 mL de solução de etanol 70%, colocar em chapa aquecedora a 40 °C e deixar agitando por 30 min com auxílio de uma barra magnética. Após este período, transferir para um balão volumétrico de 50 mL, aferir a solução e filtrar em algodão.

- Teste para fenólicos totais:

1. Realizar pelo menos 3 diluições do extrato da amostra em água destilada.
2. Preparar a reação acrescentando 1 mL do extrato diluído, acrescentar 5 mL de solução de Folin-Ciocalteau 10% (v/v) e em seguida 4 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 7,5% (m/v).
3. Agitar levemente a mistura e deixar a reação descansar por 5 minutos.
4. Avaliar a mudança de cor. A coloração azulada intensa indica a presença de compostos fenólicos no extrato.

Obs.: Realizar os outros testes apenas se o resultado for positivo.

- Teste para flavonoides:

Identificação geral:

1. Realizar uma diluição de 1 mL do extrato para 9 mL de água destilada.
2. Preparar a reação adicionando 1 mL do extrato diluído e 4 mL de AlCl_3 a 1% (m/v).
3. Agitar levemente a mistura e deixar a reação descansar por 5 minutos.
4. A coloração amarelada indica a presença de compostos fenólicos no extrato.

- Teste para taninos:

Identificação geral:

1. Colocar 2 mL do extrato da amostra em um recipiente (não diluir);
2. Adicionar 2 gotas de HCl diluído ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) e 5 gotas de uma solução de gelatina (2,5%);
3. Agitar levemente a solução.
4. Avaliar o turvamento da solução. A presença de turvamento no recipiente indica a formação de precipitado e confirma a presença de taninos.

Teste para taninos hidrolisáveis e condensados:

1. Colocar 2 mL do extrato da amostra e 10 mL de água em um recipiente;
2. Adicionar 3 gotas de uma solução de FeCl_3 1%;
3. Agitar levemente a mistura e observar a mudança de coloração. A cor azul indica a presença de taninos hidrolisáveis e a cor verde confirma a presença de taninos condensados.

Resultados e discussão

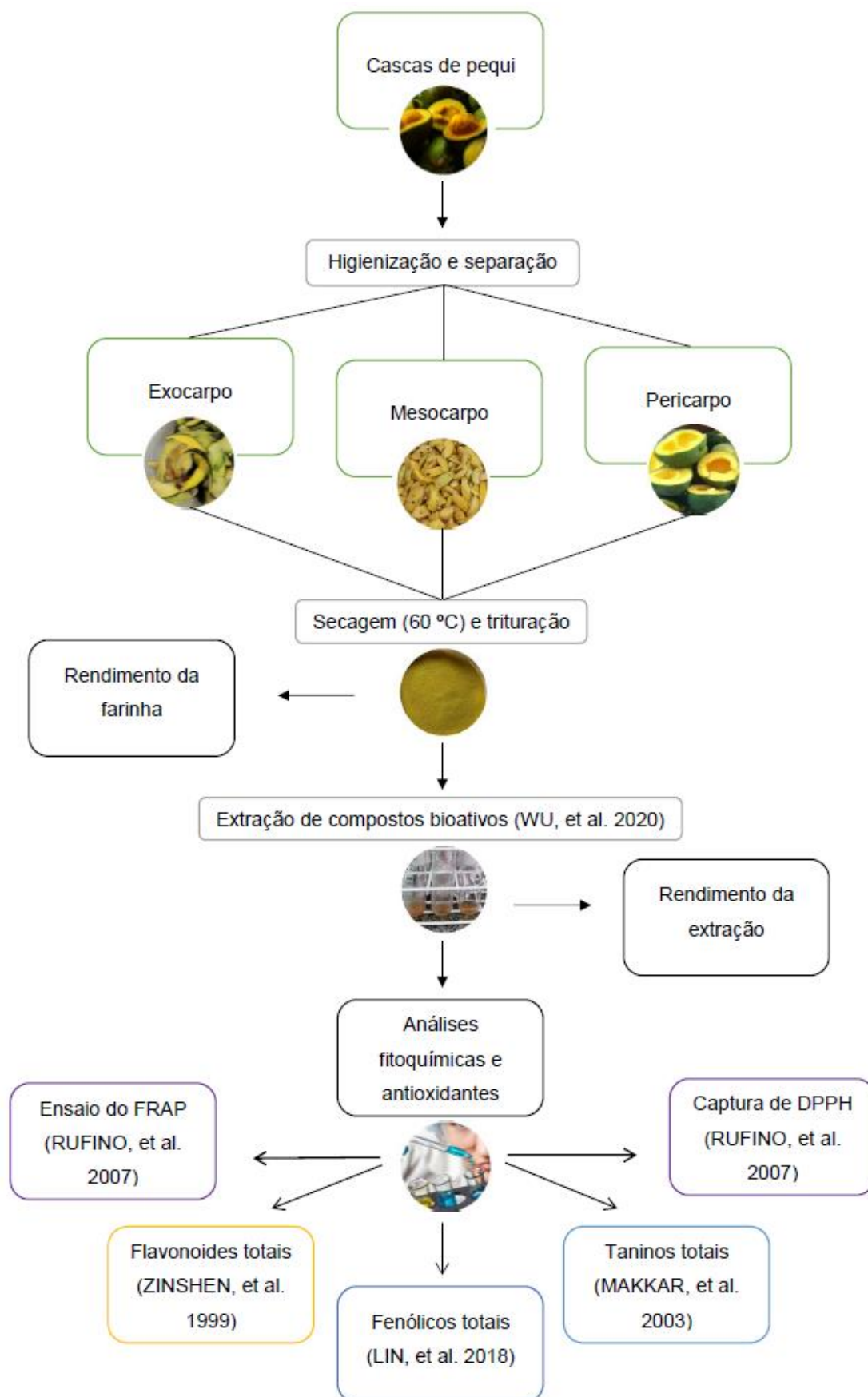
1. Explicar o que são os compostos fenólicos e os subgrupos formados pelos flavonoides e taninos.
2. Discutir sobre como é possível identificar os compostos fenólicos a partir das reações químicas observadas no experimento.
3. Relacionar a intensidade de cor no teste de fenólicos totais com a concentração da amostra.

Referências

- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. **Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents**. American Journal of Enology and Viticulture, 16, n. 3, p. 144, 1965. Disponível em: <<https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>>.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. **Ensino**. 2009. Disponível em: <<http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/index.html>>.

SOARES, S. E. **Ácidos fenólicos como antioxidantes.** Revista de Nutrição, v. 30, n. 02, p. 351-355, jan. 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1415-52732002000100008>>.

8. Anexo C – Fluxograma de análises nas cascas de pequi



8. Anexo D – Fluxograma de análises nos tomates revestidos

