

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO

DETERMINAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE *IN VITRO* DA RUTINA
EXTRAÍDA POR DIFERENTES PROCESSOS DO RESÍDUO
AGROINDUSTRIAL DO TOMATE

Luis Otávio Moreira Silva

2018



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

DETERMINAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE *IN VITRO* DA RUTINA
EXTRAÍDA POR DIFERENTES PROCESSOS DO RESÍDUO
AGROINDUSTRIAL DO TOMATE

LUIS OTÁVIO MOREIRA SILVA

Sob a Orientação de

Dra. Lourdes Maria Correa Cabral

e Co-Orientação de

Dra. Mônica Marques Pagani

Dissertação de mestrado submetida como requisito para a obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos** no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Área de concentração em Tecnologia de Alimentos.

Seropédica, RJ

Março de 2018

S586d Silva, Luis Otávio Moreira, 1993-
Determinação da bioacessibilidade in vitro da
rutina extraída por diferentes processos do resíduo
agroindustrial do tomate. / Luis Otávio Moreira
Silva. - 2018.
62 f.: il.

Orientadora: Lourdes Maria Correa Cabral.
Coorientadora: Monica Marques Pagani.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Pós-graduação em ciência e
tecnologia de alimentos, 2018.

1. Rutina. 2. Resíduo. 3. Ultrassom . 4.
Bioacessibilidade . 5. Tomate. I. Cabral, Lourdes
Maria Correa , 1957-, orient. II. Pagani, Monica
Marques, 1973-, coorient. III Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. Pós-graduação em ciência e
tecnologia de alimentos. IV. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

LUIS OTÁVIO MOREIRA SILVA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de concentração em Tecnologia de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 21/03/2018.

Lourdes Maria Correa Cabral, D. Sc., Embrapa Agroindústria de Alimentos
(Orientadora)

Isabelle Santana, D. Sc., UERJ

Ronoel Luiz de Oliveira Godoy, D. Sc., Embrapa Agroindústria de Alimentos

Aos meus pais pelo
amor e apoio
incondicional, dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por olhar sempre por mim, me fornecer a oportunidade de tantas experiências, e de grandes amizades;

À toda minha família, por ser minha base e por me apoiar em todos os momentos, meus pais Marta e Gilson e minhas irmãs Ana Carolina e Stefânia;

Aos meus amigos e colegas de casa pela amizade e por serem minha família carioca. As minhas amigas e colegas de turma por estarem sempre comigo, Alyne, Izabela e Raphaela;

À minha orientadora, Lourdes Cabral pela paciência e auxílio e as minhas co-orientadoras Monica Pagani e Flavia dos Santos, por estarem sempre dispostas a me ajudar;

A pós-doutoranda Carol Beres por todo o auxílio e conselhos;

Aos técnicos dos laboratórios pelo auxílio durante a execução dos experimentos e pelas experiências trocadas;

À pesquisadora Ana Iraidy, por me ensinar a técnica de ultrassom;

Aos amigos e a todas as pessoas que de forma direta ou indireta me ajudaram durante o período do mestrado;

Por fim, a Capes, pelo auxílio financeiro.

RESUMO

SILVA, Luis Otávio Moreira. **Determinação da bioacessibilidade *in vitro* da rutina extraída por diferentes processos do resíduo agroindustrial do tomate.** 2018. 62p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

O resíduo do processamento tomate tem sido avaliado como potencial fonte de licopeno. Porém, esse material também é rico em flavonoides como a rutina, que podem ser aplicados como ingredientes na indústria de alimentos promovendo benefícios à saúde e valorizando esse resíduo. Usualmente, a extração desses compostos é realizada por métodos tradicionais de extração com solventes orgânicos, como hexano, metanol, etanol, entre outros. Outras técnicas têm sido avaliadas visando aumentar a eficiência da extração, como por exemplo, a extração assistida por ultrassom, que apresenta benefícios como maior facilidade de operação e maior velocidade de extração. O objetivo deste trabalho foi comparar duas técnicas de extração de rutina a partir de resíduo de tomate em relação ao teor de rutina obtido e na bioacessibilidade deste composto. Uma amostra de tomate foi despulpada, mimetizando o processo de obtenção da polpa. O resíduo, composto por casca e semente, foi fracionado e a casca obtida seca a 60°C por 24h, resultando em um pó, com tamanho médio de $483,4 \pm 15,7 \mu\text{m}$ e $1,27 \pm 0,23 \%$ de umidade. O pó foi caracterizado quanto ao teor de compostos fenólicos totais ($584,63 \pm 1,78 \text{ mg AGE/g}$ de tomate em pó) e capacidade antioxidante ($186,98 \pm 1,78 \mu\text{mol Trolox/g}$ tomate em pó), determinada pelo método de TEAC. A polpa em pó foi submetida à extração convencional, utilizando como solvente etanol 70% (v/v) na razão 1:25, a 57°C, por 40 minutos e à extração assistida por ultrassom adotando a mesma solução extratora, na mesma razão solvente:substrato, sendo realizada em 10 minutos, à 55°C, com potência de 150W. Os extratos líquidos obtidos foram comparados em relação à atividade antioxidante e ao teor de rutina. A atividade antioxidante determinada por TEAC foi superior no extrato obtido por ultrassom ($27,90 \pm 0,10 \mu\text{mol Trolox/g}$). O mesmo comportamento foi observado para o valor da atividade antioxidante, onde o extrato obtido por ultrassom ($109,82 \pm 15,03 \mu\text{mol Trolox/g}$) apresentou uma atividade um pouco maior do que o extrato obtido de forma convencional ($97,13 \pm 12,44 \mu\text{mol Trolox/g}$), porém sem diferença estatística. A concentração de rutina no extrato foi estatisticamente igual para ambos métodos de extração (convencional: $94,25 \pm 0,001 \mu\text{g}$ rutina/g de resíduo; ultrassom: $95,75 \pm 0,07 \mu\text{g}$ rutina/g de resíduo). Os resultados demonstram que o teor de rutina obtido não se altera diante dos métodos de extração avaliados. A determinação da bioacessibilidade é importante para descrever percentual fração de um composto disponível para absorção após a digestão. O método de extração não influenciou na bioacessibilidade da rutina, que foi de, aproximadamente, 13% para ambos os extratos. Após quatro semanas de estocagem, houve uma redução na bioacessibilidade da rutina. Os extratos obtidos pelo método tradicional apresentaram uma redução semelhante quando armazenados em refrigeração (8,09%) e sob congelamento (8,22%). A redução na acessibilidade dos extratos obtidos com ultrassom foi menor quando armazenados nas mesmas condições (refrigerado: 10,1%; congelado: 10,11%). A utilização do ultrassom como tecnologia alternativa de extração de rutina em resíduos do processamento de tomate não se apresentou tecnicamente atrativa nas condições de operação avaliadas.

Palavra-chave: rutina; ultrassom; extração convencional; bioacessibilidade;

ABSTRACT

SILVA, Luis Otávio Moreira. **Determination of the *in vitro* bioaccessibility of the rutin extracted by different processes of the agroindustrial residue of the tomato.** 2018. 62p. Dissertation (Master in Science and Food Technology). Institute of Technology, Federal University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

The residue from tomato processing has been evaluated as a potential source of lycopene. However, this material is also rich in flavonoids such as rutin, which can be applied as ingredients in the food industry by promoting health benefits and enhancing this waste. Usually, the extraction of bioactive compounds is carried out by traditional methods with organic solvents, like hexane, methanol, and ethanol, among others. Other techniques have been evaluated to increase extraction efficiency, such as ultrasound-assisted extraction, which offers advantages such as easier operation and higher extraction rate. The objective of this work was to compare two techniques of rutin extraction from tomato residue with regards to the obtained rutin content and the bioaccessibility of this compound. A tomato sample was depulped, mimicking the process of obtaining the pulp. The residue, composed of peel and seed, was fractionated and the obtained peel dried at 60°C for 24h, resulting in a powder, with a mean size of $483.4 \pm 15.7 \mu\text{m}$ and $1.27 \pm 0.23\%$ humidity. The powder was characterized for the total phenolic compounds content ($584.63 \pm 1.78 \text{ mg AGE / g}$ of tomato powder) and antioxidant capacity ($186.98 \pm 1.78 \mu\text{mol Trolox / g}$ tomato powder), determined by method of TEAC. The pulp powder was subjected to conventional extraction using 70% (v/v) ethanol at 1:25, 57°C for 40 minutes and ultrasound-assisted extraction using the same extraction solution, in the same solvent ratio: substrate, being carried out in 10 minutes at 55°C, with a power of 150W. The obtained liquid extracts were compared concerning the antioxidant activity and rutin content. The antioxidant activity determined by TEAC was higher in the extract obtained by ultrasound ($27.90 \pm 0.10 \mu\text{mol Trolox/g}$). The same behavior was observed for the value of the antioxidant activity, where the extract obtained by ultrasound ($109.82 \pm 15.03 \mu\text{mol Trolox / g}$) showed a slightly higher activity than the conventional extract ($97.13 \pm 12.44 \mu\text{mol Trolox / g}$), but with no statistical difference. The rutin concentration in the extract was statistically the same for both extraction methods (conventional: $94.25 \pm 0.001 \mu\text{g rutin / g}$ residue, ultrasound: $95.75 \pm 0.07 \mu\text{g rutin / g}$ residue). The results demonstrate that the rutin concentration in extracts does not change with the extraction methods. Determination of bioaccessibility is important to describe the fraction of a compound available for absorption by the organism after digestion. The extraction method does not influence the bioaccessibility of rutin, it was, approximately, 13% in both extracts. After four weeks of storage, the bioaccessibility of the rutin in extracts was reduced. The extracts obtained by the traditional method presented a similar reduction when stored in refrigeration (8.09%) and under freezing (8.22%). The reduction in the accessibility of rutin in the extracts obtained by ultrasound was lower when stored under the same conditions (refrigerated: 10.1%, frozen: 10.11%). The use of ultrasound as an alternative for rutin extraction technology in tomato processing residues was not technically attractive under the evaluated operating conditions of this work.

Key words: rutin; ultrasound-assisted extraction; conventional extraction; bioaccessibility.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fruto de tomate (<i>Solanum lycopersicum L.</i>).....	5
Figura 2. Rota metabólica do ácido chiquímico para a produção de compostos fenólicos.	9
Figura 3. Estrutura básica dos Flavonóides. Anéis benzênicos (A e B) e anel pirano (C).	11
Figura 4. Estrutura básica da Rutina.....	12
Figura 5. Diagrama esquemático de produção de suco de tomate.....	14
Figura 6. Efeito de cavitação.	18
Figura 7. Diagrama esquemático da obtenção de extratos.	21
Figura 8. Tomate cortado em cruz utilizado para a obtenção do resíduo.....	22
Figura 9. Resíduo de tomate disposto em bandejas de aço inox.	23
Figura 10. Curva de Calibração de Rutina.	27
Figura 11. Distribuição do tamanho de partículas da amostra de casca de tomate em pó.	32
Figura 12. Espectros de UV/VIS dos extratos. (A) extrato obtido por extração convencional; (B) extrato obtido por extração assistida por ultrassom.....	37
Figura 13. Espectro de UV/VIS de Padrão de Rutina.	37
Figura 14. Gráfico de bioacessibilidade da rutina.	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análises físicas e químicas para a caracterização do resíduo seco.....	31
Tabela 2. Análises de caracterização dos extratos obtidos pelo método convencional e ultrassom.....	34
Tabela 3. Estabilidade da rutina nos extratos estocados a temperatura de congelamento e refrigeração.....	40
Tabela 4. Estabilidade da bioacessibilidade nos extratos estocados a temperatura de congelamento e refrigeração.....	41
Tabela 5. Porcentagem de recuperação de rutina.	41

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Composição centesimal do tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) <i>in natura</i>	6
Quadro 2. Alternativas para o aproveitamento de resíduo de tomate.....	14
Quadro 3. Gradiente de eluição das fases móveis.	26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	4
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	4
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1 TOMATE.....	5
3.1.1 Composição Química do Tomate.....	7
3.2 COMPOSTOS FENÓLICOS	9
3.3 FLAVONOIDES	10
3.4 RUTINA	12
3.5 RESÍDUOS DO PROCESSAMENTO DE TOMATE.....	13
3.6 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO	15
3.6.1 Extração convencional utilizando solvente orgânico	16
3.6.2 Extração assistida por ultrassom	16
3.7 BIOASSECIBILIDADE.....	19
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.1 MATERIAL.....	21
4.2 PREPARO DA AMOSTRA	22
4.3 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM	23
4.4 EXTRAÇÃO CONVENCIONAL COM SOLVENTE ORGÂNICO.....	24
4.5 MÉTODOS ANALÍTICOS	25
4.5.1 Determinação da Capacidade Antioxidante	25
4.5.2 Análise de quantificação de Rutina.....	26
4.5.3 Determinação de Fenólicos Totais	27
4.5.4 Determinação de Bioacessibilidade da Rutina.....	28
4.5.5 Análise de Estabilidade da Rutina e Bioacessibilidade.....	29
4.5.6 Análise de Cor Instrumental.....	30
4.5.7 Análise de Tamanho de Partícula.....	30
4.5.8 Análise de Umidade	30
4.5.9 Análise Estatística	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO RESÍDUO SECO.....	31
5.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.....	34

5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS	34
5.3.1 Compostos fenólicos	35
5.3.2 Quantificação de Rutina	36
5.3.3 Capacidade antioxidante	39
5.3.4 Avaliação da estabilidade e bioacessibilidade da Rutina nos extratos.....	40
6 CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

1 INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta-se no contexto mundial como um dos maiores produtores de tomate, estando atualmente em nono lugar. Na América Latina, os números são mais expressivos, pois o país ocupa a liderança em termos de produção de tomate. Grande parte do fruto produzido em terras brasileiras é destinada para o processamento industrial, obtendo-se assim uma variedade de produtos derivados de tomate como molhos, sucos, pastas e ketchup.

Uma característica importante do tomate é a de que se trata de um fruto com alta concentração de água, representando mais de 90% da sua composição total. Muitos nutrientes são também encontrados na sua composição, como vitaminas, minerais, ácidos orgânicos, açúcares e entre outros. Todos os seus constituintes desempenham papel importante no produto final, destacando-se os flavonoides, essenciais para a coloração do fruto, que pode variar do amarelo ao vermelho alaranjado.

Na indústria processadora de tomates, o primeiro e principal produto comercial é a polpa de tomate, utilizada como matéria prima na obtenção de uma série de produtos derivados. No despulpamento, sementes e casca são eliminadas, e representam de 5 a 10% da produção total. Esse resíduo é utilizado na alimentação animal ou simplesmente descartado (DELL VALLE et al., 2006). Trata-se de uma parcela altamente nutritiva e benéfica, devido ao alto teor de diversos compostos de interesse, como proteínas, lipídeos, carotenoides, flavonoides, entre outros.

Os flavonoides, com destaque a rutina, presentes no resíduo apresentam grande interesse para a indústria de alimentos e principalmente para indústria farmacêutica. A rutina é um bi flavonoide de baixa massa molecular e solúvel em metanol. As principais fontes de rutina são as frutas cítricas e os vegetais folhosos. Relatos indicam que a rutina foi identificada pela primeira vez no século XIX em trigo-sarraceno (PEDRIALI, 2005).

Atualmente, a obtenção da rutina em escala comercial se dá a partir do fruto do faveiro (*Dimorphandra mollis Benth*). A sua baixa solubilidade em água (0,125 g/L) associada a sua alta massa molecular (610,5175 g/mol) é uma barreira para sua aplicação farmacológica, limitando o seu uso industrial e o aproveitamento efetivo de suas atividades biológicas (OLIVEIRA, 2015).

A rutina apresenta diversas propriedades farmacológicas como alta capacidade antioxidante, atividade anticarcinogênica, atividade citoprotetora, antiplaquetária, cardioprotetora, neuroprotetora, antiplaquetária e atividade vasoprotetora (NASSIRI-

ASL et al., 2010). Estudos têm demonstrado que a rutina pode ser aplicada no desenvolvimento de medicamentos para auxiliar no combate e prevenção de doenças, como câncer e enfermidades relacionadas ao coração. Esta capacidade benéfica está relacionada principalmente ao seu alto poder antioxidante (DRISKO et al., 2003; LOLITO, FREI, 2006).

É encontrada comercialmente em forma de cápsulas, podendo ser o único composto ativo do fármaco ou ainda em conjunto a outras substâncias, como por exemplo, a vitamina C (BECHO et al., 2015).

Diversos processos para a extração de compostos bioativos são conhecidos. O processo de extração com solvente é amplamente aplicado e apresenta vantagens significativas como, por exemplo, o uso de temperaturas moderadas de trabalho, possibilidade de utilização de solventes seletivos e eficientes, possibilidade de controle de temperatura e pH, além da facilidade de operação do processo. Trata-se de um processo que utiliza um solvente orgânico para a solubilização do composto de interesse presente na matriz alimentícia. Neste caso, a interação solvente/soluto é um parâmetro importante a ser analisado. O soluto deve apresentar uma boa solubilidade no solvente escolhido, para que ocorra uma melhor e mais fácil extração e diminua possíveis interferências causadas por outros constituintes da matriz (STRATI et al., 2014).

O uso de solventes orgânicos pode resultar em poluição ao meio ambiente, dependendo do grau de toxicidade. Estudos demonstram que estes reagentes químicos são responsáveis pelo efeito estufa e processo de eutrofização do meio. Um exemplo que pode ser citado é o solvente diclorometano, sua liberação no ambiente pode acarretar danos à camada de ozônio, devido à liberação de cloro durante a sua decomposição (COTTA et al., 2009).

Outros métodos têm sido avaliados para a extração de compostos de interesse dos resíduos de tomate, como por exemplo, a extração-assistida por ultrassom. Essa técnica se caracteriza pela utilização de ondas ultrassônicas para realizar a modificação química e/ou física do composto de interesse, possibilitando, desta maneira, a sua extração da matriz. Este método pode vir a substituir o processo de extração com solventes orgânicos, apresentando como vantagens um menor custo de processo, facilidade de operação e maior velocidade de extração (SANTOS, 2013).

Após as etapas de extração, o extrato de rutina pode ser incorporado em outros alimentos com o intuito de conferir características funcionais, além de aplicações tecnológicas, como por exemplo, corante natural. É importante ressaltar que a sua

incorporação em alimentos para a atribuição de características bioativas não é totalmente garantida, uma vez que a sua absorção pelo organismo pode não ser efetiva; inúmeros fatores influenciam na bioacessibilidade do composto como os processos tecnológicos aplicados a matéria-prima, a complexidade da matriz alimentar e a concentração de lipídeos presentes (RODRIGUES et al., 2016). Desta maneira, testes de bioacessibilidade precisam ser incluídos nas avaliações. Bioacessibilidade é definida como a fração de um determinado nutriente presente em uma matriz alimentícia que é liberada, denominada fração bioacessível, no trato gastrointestinal durante a etapa de digestão (BENITO et al., 1998).

Segundo Anastas e Tundo (2000), a química verde ou química para sustentabilidade é definida como “a invenção, desenvolvimento e aplicação de produtos químicos e processos para reduzir ou eliminar, o uso e a geração de substâncias perigosas à saúde humana e ao meio ambiente”. Com o decorrer dos anos, esses princípios vêm sendo inseridos no meio acadêmico em atividades de pesquisa e ensino. Neste contexto, este trabalho tem por objetivo a valorização de um resíduo agroindustrial, que seria descartado na natureza, através de técnicas de extração com solvente considerado verde, o etanol (TUNDO et al., 2000).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a bioacessibilidade e a estabilidade de extratos ricos em rutina obtidos por extração convencional e assistida por ultrassom a partir do resíduo proveniente do processamento do tomate.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar física e quimicamente o resíduo de tomate em pó;
- Obter extratos ricos em rutina a partir do resíduo seco, utilizando extração convencional e por extração assistida por ultrassom;
- Avaliar a bioacessibilidade da rutina nos extratos obtidos;
- Determinar a estabilidade da rutina e sua bioacessibilidade nos extratos armazenados em duas temperaturas, refrigeração ($\pm 8^{\circ}\text{C}$) e congelamento ($\pm -2^{\circ}\text{C}$).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 TOMATE

No final do século XVIII, em Pernambuco, iniciou-se a produção de tomate em território brasileiro. Entretanto, somente a partir de 1950, essa produção foi estendida ao estado de São Paulo, possibilitando a introdução de diversas agroindústrias. Atualmente, o Centro-Oeste é considerado a região brasileira com maior área cultivada de tomate (EMBRAPA, 2006).

O Brasil é líder na produção de tomate (*Solanum lycopersicum L.*), dentre os países da América do Sul e nono maior no mundo, focando principalmente no processamento industrial, sendo também o maior mercado consumidor dos seus derivados industrializados (EMBRAPA, 2006). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2016), a produção de tomate no ano de 2015 foi equivalente a cerca 4 milhões de toneladas, com uma área plantada equivalente a 63 mil hectares, apresentando um rendimento médio da produção igual a 66 mil kg de tomate por hectare plantado. Espera-se para produção de 2016 uma queda de aproximadamente 15,3%, resultando em uma produção equivalente a 3.511.941 toneladas.

O tomate, representado na Figura 1, é constituído, basicamente, de pericarpo e polpa. O primeiro é constituído da pele ou epicarpo, o mesocarpo e uma camada unicelular.



Figura 1. Fruto de tomate (*Solanum lycopersicum L.*).

Fonte: Benefícios Naturais, 2016.

A mudança na cor do fruto é decorrente do processo natural de amadurecimento, onde ocorre o aumento da respiração e da concentração de etileno no tomate, onde ocorre a quebra da clorofila presente na casca e a formação de carotenoides, compostos responsáveis pela coloração. Neste ponto a clorofila presente, que confere a cor verde ao fruto, sofre degradação e é substituída pelos compostos responsáveis pela cor avermelhada, os carotenoides. Diferentes tipos de tomate podem ser encontrados atualmente no mercado como Cármen que é conhecido por ser de grande durabilidade e sendo o mais comercializado no Brasil; tomate caqui, tomate holandês, tomate Débora, tomate italiano, tomate cereja e tomate “sweet grapes”. De acordo com a variedade há diferença na composição, tamanho, coloração, quantidade de sementes e quantidade de polpa (AGEITEC, 2016).

O mercado de tomate processado apresenta um crescimento quando comparado com o comércio de tomates para consumo *in natura*. A produtividade dos tomates para processamento é maior, sendo este fato atribuído ao uso de espécies híbridas. Na década de 1970 havia uma produção de tomate de 12 milhões de toneladas no mundo, entre os anos de 2014-2015 esse número chegou a 41,1 milhões de toneladas. No Brasil, neste mesmo período a produção foi de 1.400 milhão de toneladas por ano (WPTC, 2017).

Os produtos derivados de tomate no Brasil ainda apresentam um consumo consideravelmente baixo, quando comparado ao consumo norte-americano. Enquanto o brasileiro possui um consumo médio de 1,9 kg per capita/ano, o consumo norte-americano é de 9,5 kg per capita/ano, e se compararmos a um país vizinho, como a Argentina, o Brasil ainda assim apresenta um consumo baixo, levando em consideração o consumo de 4,0 kg per capita/ano por este país.

Os mais tradicionais e principais produtos derivados são o suco e o extrato de tomate. Além destes são fabricadas conservas de tomates secos, ketchups e em países onde há escassez da matéria-prima *in natura* são produzidas conservas de tomates pelados ou tomates sem pele. O setor de produtos derivados, no ano de 2000, produziu cerca de 350 mil toneladas de produtos derivados de tomate, sendo 41% de extrato simples, 30% de molhos prontos, 15% de ketchup e 14% de polpa de tomate (SENAI, 2013). O extrato de tomate concentrado e o molho pronto são os dois principais produtos comercializados no mercado brasileiro e se diferenciam quanto ao teor de sólidos solúveis, sabor, cor e acidez (DANTAS, 2008).

3.1.1 Composição Química do Tomate

A composição química do tomate (*Lycopersicon esculentum*) sofre variações de acordo com o nível de maturação do fruto, também, de acordo com cada espécie de tomate existente, a qualidade do solo de cultivo e a adição ou não de fertilizantes (EMBRAPA, 2006, MONTEIRO et al., 2008). De forma geral, é composto basicamente por água em uma quantidade variando de 93% a 95% de seu peso, nos 5% a 7% restantes são encontrados ácidos orgânicos, açúcares, compostos inorgânicos, sólidos insolúveis, baixos níveis de gordura e outros compostos, presentes em menor concentração, como por exemplo, as vitaminas (EMBRAPA, 2006).

Os ácidos orgânicos representam 10% do total da matéria seca do tomate, com destaque para os ácidos cítrico e málico, açúcares redutores como glicose e frutose, somam 50% do total e minerais como potássio, fósforo e nitrogênio são os principais encontrados no tomate, totalizando 8% de matéria seca (FERRARI, 2008). O Quadro 1, a seguir, apresenta a composição nutricional do tomate *in natura*.

Os açúcares solúveis e os ácidos orgânicos são responsáveis pelo sabor do fruto e têm grande impacto na qualidade do produto. Esses compostos são encontrados no tomate principalmente na etapa de amadurecimento. A qualidade do produto é afetada, também, pela presença de enzimas, tais como a pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG), sendo importantes para o amaciamento do fruto, realizando a hidrólise da pectina presente (MONTEIRO et al., 2008).

Os carotenoides são substâncias que tem sido amplamente estudadas devido à sua atividade benéfica ao organismo humano, na prevenção de algumas doenças. O carotenoide encontrado em maior quantidade no tomate é o licopeno, responsável pela coloração vermelha observada no fruto (BORGUINI, 2006).

Quadro 1. Composição centesimal do tomate (*Lycopersicon esculentum*) *in natura*.

Componente	Concentração em 100g
Água	93 a 97 g
Matéria seca	5 a 7 g
Sólidos solúveis	3,5 a 6,0 g
Fibra alimentar	0,5 a 0,6 g
Proteína	0,7 a 1,1 g
Gordura	0,13 a 0,30 g
Boro	0,06 a 0,13 mg
Cálcio	6,02 a 34 mg
Cobre	0,05 a 0,33 mg
Enxofre	6,72 a 10,3 mg
Ferro	0,29 a 0,44 mg
Fósforo	17,4 a 43 mg
Magnésio	7,06 a 8,53 mg
Potássio	25 a 190 mg
Sódio	1,09 a 2,08 mg
Zinco	0,12 a 0,19 mg
Manganês	0,06 a 0,17 mg
Vitamina B1 (tiamina)	0,05 a 0,08 mg
Vitamina B2 (riboflavina)	0,03 a 0,05 mg
Vitamina B3 (niacina)	50 a 750 mg
Vitamina B5 (ácido pantotênico)	0,5 a 0,9 mg
Vitamina C	18 a 40 mg
Vitamina E (α -tocoferol)	40 a 1200 mg

Fonte: ALVARENGA (2004); EMBRAPA (2006).

*1 U.I. = 0,6 μ g de β -caroteno.

3.2 COMPOSTOS FENÓLICOS

As plantas, de forma geral, produzem durante o seu ciclo de vida compostos primários e secundários. Os compostos primários têm como função o armazenamento de energia, função estrutural e plástica. Os metabolitos secundários, como é o caso dos flavonóides, desempenham no tomate papel de coloração e defesa contra patógenos. Quimicamente, possui em sua estrutura pelo menos um anel aromático com um hidrogênio substituído por um grupamento hidroxila. Sua síntese ocorre principalmente através de duas rotas metabólicas, sendo elas a via do ácido chiquímico e a via do ácido mevalônico, sendo esta última menos significativa. Em plantas superiores a grande maioria dos compostos fenólicos são derivados da fenilalanina, produto esse provindo da rota do ácido chiquímico (VIZZOTO et al., 2010).

A rota metabólica do ácido chiquímico está representada, a seguir, na Figura 2.

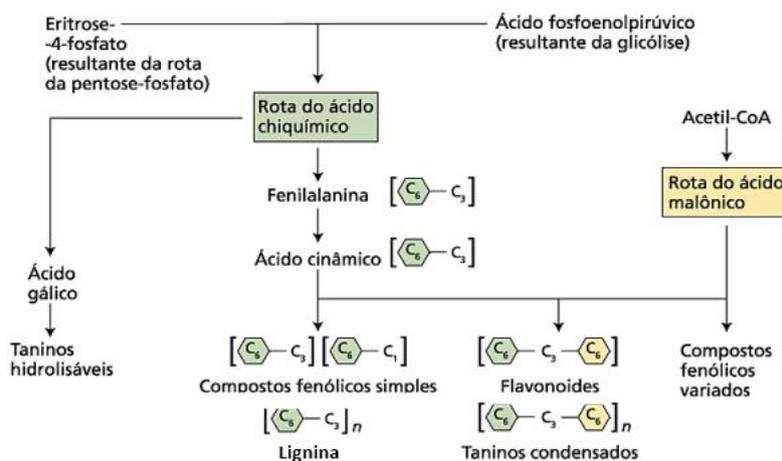


Figura 2. Rota metabólica do ácido chiquímico para a produção de compostos fenólicos. Fonte: Vizzoto et al., 2010.

Devido à diversidade química encontrada nesses compostos a eles são atribuídas uma variedade de funções nas plantas, como ação contra patógenos e herbívoros, suporte mecânico da planta, atrativo para dispersores de frutos ou polinizadores, proteção ultravioleta e redução do crescimento de plantas competidoras adjacentes (SILVA et al., 2010).

Compostos fenólicos têm ação antioxidante devido, principalmente, aos seus radicais intermediários estáveis, que impedem a ação do oxigênio sobre os ingredientes

de diversos tipos de alimentos, além da sua capacidade de doar moléculas de hidrogênio ou elétrons (BRANDWILLIAMS et al., 1995).

A classe de compostos fenólicos apresenta uma grande variedade e é dividida em flavonoides (polifenóis) e não flavonoides (fenóis simples ou ácidos fenólicos (RICE-EVANS et al. 1996).

A classe de compostos não flavonoides engloba compostos derivados dos ácidos hidroxicinâmico e hidroxibenzóico, e sua capacidade antioxidante é atribuída principalmente à posição dos grupos hidroxilas e também com a proximidade do grupo – CO₂H em relação ao grupo fenil, quanto maior a proximidade deste grupo maior será a capacidade antioxidante (SILVA et al. 2010).

Essa classe de compostos vem sendo amplamente estudada principalmente devido a sua capacidade antioxidante e seu possível efeito na prevenção de diversas doenças relacionadas ao coração, câncer e doenças neurológicas, além da sua atividade anti-inflamatória (SÁNCHEZ-MORENO, 2002).

3.3 FLAVONOIDES

Os flavonoides e seus glicosídeos são considerados os principais constituintes da classe de metabólitos secundários e compreendem um grupo de compostos fenólicos encontrado em plantas e vegetais. Encontram-se sob muitas formas como flavonas, isoflavonas, flavononas, flavonóis, catequinas, antocianinas e chalconas. São caracterizados por ser parte da classe de compostos fenólicos que se diferem devido à sua estrutura química e algumas outras características, além de ser um grupo de compostos naturais que apresentam um grande interesse tecnológico devido as suas propriedades antioxidantes (VAN ACQUIRE, 1996; BEHLING et al., 2004).

Grãos, frutas, vegetais e flores são alguns exemplos de fontes deste composto. Sua estrutura química consiste em um esqueleto de difenil propano (C₆C₃C₆) com dois anéis benzênicos ligados a um anel pirano, como apresentado na Figura 3, a seguir (BEHLING et al., 2004).

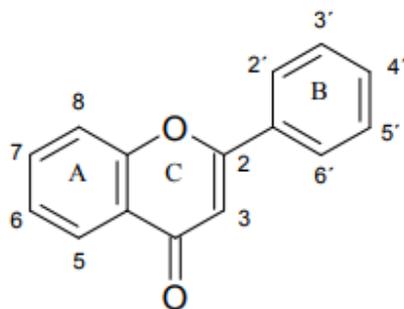


Figura 3. Estrutura básica dos Flavonóides. Anéis benzênicos (A e B) e anel pirano (C).
Fonte: (BEHLING et al., 2004).

Os flavonoides podem ser encontrados na forma de agliconas, glicosídeos ou como parte constituinte de estruturas que contenham flavonoides, como por exemplo, as flavolignanas, porém regularmente ocorrem como glicosídeos (BEHLING et al., 2004). São considerados componentes importantes na dieta humana apesar de, geralmente, não serem consideradas substâncias nutritivas. Estima-se que o consumo humano diário deste componente varie entre 26 mg e 1g/dia por meio da alimentação, principalmente pelo consumo de frutas e vegetais (HOLLMAN & KATAN, 1999).

Segundo Hertog e colaboradores (1993), altas concentrações de quercetina são encontradas na cebola (284-486 mg/kg), maçã (21 - 72 mg/kg) couve, vagem, brócolis, repolho e tomate. Em bebidas também há relatos da presença de quercetina, sendo encontrada principalmente em cerveja, café, achocolatado, vinho tinto, vinho branco, suco de limão, suco de tomate e chá preto sendo este o que apresentou uma maior concentração, em torno de 10 e 25 mg/L.

O principal flavonoide encontrado no tomate é a chalconaringenina, além dos rutinosídeos da quercetina (rutina) e do kaempferol, sendo que estes dois últimos compostos encontrados preferencialmente na casca do fruto (SLIMESTAD et al., 2008).

Devido as suas propriedades quelantes de íons metálicos e sequestrantes de radicais livres, os flavonoides são considerados compostos antioxidantes, realizando assim a proteção dos tecidos contra a ação dos radicais livres e da peroxidação lipídica. A capacidade antioxidante dos flavonoides está atrelada ao radical hidroxila (OH) e ao ânion superóxido (O_2^-), presentes em sua estrutura, que são espécies altamente reativas e diretamente ligadas à iniciação da reação de peroxidação lipídica (BEHLING et al., 2004).

Alguns estudos vêm mostrando a eficácia dos flavonoides provenientes de fontes alimentares para a saúde. Uma alternativa para a sua utilização é como terapia

complementar ao tratamento de câncer, considerando que os efeitos antioxidantes tendem a reduzir os efeitos colaterais dos tratamentos realizados, além de dados epidemiológicos mostrarem a ação na redução do risco de desenvolvimento de câncer em função do consumo deste composto. Porém, estudos ainda precisam ser aprofundados devido a divergências existentes a sua eficácia, uma vez que há relatos da diminuição do efeito dos tratamentos para o câncer devido à utilização de compostos antioxidantes, como os flavonoides. A maioria destas doenças está associada ao aumento do estresse oxidativo, em contrapartida, os flavonoides são compostos altamente antioxidantes, desta forma o seu consumo na dieta auxilia o combate de doenças devido aos seus mecanismos antioxidantes (DRISKO et al., 2003; LOLITO, FREI, 2006).

3.4 RUTINA

A rutina ou vitamina P (Quercetin-3-rhamnoglucoside ou 3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone-3-rhamnoglucoside) é um flavonol glicosídico de baixo peso molecular pertencente a uma classe importante de flavonoides, descoberto pela primeira vez no século XIX em trigo sarraceno, sendo encontrado em grande quantidade na natureza e em diferentes vegetais. Uma importante qualidade terapêutica é sua capacidade de normalização da resistência e permeabilidade das paredes dos vasos capilares, além da sua capacidade antioxidante (PEDRIALI, 2005).

A rutina apresenta uma estrutura básica (Figura 4) sendo composta por uma molécula de quercetina ligada a duas moléculas, uma glicose e uma raminose, substituintes na posição 3 do anel pirano. Esta combinação é nomeada como rutinose, provindo daí o nome do composto (PEREIRA, 2017).

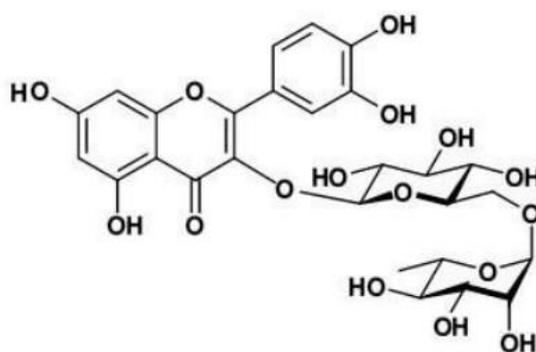


Figura 4. Estrutura básica da Rutina.

Esse flavonoide é amplamente encontrado em diversas fontes alimentares, entre elas cebola, maçãs, tomates, uva, trigo sarraceno e em algumas bebidas como vinho tinto e chá preto. As maiores fontes de rutina são a árvore japonesa pagoda, trigo sarraceno e nos frutos do faveiro (THOMPSON et al., 1999).

Entre os flavonoides estudados, a rutina tem recebido atenção especial em função das suas diversas atividades farmacológicas atreladas a sua alta capacidade antioxidante. Em pesquisas recentes é possível encontrar informações de como esse composto atua no combate, prevenção ou melhora de alguns quadros patológicos. Insuficiência dos vasos linfáticos e venosos, fragilidade capilar, alterações do campo visual e perda da acuidade visual são algumas doenças em que a rutina pode ser empregada devido as suas atividades terapêuticas. A rutina atua melhorando a absorção do ácido ascórbico (Vitamina C) no organismo, e atuando sinergicamente esses compostos auxiliam na proteção das estruturas capilares (VALANDRO et al., 2015).

A rutina é comercializada, atualmente, sob forma de cápsulas. Pode ser encontrada na forma de único ativo ou em conjunto com substâncias como ácido ascórbico (Vitamina C), sendo a sua dose diária recomendada variando entre 900 e 3000mg (BECHO et al., 2015).

3.5 RESÍDUOS DO PROCESSAMENTO DE TOMATE

Durante o processamento do fruto para obtenção dos produtos derivados, o resíduo gerado, composto pela pele e as sementes, corresponde a aproximadamente 5 a 10% do peso total do tomate (DELL VALLE et al., 2006). Dentro da indústria de tomates, a polpa é a parte de maior interesse do fruto, sendo especialmente utilizada para o processamento e fabricação de produtos. Pele e sementes são caracterizadas como subprodutos ou resíduos e desta maneira descartados e inutilizados durante a produção de produtos derivados. Esta parcela de subprodutos é empregada para alimentação animal, uma vez que se trata de um produto bastante nutritivo, apresentando proteínas, lipídeos, carboidratos e minerais (FERRARI, 2008).

Segundo Rodriguez e colaboradores (2009), o resíduo apresenta altos valores de fibra como a Fibra em Detergente Neutro (FDN) e Fibra em Detergente Ácido (FDA), fazendo com que o resíduo seja classificado como resíduo volumoso. Apresenta, também, alto teor de proteína bruta (PB) podendo chegar a 22,1%, sendo considerada uma boa fonte de lisina. Entretanto, esta proteína não está totalmente disponível para a utilização

do organismo animal, devido ao tratamento realizado para a extração da polpa do fruto *in natura*.

Na Figura 5, são apresentadas genericamente as etapas de processamento de tomate para a obtenção de suco.

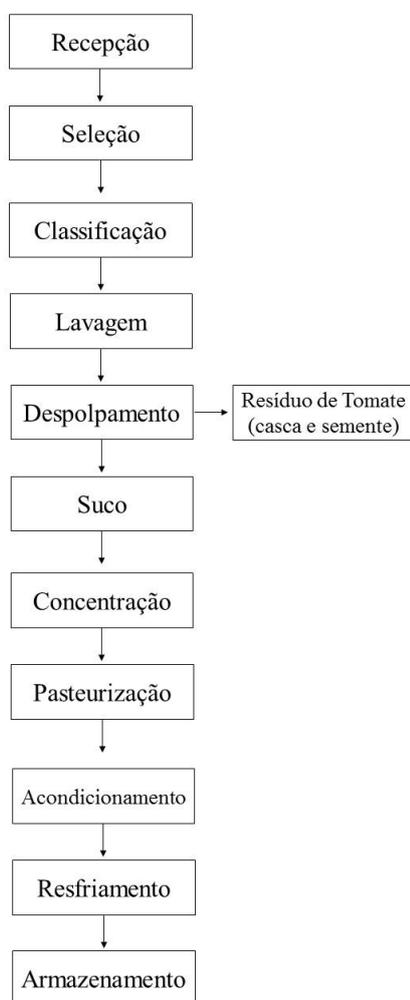


Figura 5. Diagrama esquemático de produção de suco de tomate.

Fonte: Melo, 2010.

Segundo a literatura, os resíduos resultantes do processamento de tomates apresentam em sua composição, especificamente na casca, compostos fenólicos sendo encontrados principalmente ácidos fenólicos, como o ácido gálico e alguns flavonoides como a chalconaringenina e a rutina (MELO, 2010). As sementes são ricas em lipídeos (25%) e proteínas (35%) e representam cerca de 10% do peso total do fruto e 60% do total de resíduos (SCHIEBER et al., 2001).

Devido à grande quantidade de resíduos gerados durante o processamento, estudos foram realizados (Quadro 2), utilizando estes como matéria-prima, para a extração de

diferentes compostos com alto valor econômico e nutricional agregado e que possam promover efeitos benéficos à saúde (MELO, 2010).

Quadro 2. Alternativas para o aproveitamento de resíduos agroindustriais.

Matéria-prima	Composto alvo	Método de extração	Autor
Resíduo de Tomate	Licopeno	Microemulsão e ultrassom.	Rigi et al. (2016).
Resíduo de Tomate	Pectina	Ultrassom.	Grassino et al. (2016).
Resíduo de Tomate	Licopeno	Soxhlet.	Ruiz et al. (2000).
Resíduo de Tomate	Carotenoides	Solventes orgânicos (etanol, hexano, acetato de etila e lactato de etila).	Strati e Oreopoulou (2011)
Bagaço de Uva	Compostos fenólicos	Ultrassom.	Centeno et al. (2014)
Bagaço de Uva	Compostos fenólicos	Leito agitado.	Boonchu e Utama-Ang (2015)
Resíduo de uva, maçã e pitaya	Compostos fenólicos	Fermentação sólida e tratamento enzimático.	Zambrano et al., 2018
Resíduo de café	Compostos fenólicos	Hidrolise aquosa subcrítica.	Mayanga-Torres et al., 2017

3.6 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

O método de extração influi diretamente na estabilidade e integridade dos compostos termossensíveis, portanto a escolha do método de extração deve atender aos objetivos do trabalho em questão. Alguns fatores podem ser levados em consideração como: a seletividade do método para o composto de interesse, a recuperação do analito, a toxicidade do solvente empregado, o volume necessário do solvente, o tempo de extração e o número de passos de *clean-up* necessários após todo o processo de extração (COTTA et al., 2009).

Dentre os métodos utilizados para a extração de rutina, a utilização de solventes orgânicos é a mais aplicada. Thoo e colaboradores (2013) realizaram um processo de extração de rutina de um fruto da árvore *Morinda citrifolia* utilizando etanol 75% como solvente extrator e obteve 1,21 mg de rutina/g de extrato. Entretanto, outros métodos avançados vêm sendo descritos para a extração de rutina do resíduo de tomate, dentre eles a extração utilizando fluídos supercríticos, extração assistida por ultrassom, extração

utilizando enzimas e extração assistida por micro-ondas (POOJARY et al., 2015). Como exemplo da utilização da tecnologia de ultrassom temos Xie e colaboradores (2014), que realizaram a extração assistida por ultrassom para a obtenção de rutina de *Flos Sophorae Immaturus* e obtiveram 0,288 mg de rutina/g de extrato, enquanto Liza e colaboradores (2010) obteve rutina de *Strobilanthes crispus* através da extração com fluido supercrítico e obteve um extrato com 8,47 mg de rutina/g de amostra.

3.6.1 Extração convencional utilizando solvente orgânico

Esse método de extração pode ser aplicado para diversas variedades de vegetais. A sua utilização tem como princípio separar determinados compostos a partir de uma matriz alimentícia, podendo ser sólida ou líquida. O solvente utilizado tem por objetivo difundir-se no interior da matriz e realizar a dissolução dos compostos solúveis presentes (AGUILERA, 2003).

Na extração sólido-líquido é importante que o composto de interesse apresente uma melhor solubilidade no solvente escolhido, facilitando a separação dos outros compostos e as possíveis interferências causadas. Estudos vêm sendo desenvolvidos em busca da otimização dos parâmetros de extração, como temperatura ótima de trabalho, tipo de solvente, razão solvente substrato, tamanho de partícula e tempo ideal de extração (STRATI et al., 2014).

A extração de rutina pode ser realizada utilizando-se solventes orgânicos como acetona, hexano, etanol, clorofórmio, éter de petróleo entre outros. Segundo Poojary (2015), a utilização de misturas de solventes orgânicos como por exemplo, hexano/acetona ou hexano/etanol, é possível obter-se um composto mais estável quando comparado à extração realizada apenas com diclorometano ou metanol. A extração por solvente é uma técnica de referência quando métodos alternativos de extração são avaliados.

3.6.2 Extração assistida por ultrassom

As ondas ultrassônicas são análogas às ondas de som, diferindo-se apenas na frequência de onda em que se encontram. Ondas ultrassônicas apresentam frequência acima de 16 kHz e não são detectáveis ao ouvido humano (FELLOWS, 2006).

O processo de ultrassom é conhecido por apresentar um efeito bastante significativo em processos tanto na indústria química quanto na indústria de alimentos e tem substituído os processos de extração convencionais por apresentar vantagens, como baixo custo de operação, fácil manipulação, simplicidade e velocidade de extração (SANTOS, 2013).

Ondas sonoras de alta frequência, aplicadas durante esta técnica, ocasionam mudanças químicas e/ou físicas no composto de interesse. Essa mudança ocorre devido à variação da pressão de processo durante o fenômeno de cavitação; podendo causar também o aumento da temperatura além do rompimento nos sólidos, devido à instabilidade na interface do sistema. As principais características observadas durante a aplicação do ultrassom na amostra são o aumento da permeabilidade da parede celular, aumento da tensão mecânica das células e a produção de cavitação (SANTOS, 2013).

No momento em que as ondas de ultrassom atingem a superfície do alimento uma força é gerada, podendo ser essa força perpendicular ou paralela à superfície. A força perpendicular cria como resposta uma onda de compressão que se move através do alimento, diferentemente da força paralela que produz uma onda de cisalhamento (FELLOWS, 2006).

As alterações de pressão e temperatura, ocasionadas pela aplicação de ultrassom, ocorrem de forma bastante rápida, provocando como consequência, o rompimento por cisalhamento, surgimento de bolhas em alimentos líquidos ou cavitação, redução da espessura da membrana celular, produção de radicais livres e aquecimento localizado (FELLOWS, 2006).

Devido ao fenômeno de cavitação, a extração assistida por ultrassom tem se tornado uma boa alternativa para a substituição da convencional extração por solvente orgânico. A cavitação é causada pela interação entre o líquido, o gás dissolvido no meio e as ondas ultrassônicas, podendo ser gerada com a aplicação de frequências entre 20 kHz e até maiores que 1 MHz. A aplicação de um campo acústico força uma bolha livre a oscilar sobre o seu raio de equilíbrio. Durante a fase de contração, a concentração de gás no interior da bolha aumenta e o gás se difunde para o exterior. Da mesma forma, durante a fase de expansão, a concentração diminui e o gás se difunde para a bolha (STRATI et al., 2014). Na Figura 6, a seguir é apresentado a ocorrência do fenômeno de cavitação.

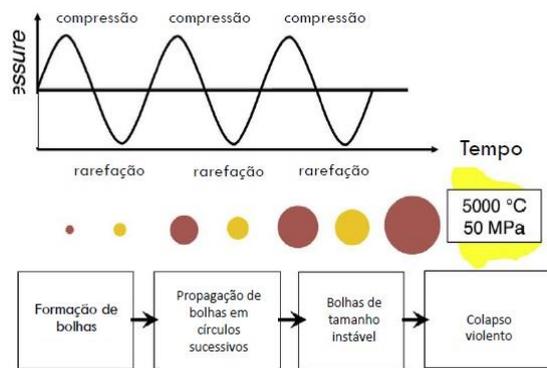


Figura 6. Efeito de cavitação.
Fonte: Barba et al. (2006).

Para que a extração assistida por ultrassom ocorra de forma eficiente alguns parâmetros devem ser analisados e ajustados, como a temperatura de trabalho, o tempo de extração, a potência e a frequência aplicados. Lípidos, flavonoides, carotenoides, triterpenoides, compostos aromáticos e hemicelulose são alguns grupos de compostos que têm sido extraídos de matrizes alimentícias pelo processo de ultrassom (SANTOS, 2013).

Diferentes concentrações de compostos e diferentes extratos podem ser obtidos de acordo com os parâmetros adotados na técnica de ultrassom. Estudos aplicaram a técnica de extração assistida por ultrassom para obtenção de rutina. Deng e colaboradores (2017) obtiveram 182,25 mg de rutina/g de amostra de azeitona utilizando potência de 150W, 15 minutos de extração a 20°C, solvente etanol 70% e razão sólido/líquido de 1:25 (g/ml); enquanto Vajic e colaboradores (2015) extrairam 0,06 mg de rutina/g de amostra proveniente da planta *Aronia melanocarpa* pela mesma técnica, adotando os seguintes parâmetros: potência de 240W, temperatura de 47°C, tempo de 30 minutos, solvente extrator metanol 80% e razão sólido/líquido 1:22 (g/ml).

Uma das principais desvantagens associadas a rutina é a sua baixa biodisponibilidade, devido principalmente à sua baixa solubilidade em água, baixa estabilidade do composto e limitada permeabilidade à membrana. Estes fatores são determinantes, uma vez que dificultam o efeito biológico *in vivo* da rutina, em contrapartida, a molécula de rutina demonstra bioatividades em diferentes sistemas *in vitro* (GULLÓN et al., 2017). Desse modo ao escolher a técnica de extração que será aplicada no resíduo deve-se avaliar a influência desta na bioacessibilidade do composto alvo extraído.

3.7 BIOASSESCIBILIDADE

A disponibilidade de um determinado composto para a sua absorção dentro do organismo humano é definida como bioacessibilidade, porém o termo biodisponibilidade é utilizado em alguns casos dando uma idéia mais ampla, contemplando a quantidade disponível do composto assimilada pelas células. Em ambos os casos há a dependência das características de cada composto e da matriz em que se encontram, além dos fatores inerentes a cada organismo, como a acidez do estômago, as concentrações e atividades enzimáticas, a dose e a natureza de cada composto e o estado fisiológico do indivíduo. Na grande maioria dos casos, a bioacessibilidade e a biodisponibilidade dos compostos dependem diretamente das propriedades físicas da matriz alimentar, do tamanho de partícula da amostra, dos pré-tratamentos realizados e da qualidade (PARADA & AGUILERA, 2007).

A determinação da biodisponibilidade dos constituintes de um alimento é caracterizada por ser um processo complexo onde há etapas de digestão, captação intestinal e absorção do nutriente, além da distribuição do composto para os tecidos e a sua utilização dentro do organismo (BRAMLEY, 2000).

Em estudos sobre a nutrição humana, realizados nos anos 80, constatou-se que o consumo de alimentos ricos em determinados nutrientes não garante a sua total absorção e utilização pelo organismo. Alguns fatores afetam diretamente a absorção, como a estrutura química do composto, a interação existente entre as várias classes de compostos, e a quantidade ingerida na dieta (CONSTANT, 2016).

Para a determinação da bioacessibilidade de compostos, duas formas podem ser adotadas. A determinação *in vivo* é realizada com a utilização de organismos vivos, sendo humanos e animais, objetos neste processo. Porém, há grandes desvantagens na utilização deste processo, como a limitação do seu uso para grandes números de amostras e a complexidade da realização. O método de determinação *in vitro* tem sido mais utilizado por apresentar metodologia mais simples, rápida e ainda possuir a possibilidade de avaliação de um número maior de amostras, sendo assim mais vantajoso (RODRIGUEZ-AMAYA, 2010).

Alguns modelos têm sido utilizados para as análises de bioacessibilidade *in vitro*. Os métodos, usualmente, têm como princípio a simulação das condições da digestão oral, do estômago, do intestino delgado e do intestino grosso (CHEN et al., 2011). Os modelos de bioacessibilidade *in vitro* podem ser separados em duas formas:

- i. Modelos estáticos: é o método mais simples de simulação, processos físicos como hidratação, cisalhamento e homogeneização são desconsiderados nas etapas de digestão oral, gástrica e intestinal, além da utilização de enzimas, sais biliares em condições de pH e temperatura controlados.
- ii. Modelos dinâmicos: é o método mais complexo de análise onde os processos físicos e mecânicos são simulados juntamente às mudanças temporais que ocorrem durante o processo de digestão oral, gástrica e intestinal (MINEKUS et al., 2014).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi executada no Laboratório de Bioacessibilidade e Plantas Piloto de Operações Unitárias da Embrapa Agroindústria de Alimentos.

4.1 MATERIAL

Como matéria prima para a extração de rutina foi utilizado o resíduo obtido do despulpamento do tomate tipo Cármen, adquirido no Ceasa/RJ.

O fluxograma do processo de despulpamento, apresentado na Figura 7, ilustra o processo para a obtenção do extrato rico em rutina, a partir do resíduo do despulpamento do tomate *in natura*.

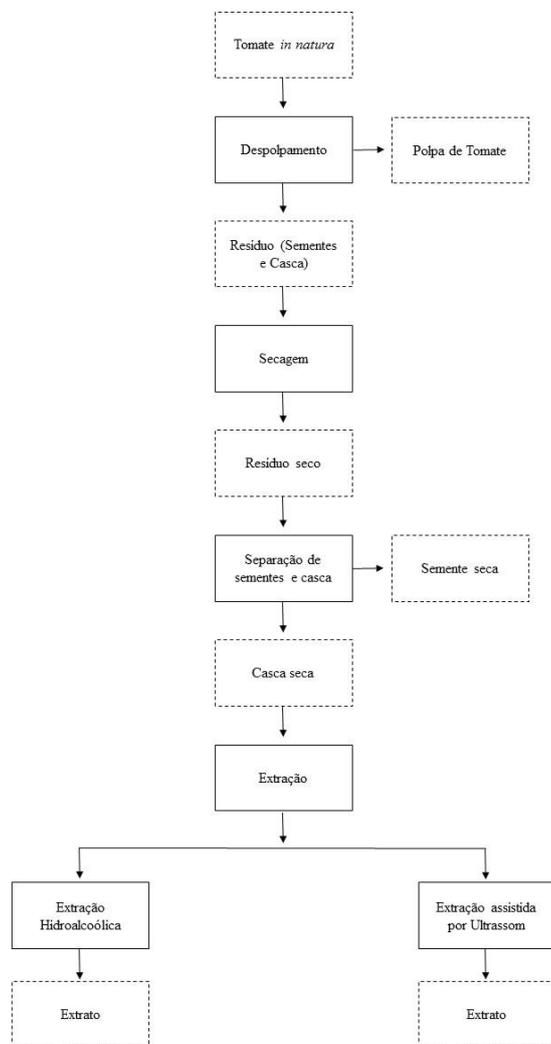


Figura 7. Diagrama esquemático da obtenção de extratos.

4.2 PREPARO DA AMOSTRA

Para a obtenção do resíduo, foram utilizados tomates *in natura* previamente higienizados em solução de cloro 200 ppm e cortados em forma de cruz, (Figura 8); o despulpamento foi realizado na planta piloto de operações unitárias da Embrapa Agroindústria de Alimentos em despulpadeira horizontal da marca Bonina 0,25 dF (Itametal, Itabuna, Brasil), constituída de uma peneira de 1,5 mm de diâmetro. Após o despulpamento, polpa e resíduo (casca e sementes) foram acondicionados em recipientes separados; a polpa foi acondicionada em sacos plásticos e armazenada à -18°C.



Figura 8. Tomate cortado em cruz utilizado para a obtenção do resíduo.

Posteriormente o resíduo úmido (Figura 9) foi seco em secador convectivo composto por bandejas em aço inox, a temperatura de 60°C com velocidade do ar média de 0,42 m/s, por um período de 24 horas, e em seguida em uma despulpadeira Bonina 0,25 dF (Itametal, Itabuna, Brasil) foi realizada a separação de casca e semente. Juntamente a separação ocorria a moagem da casca sendo obtido ao final um resíduo com tamanho de partícula menor; a porção de casca seca foi utilizada para as análises subsequentes. O rendimento da amostra foi calculado de acordo com a Equação 1.

$$\text{Rendimento} = \frac{\text{Peso do resíduo (Úmido ou seco)}}{\text{Peso do tomate } in\ natural} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$



Figura 9. Resíduo de tomate disposto em bandejas de aço inox.

A casca então foi caracterizada em relação a tamanho de partícula, cor, umidade, compostos fenólicos e atividade antioxidante segundo o método de TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*).

4.3 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM

A extração assistida foi realizada em equipamento de ultrassom Hielscher UIP 1000hd, Alemanha, com probe ultrassônico de 18 mm de diâmetro. Os parâmetros de extração foram realizados segundo a metodologia de Deng e colaboradores (2017), com modificações.

Inicialmente, a extração por ultrassom seria realizada de acordo com a metodologia de Deng e colaboradores (2017), onde parâmetros foram fixados em tempo de 15 minutos, potência de 150 W, razão sólido/líquido 1:25, solvente extrator etanol 70% (v/v), frequência variando entre 60-62 kHz e temperatura de 20°C. Devido a limitações

do equipamento (Hielscher UIP 1000hd) utilizado no presente trabalho foram necessárias modificações na metodologia, não foi possível realizar o controle da temperatura e frequência devido as condições de operação do equipamento utilizando durante o experimento, o tempo de extração foi também ajustado em função das mesmas limitações. Desta forma, para a extração de rutina foi então adotada uma potência fixa de 150 W, por um tempo de operação igual a 10 minutos, utilizando como solvente extrator solução hidroalcoólica 70% e razão sólido/líquido de 1:25, em sistema batelada de 150 mL em triplicata. A temperatura inicial de operação foi de $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e a temperatura final foi de $82^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Após o término do tratamento, os extratos foram filtrados a vácuo e acondicionados em frascos de vidro sob refrigeração, entre 6 e 10°C , até a realização das análises.

Os extratos foram submetidos às análises de compostos fenólicos pelo método de Folin Ciocalteu, quantificação de rutina equivalente, determinação de atividade antioxidante pelos métodos de TEAC ("*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*") e ORAC ("*Oxygen Radical Absorbance Capacity*") e bioacessibilidade da rutina.

4.4 EXTRAÇÃO CONVENCIONAL COM SOLVENTE ORGÂNICO

A extração pelo método convencional com solvente foi realizada segundo Thoo e colaboradores (2013), com modificações, em banho termostático com agitação em triplicata. O tempo adotado para a operação foi de 40 minutos utilizando-se uma solução hidroalcoólica 70% (v/v) como solvente extrator, a temperatura adotada foi de 57°C e razão sólido/líquido de 1:25, sendo utilizados $6 \pm 0,05$ gramas de resíduo para um volume final de solvente igual a 150 mL.

Os extratos obtidos foram filtrados a vácuo, acondicionados em embalagens de vidro e armazenados em câmaras de refrigeração a temperatura entre 6 e 10°C .

Os extratos foram submetidos às análises de compostos fenólicos totais pelo método de Folin Ciocautu, quantificação de rutina equivalente, determinação de atividade antioxidante pelos métodos de TEAC e ORAC e bioacessibilidade da rutina.

4.5 MÉTODOS ANALÍTICOS

A casca de tomate em pó foi caracterizada de acordo com análises de cor instrumental, umidade, tamanho de partícula, capacidade antioxidante e compostos fenólicos totais; ambas as análises foram realizadas em triplicata.

Capacidade antioxidante, quantificação de rutina, determinação de fenólicos totais e bioacessibilidade dos extratos obtidos pela extração assistida por ultrassom e dos extratos obtidos pela extração clássica por solvente foram determinadas de acordo com as metodologias descritas a seguir.

4.5.1 Determinação da Capacidade Antioxidante

A determinação da capacidade antioxidante foi realizada nos extratos através de dois métodos distintos. A primeira determinação foi realizada segundo a metodologia descrita por Rufino *et al.* (2007) seguida da quantificação descrita por Re *et al.* (1999), a qual é baseada na descoloração do radical livre ABTS^{•+} (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico sal diamônio). Os resultados foram expressos em µmol de Trolox (6-hidroxi - 2,5,7,8 - tetrametilcromo - 2 - ácido carboxílico 97% de pureza), utilizando uma curva de calibração deste antioxidante hidrossolúvel, análogo da vitamina E. Os resultados foram expressos em µmol Trolox equivalente/g de amostra.

Outro método adotado para a determinação da capacidade antioxidante foi o método ORAC. As análises foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por Zuleta *et al.* (2009), sendo realizadas em microplacas à temperatura de 37°C, em fluorímetro. O comprimento de onda de excitação é de 485 nm e o comprimento de emissão é de 535 nm. Os resultados foram expressos em µmol de trolox equivalente/g de extrato e calculado através da Equação 2, descrita a seguir.

$$\text{ORAC } (\mu\text{mol Trolox.g}^{-1}) = \frac{\left[\frac{(\text{AUC}_{\text{amostra}} - \text{AUC}_{\text{branco}})}{a} \right] \cdot b}{\text{concentração amostra}} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:

- **b:** Valor onde a curva intercepta o eixo y;
- **a:** Valor da inclinação da curva e;
- **Concentração da amostra:** Massa em g em um litro de solução (g.L⁻¹).

4.5.2 Análise de quantificação de Rutina

Para identificação e comprovação da presença de rutina nos extratos analisados, foi realizada primeiramente uma análise utilizando cromatografia líquida de alta eficiência nos extratos brutos. Posteriormente, método espectrofotométrico foi adotado nas demais amostras por apresentar custo menor e maior rapidez de realização.

4.5.2.1 Análise de quantificação de Rutina por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A análise cromatográfica foi realizada segundo Nascimento (2015) em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Waters® Alliance modelo 2690/5 (Milford, USA), com detector de arranjo de fotodiodos Waters® modelo 2996 (varredura 210 a 600 nm, e com quantificação em 270). Coluna Thermo BDS HYPERSIL C₁₈ (100x4; 2,4 µm), com temperatura da coluna igual a 30°C, detector em modo de eluição gradiente, apresentado no Quadro 3, de ácido fosfórico 1,5 mL/L em água (Fase A) e acetonitrila (Fase B) com fluxo de 1,2 mL/min. O volume de injeção adotado foi de 10 µL e o tempo de corrida igual a 28 minutos.

Quadro 3. Gradiente de eluição das fases móveis.

Tempo	Fluxo (mL/min)	Fase A (%)	Fase B (%)
0	1,0	95,0	5,0
6	1,0	95,0	5,0
12	1,2	88,0	12,0
18	1,2	88,0	20,0
20	1,2	50,0	50,0
24	1,2	50,0	50,0
25	1,2	95,0	5,0
28	1,0	95,0	5,0

Fonte: Nascimento (2015).

4.5.2.2 Análise de quantificação de Rutina equivalente por método espectrofotométrico

A determinação de rutina equivalente foi realizada segundo a metodologia de Sobrinho e colaboradores (2008) com modificações, onde 1 mL de cada extrato obtido

foi transferido para balões volumétricos de 25 mL, posteriormente foram acrescentados 0,6 mL de ácido acético glacial, 10 mL de solução de piridina 20% (v/v) e 2,5 mL de cloreto de alumínio em metanol (50,0 mg/L), volume final avolumado com água. As amostras foram mantidas em temperatura ambiente por 30 minutos e então foi realizada a leitura a 420 nm no espectrofotômetro (Shimadzu® UV-1800, Kyoto, Japão).

Uma solução padrão de rutina na concentração de 7,5 mg/mL foi preparada para a construção da curva de calibração e diluições foram realizadas (10x, 7x, 5x, 3x e 2x) (Figura10) (SOBRINHO et. al, 2008).

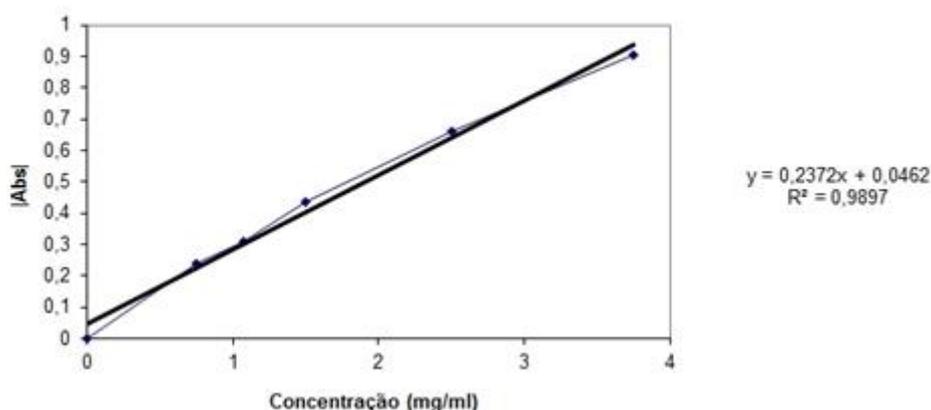


Figura 10. Curva de Calibração de Rutina.

4.5.3 Determinação de Fenólicos Totais

A determinação de compostos fenólicos totais foi realizada segundo o método espectrofotométrico de Singleton e Rossi (1965) O teor de fenólicos totais foi expresso em mg de ácido gálico equivalente (AGE)/100g de amostra.

Para a reação, 500 μ L do extrato a ser analisado foram pipetados em um tubo de ensaio. Foi adicionado ao tubo, junto ao extrato, 2,5 mL de solução de Folin-Ciocalteu 10% e deixado à temperatura ambiente por 2 minutos. Decorrido este tempo 2,0 mL de solução de carbonato de sódio 7,5% (m/v) foram adicionados. Realizou-se a agitação em vortex e incubação em banho termostático a 50° C por 15 minutos. Após esse tempo os tubos foram retirados do banho termostático e colocados em banho de gelo para pausar a reação. As leituras de absorvância foram realizadas a 760 nm em espectrofotômetro (Shimadzu® UV-1800, Kyoto, Japão).

4.5.4 Determinação de Bioacessibilidade da Rutina

A determinação da bioacessibilidade da rutina foi realizada por meio da simulação *in vitro* das fases oral, gástrica e intestinal da digestão humana de acordo com a metodologia de Garret et al. (1999) e adaptações de Failla et al. (2009). As soluções foram preparadas com água Milli-Q.

Para a simulação da digestão oral, foi utilizada solução saliva. Para a mesma, preparou-se, inicialmente, uma solução de uréia 2,5% (p/V). Em seguida, em um balão volumétrico de 100 ml foram adicionados 2 mL de solução de KCl 89,6g/L, 2 mL de solução de KSCN 20g/L, 2 mL de solução de NaH₂PO₄ 88,8g/L, 2 mL de solução de Na₃PO₄ 57g/L, 340 µL de NaCl 175,3g/L, 360 µL de NaOH 1M e 1,6 mL de solução de uréia 25g/L; o balão foi avolumado com água Milli-Q. Esta solução foi denominada como solução 1 e posteriormente foi utilizada para o preparo da solução saliva. Em um becker foram pesados 0,29 g de α -amilase e 0,01 g de mucina e utilizando a solução 1 foi realizada a solubilização das enzimas. A solução 1 juntamente com as enzimas é chamada de solução saliva.

Aos tubos Falcon contendo as amostras de extrato foram adicionados 7 mL de solução saliva e após homogeneização foram colocados em banho termostático com agitação de 60 RPM a 37°C por 10 minutos. Decorrido o tempo, os tubos contendo as amostras foram levados para banho de gelo com o intuito de cessar a atividade enzimática.

Na simulação da fase gástrica, foi preparada uma solução contendo 4% (p/v) de pepsina (Pepsina de porco, Sigma) HCl 0,1M e uma solução composta de uma variedade de sais, chamada de Solução A.

A Solução A foi adicionada aos tubos provenientes da fase oral. Foi adicionado um volume correspondente a 30 mL da graduação de cada tubo e, em seguida, houve o ajuste do pH das amostras para $2,5 \pm 0,1$, utilizando-se HCl 1M. Após a realização do ajuste de pH, 2 mL da solução de pepsina foram adicionados aos tubos e em seguida, com Solução A os tubos foram avolumados até a graduação de 40 mL. Após homogeneização, os tubos foram incubados em banho termostático com agitação (60 RPM), por 1 hora a uma temperatura de 37°C. Em seguida, para interromper a atividade enzimática as amostras foram inseridas em banho de gelo por 30 segundos.

Para simulação da fase intestinal, foram preparadas soluções de bile e pancreatina-lipase. A solução de bile 4% (p/v) foi solubilizada com solução de NaHCO₃ 0,1M. A

solução de pancreatina-lipase foi preparada pesando-se 0,25g de pancreatina e 0,125g de lipase em balão volumétrico de 25 mL e realizando-se a solubilização em NaHCO₃ 0,1M.

As amostras foram ajustadas para pH 6,0 ± 0,2, utilizando NaHCO₃ 1M. Em seguida foram adicionados 3 mL da solução de bile e 2 mL da solução de pancreatina-lipase. Foi realizado um novo ajuste de pH até 6,5 ± 0,1 utilizando-se NaOH 1M. Com solução A os tubos foram completados até a graduação de 50 mL, foram homogeneizados e levados novamente para o banho termostático com agitação de 60 RPM a 37°C, por um período de 2 horas. Decorrido este tempo os tubos foram colocados em banho de gelo.

A análise de bioacessibilidade foi realizada durante 5 semanas (semana 0, 1, 2, 3 e 4) para que a estabilidade do composto fosse medida e caracterizada. Para esta etapa de bioacessibilidade amostras de cada metodologia de extração testada (extração convencional e extração por ultrassom) foram armazenadas em diferentes temperaturas. As temperaturas adotadas foram as temperaturas de congelamento (aproximadamente -2°C) e temperatura de refrigeração (aproximadamente 8°C).

Para a quantificação da rutina remanescente após as etapas de digestão, a solução final foi centrifugada a 5.000 rpm por 15 minutos. As amostras centrifugadas foram então submetidas à análise de quantificação de rutina por método espectrofotométrico, apresentada no item anterior.

4.5.5 Análise de Estabilidade da Rutina e Bioacessibilidade

Para o estudo de bioacessibilidade e estabilidade da Rutina um extrato de cada tratamento foi acondicionado em geladeira nas temperaturas de aproximadamente 8°C (temperatura de refrigeração) e em congelador a aproximadamente -2°C (temperatura de congelamento) e analisadas durante 28 dias.

A análise de quantificação de rutina, apresentada no item 4.5.2, foi realizada para os extratos antes e após a análise de bioacessibilidade, apresentada no item 4.5.4. Para a verificação da estabilidade, as análises foram realizadas no período de 5 semanas, sendo analisadas nos dias 0 (Controle), 7, 14, 21 e 28.

Para a verificação da bioacessibilidade foi realizado o cálculo a partir da Equação 3, a seguir.

$$\text{Bioacessibilidade} = \frac{\text{Concentração final de Rutina}}{\text{Concentração inicial de Rutina}} \times 100\% \quad (\text{Equação 3})$$

4.5.6 Análise de Cor Instrumental

A análise instrumental de cor foi realizada na matéria-prima por refletância no aparelho Color Quest XE, escala CIELAB e CIELCh, com abertura de 25mm de diâmetro, com iluminante D65/10 e medido os parâmetros de L* (luminosidade), a* (-80 até zero = verde, do zero ao +100 = vermelho), b* (-100 até zero = azul, do zero ao +70 = amarelo e C* (chroma) que define a intensidade ou saturação de cor (FERNANDES et al., 2010).

4.5.7 Análise de Tamanho de Partícula

O tamanho de partícula da casca de tomate em pó foi determinado em um analisador de partículas a laser MICROTRAC S3500 (Microtrac Inc., Montgomery Ville, USA). A análise foi conduzida em duplicata utilizando-se água como dispersante (índice de refração de 1,33) (AACC, 2010).

4.5.8 Análise de Umidade

A análise de umidade da amostra de casca de tomate em pó em triplicata foi realizada em estufa a vácuo, por 24 horas, a uma temperatura de 105°C, segundo metodologia de Cecchi (1999).

4.5.9 Análise Estatística

As análises realizadas foram realizadas em triplicata e os resultados obtidos apresentados como média \pm desvio padrão. A comparação das médias foi realizada pelo teste T de Student ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$), utilizando o Excel.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, 101 kg de tomate foram submetidos à etapa de despulpamento para obtenção do resíduo. Após a etapa de despulpamento foram obtidos 31 kg de resíduo úmido (casca e sementes) e após a etapa de secagem e separação de casca e sementes, descrita no item 4.5, foram obtidos 2,83 kg de casca seca, utilizada para as análises.

O rendimento das amostras foi calculado de acordo com a Equação 2. O resíduo úmido, constituído pela casca e sementes, apresentou um rendimento de 30,69%, maior do que encontrado na literatura, justificado devido a maturidade do fruto e capacidade de separação total do resíduo e polpa. Em relação ao resíduo seco, composto apenas de casca, o rendimento foi de 2,80% em relação ao peso total de tomate utilizado.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO RESÍDUO SECO

A caracterização química e física do resíduo está apresentada na Tabela 1, a seguir.

Tabela 1. Análises físicas e químicas para a caracterização do resíduo seco.

Análises	Resultados
Físicas	
Tamanho de partícula	$D_{4,3} = 483,4 \mu\text{m} \pm 15,7$
Cor instrumental	$a^* = 10,55 \pm 1,23$
	$L^* = 62,64 \pm 0,06$
Químicas	
Compostos fenólicos	$584,63 \pm 1,78 \text{ mg ácido gálico}$ equivalente (AGE).100 g ⁻¹ de extrato.
Capacidade Antioxidante (TEAC)	$186,98 \pm 1,78 \mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$
Umidade	$1,27\% \pm 0,23$

Segundo Papini (2003), o conhecimento do tamanho de partícula é considerado um pré-requisito de grande importância, uma vez que o tamanho da partícula influi de maneira direta nas propriedades da amostra a ser analisada, como aroma, aparência e textura.

A análise de tamanho de partículas é uma etapa importante para a etapa de extração, é sabido que partículas com tamanhos homogêneos fazem com que haja um

aumento da área de contato entre o material vegetal e o líquido extrator, conseqüentemente pode haver o aumento da eficiência da extração do composto de interesse (PRISTA et al., 2008). Partículas com tamanhos menores apresentam uma área de contato com o líquido extrator maior, porém, nestas circunstâncias não há necessariamente um aumento da eficiência da extração. A eficiência da penetração dos solventes depende de alguns outros fatores, como por exemplo a consistência dos tecidos da matéria-prima utilizada para a extração dos compostos (CARDOSO et al., 2017).

A análise de distribuição do tamanho de partícula foi realizada para a amostra de resíduo seco de tomate obtido após o despulpamento do tomate *in natura*. O tamanho médio das partículas foi igual a $D_{4,3} = 483,4 \mu\text{m} \pm 15,7$, demonstrando a heterogeneidade das partículas da farinha. Cerca de 90% das partículas presentes apresentam em média tamanho de $1,033 \mu\text{m} \pm 62$. A distribuição do tamanho de partículas apresentou caráter de distribuição bimodal, representado na Figura 11, a seguir.

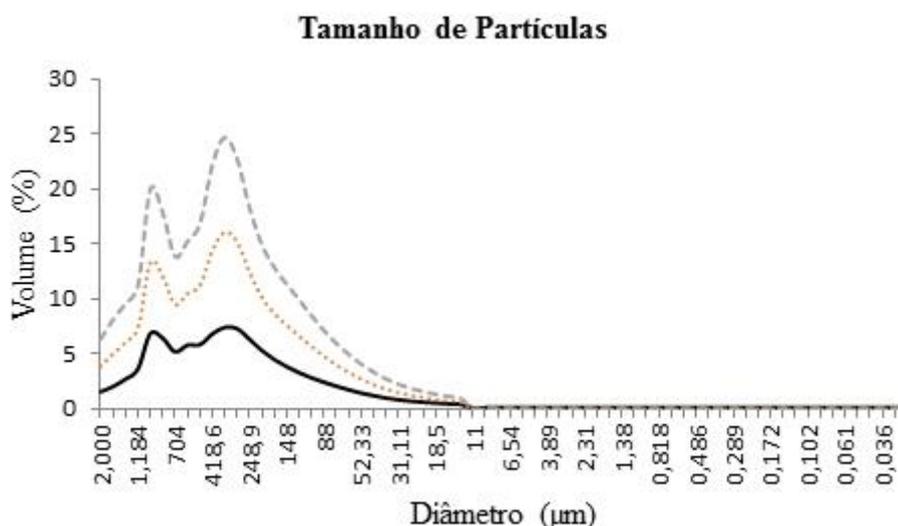


Figura 11. Distribuição do tamanho de partículas da amostra de casca de tomate em pó.

Durigon (2016) determinou o tamanho de partícula para amostras de tomate em pó produzidas por diferentes formas de secagem. As amostras foram nomeadas de CTD (amostra seca por *cast-tape drying*), CTDM (amostra com maltodextrina seca por CTD), FD (amostra seca por liofilização) e SDM (amostra seca por *spray drying*) e os valores do diâmetro médio das partículas $D_{4,3}$ foram de $354,58 \pm 57,55 \mu\text{m}$, $318,51 \pm 28,72 \mu\text{m}$, $231,94 \pm 18,53 \mu\text{m}$ e $64,48 \pm 36,88 \mu\text{m}$, respectivamente e apresentaram caráter multimodal. A forma de obtenção (secagem e moagem) dos pós de tomate e a matéria-

prima utilizada são os principais parâmetros para a variação do diâmetro de partículas. Para amostras de tomate em pó produzidos a partir do método RW, Castoldi (2012), observou valores de diâmetro médio de partículas $D_{4,3}$ de $204,70 \pm 10,50 \mu\text{m}$. O resíduo seco de tomate obtido neste trabalho apresentou um tamanho maior do que outros encontrados na literatura, porém neste trabalho não foi usada nenhuma técnica de moagem propriamente dita. Apenas técnicas de secagem foram implementadas no processo o que justifica a obtenção de partículas maiores.

A análise de cor instrumental é um parâmetro de grande importância, sendo utilizada usualmente para classificar os produtos derivados de tomate. Para o consumidor a cor do produto apresenta uma característica atrelada ao frescor e qualidade do produto (Shami et al., 2004). Devido à cor vermelha ser predominantemente encontrada no tomate, os parâmetros que melhor definem a cor deste fruto são as variáveis a^* e L^* , onde L^* é a luminosidade (0 = preto e 100 = branco) e a^* é a variação da cor verde ao vermelho (-80 até zero = verde, do zero ao +100 = vermelho). Para a amostra de casca de tomate em pó foram obtidos valores médios de $a^* = 10,55 \pm 1,23$ e $L^* = 62,64 \pm 0,06$.

Amostras de diferentes acessos de tomate foram utilizadas por Rosa e colaboradores (2011) para a realização da análise de cor instrumental. Utilizando a casca das amostras do fruto foram obtidos valores de a^* variando entre 17,95 e 29,58, os valores de L^* encontrados variaram entre 40,07 e 42,74. A diferença entre a cor obtida para a amostra utilizada no presente trabalho é justificada devido ao processo de secagem realizando antes da análise, além das variações relacionadas à espécie e estágio de maturação de cada fruto. De forma semelhante, Cruz e colaboradores (2012), obtiveram valores diferentes para cada parâmetro, obtendo valores de a^* variando entre 26,32 e 41,14 e para o parâmetro L^* houve variação entre 5,16 e 9,29; neste trabalho a amostra utilizada para análise foi casca de tomate seca em diferentes temperaturas, o que caracteriza a variação dos valores de cada parâmetro.

Segundo Cecchi (1999), a análise de determinação de umidade é de grande importância, sendo este parâmetro ligado diretamente à estabilidade, qualidade e composição de alimentos.

A umidade da amostra foi de $1,27\% \pm 0,23$. A baixa umidade confere uma maior estabilidade do produto e uma menor possibilidade de degradação dos nutrientes presentes. Os valores de umidade das amostras podem variar de acordo com o método de secagem utilizado e a forma de armazenamento do pó, etapa fundamental para impedir o aumento da umidade.

O teor de compostos fenólicos totais para a amostra de casca de tomate em pó foi de $584,63 \pm 1,78$ mg ácido gálico equivalente (AGE).100 g⁻¹ de extrato. A capacidade antioxidante da casca de tomate em pó, medida pelo método de TEAC, foi de $186,98 \pm 1,78$ $\mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$.

Em amostras de tomate fertirrigados com diferentes concentrações de nitrogênio, Jorge e colaboradores (2017), obtiveram valores de compostos fenólicos e de capacidade antioxidante que variaram 846,11 e 1022,86 mg ácido gálico equivalente (AGE).100 g⁻¹ de extrato seco e 842,41 a 966,66 $\mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$, respectivamente. Valores mais altos estão associados à utilização da polpa do fruto, diferente do presente trabalho que utilizou apenas resíduo seco de tomate.

5.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

Para a obtenção dos extratos foram utilizadas duas técnicas, a extração convencional com solvente orgânico e a extração assistida por ultrassom. Após as extrações, análises foram realizadas para verificar a eficiência de cada método e a sua influência na extração de compostos.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS

As análises de caracterização dos extratos estão apresentadas na Tabela 2, a seguir.

Tabela 2. Análises de caracterização dos extratos obtidos pelo método convencional e ultrassom.

Extrato	Teor de Rutina (μg de rutina equivalente/g de resíduo)	TEAC ($\mu\text{mol Trolox.g}$ de extrato ⁻¹)	ORAC ($\mu\text{mol Trolox.g}$ de extrato ⁻¹)	Teor de
				fenólicos totais (mg ácido gálico equivalente (AGE).100 g ⁻¹ de extrato)
Convencional	$94,25 \pm 0,01$ a	$25,92 \pm 0,11$ a	$97,13 \pm 12,44$ a	$445,95 \pm 0,95$ a
Ultrassom	$95,75 \pm 0,07$ a	$27,90 \pm 0,10$ b	$109,82 \pm 15,03$ a	$463,16 \pm 1,58$ b

5.3.1 Compostos fenólicos

O teor de compostos fenólicos para as amostras obtidas a partir da extração assistida por ultrassom foi de $463,16 \pm 1,58$ mg ácido gálico equivalente (AGE).100 g⁻¹ de extrato. Para as amostras obtidas a partir da extração convencional com solvente orgânico foi de $445,95 \pm 0,95$ mg ácido gálico equivalente (AGE).100 g⁻¹ de extrato. De acordo com o teste t para análise de duas médias há diferença significativa entre as duas amostras analisadas ($P < 0,05$), portanto é possível observar que para a extração assistida por ultrassom houve um ligeiro aumento no teor de compostos fenólicos totais obtido.

No tomate, os principais compostos fenólicos encontrados são os ácidos fenólicos como ácido caféico, ácido ferúlico e ácido p-cumárico, e os flavonoides como rutina, chalconaringenina e kaempferol (LONG et al., 2006).

Dias e colaboradores (2014), quantificaram compostos fenólicos em três diferentes tipos de tomates mutantes e obtiveram concentrações, menores aos observados no presente trabalho, que variaram entre 50 e 120 mg ácido gálico equivalente (AGE).100 g⁻¹ de amostra, a diferença entre as mutações no fruto de tomate foi responsável pela diferença de concentração. Para as análises, foi realizada a liofilização das amostras e posterior extração com etanol 70% como solvente extrator.

Gümüşay e colaboradores (2015) utilizaram amostras de gengibre e tomate secos em diferentes métodos de secagem como liofilização, secagem ao sol, secagem no forno e secagem no forno a vácuo e verificaram os efeitos na concentração de compostos fenólicos de cada amostra. Segundo as análises realizadas foi possível observar que as amostras de gengibre e tomate *in natura* são boas fontes de compostos fenólicos apresentando valores de $1351,10 \pm 62,16$ mg ácido gálico equivalente (AGE).100 g⁻¹ de amostra e $792,22 \pm 43,35$ mg ácido gálico equivalente (AGE).100 g⁻¹ de amostra, respectivamente. Para as amostras secas de gengibre o tratamento que apresentou maior concentração de compostos fenólicos foi a amostra obtida por liofilização, apresentando valores de $910,90 \pm 44,51$ mg ácido gálico equivalente (AGE).100 g⁻¹ de amostra, seguido das amostras secas em forno, ao sol e em forno à vácuo, com valores de $354,05 \pm 40,60$ mg ácido gálico equivalente (AGE).100 g⁻¹ de amostra, $319,60 \pm 42,30$ mg ácido gálico equivalente (AGE).100 g⁻¹ de amostra e $284,10 \pm 18,10$ mg ácido gálico equivalente (AGE).100 g⁻¹ de amostra, respectivamente. De maneira análoga, as amostras de tomate seco por liofilização apresentaram maior concentração de compostos fenólicos, sendo de $654,60 \pm 29,63$ mg ácido gálico equivalente (AGE).100 g⁻¹ de amostra, seguido

das amostras secas em forno à vácuo, em forno e ao sol, com valores de $355,79 \pm 28,38$ mg ácido gálico equivalente (AGE).100 g⁻¹ de amostra, $346,10 \pm 49,68$ mg ácido gálico equivalente (AGE).100 g⁻¹ de amostra e $314,27 \pm 42,30$ mg ácido gálico equivalente (AGE).100 g⁻¹ de amostra, respectivamente. A partir destes resultados é possível avaliar a interferência da matriz alimentícia e também do método aplicado para a secagem de cada amostra, afetando diretamente a concentração final dos compostos fenólicos presentes.

5.3.2 Quantificação de Rutina

Para a etapa de quantificação da Rutina foram adotadas duas análises distintas: cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e quantificação por método espectrofotométrico. A utilização da CLAE se deu com o intuito de comprovar a presença do composto de interesse no extrato analisado. Desta maneira, após a etapa de identificação e quantificação da rutina por CLAE adotou-se para quantificação posterior o método espectrofotométrico, sendo esta uma análise mais barata e rápida.

5.3.2.1 Quantificação de Rutina por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A análise de quantificação de rutina por CLAE para os extratos etanólicos obtidos pela extração com ultrassom apresentou o resultado de $131,40 \pm 6,01$ µg de rutina/g de resíduo, enquanto que para a extração convencional o resultado foi de $122,70 \pm 2,73$ µg de rutina/g de resíduo. Segundo análise estatística por Test T de Student com nível de significância de 5%, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para os resultados de concentração de Rutina nos extratos obtidos pelos dois métodos de extração diferentes.

Os espectros de leitura na região do UV/VIS dos picos do composto identificado nas amostras obtidas pelos dois métodos de extração (Convencional e Ultrassom) estão apresentados na Figura 12, a seguir. A comparação destes espectros foi realizada com a utilização do espectro do padrão de rutina, apresentado na Figura 13.

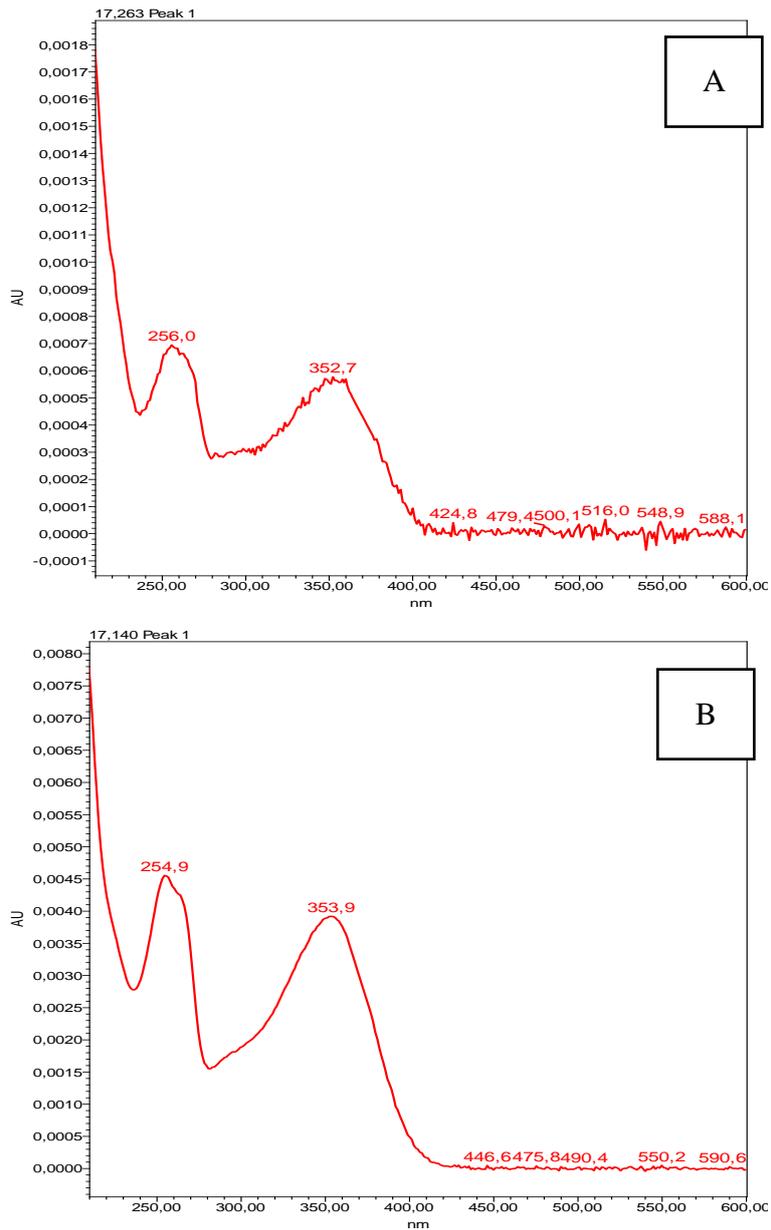


Figura 12. Espectros de UV/VIS dos extratos. (A) extrato obtido por extração convencional; (B) extrato obtido por extração assistida por ultrassom.

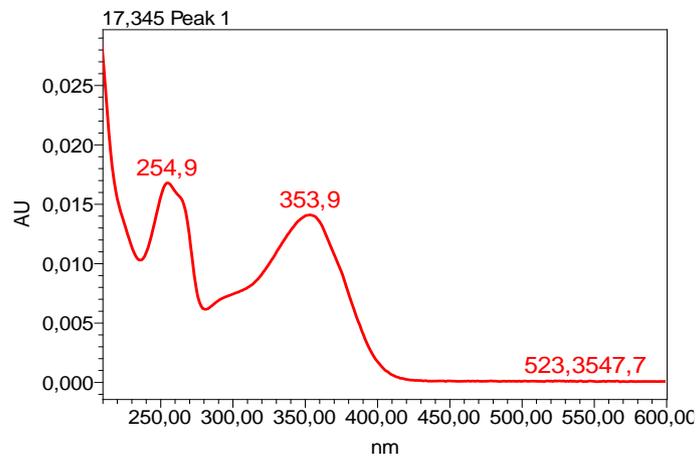


Figura 13. Espectro de UV/VIS de Padrão de Rutina.

Ferreira e Colombo (2011) realizaram a análise de amostras de folha de cana-de-açúcar com o intuito de quantificar flavonóides presentes na amostra através de métodos espectrofotométricos e CLAE; para amostras de folha de cana-de-açúcar analisadas por método espectrofotométrico foram obtidos valores iguais a $1,58 \pm 0,04$ mg de rutina/g de amostra, para a técnica de CLAE para a quantificação foi obtido o valor de $1,705 \pm 0,01$ mg de rutina/g de amostra. Valores maiores foram observados para a análise de CLAE por ser um método mais sensível e específico.

Para a quantificação de flavonoides presentes na polpa e casca do tomate roxo, Maia (2015) realizou a análise de cromatográfica líquida de alta eficiência (CLAE-DAD), sendo encontrado o valor de $106,25 \pm 10,08$ mg de rutina/100 g de casca e $1,22 \pm 0,08$ mg de rutina/100 g de polpa. Demonstrando uma maior concentração deste composto na casca do fruto. Por ser utilizada matéria-prima diferente é possível justificar as variações nas concentrações do composto.

Reis (2015) realizou a avaliação de flavonoides em extratos vegetais por meio da técnica de CLAE. Os extratos vegetais analisados foram obtidos a partir de folhas das espécies vegetais *E. dysenterica*, *E. suberosum*, *E.daphnites* e *S. saponária*. Para os extratos provenientes de *E. dysenterica* e *S. saponária* não foram observadas concentrações de flavóides, enquanto para o extrato obtido a partir de *E. suberosum* e *E.daphnites* foram observadas concentrações de rutina igual a $0,994 \mu\text{g}$ de rutina/mL de extrato e $0,199 \mu\text{g}$ de rutina/mL de extrato, respectivamente.

5.3.2.2 Quantificação de Rutina equivalente por método espectrofotométrico

A análise de quantificação de rutina equivalente para os extratos etanólicos obtidos através da técnica de ultrassom apresentou o resultado de $95,75 \pm 0,07 \mu\text{g}$ de rutina equivalente/g de resíduo, para a extração convencional o resultado foi de $94,25 \pm 0,01 \mu\text{g}$ de rutina equivalente/g de resíduo. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para os resultados de concentração de Rutina nos extratos obtidos pelos dois métodos de extração diferentes.

De acordo com a matriz alimentícia, o solvente extrator e o método utilizado há variações significativas na concentração extraída do composto de interesse. Utilizando azeitonas *in natura*, Deng e colaboradores (2017), obtiveram uma concentração de rutina de $182,25$ mg/g de amostra, com extração utilizando o método assistido por ultrassom com potência de 150 W, a uma temperatura de 20°C , frequência variando entre 60 - 62 kHz, razão sólido/líquido de $1:25$ e o solvente extrator utilizado foi etanol 70% . Thoo e

colaboradores (2013), utilizaram para extrair rutina do fruto de *Morinda citrifolia*, adotando parâmetros como etanol 75% como solvente extrator, razão sólido/líquido 1:10, 40 minutos de extração a 57°C foram obtidos 1,21 mg/ g de extrato, pelo método de extração com solvente orgânico. De forma semelhante, Andrade e colaboradores (2014), utilizaram o método de extração com solvente orgânico em flores para a extração de rutina com metanol puro, obtiveram 4,6 µg/g de amostra após 1 hora de reação.

5.3.3 Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante determinada pelos métodos de TEAC e ORAC para as amostras obtidas por extração assistida por ultrassom foram de $27,90 \pm 0,10$ µmol Trolox.g⁻¹ e $109,82 \pm 15,03$ µmol de Trolox.g⁻¹, respectivamente. Para as amostras provenientes da extração convencional os valores foram de $25,92 \pm 0,11$ µmol Trolox.g⁻¹ e de $97,13 \pm 12,44$ µmol Trolox.g⁻¹, respectivamente. O teste T para análise de médias mostrou que há diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$) se comparadas as atividades antioxidantes realizadas segundo o método TEAC, indicando uma capacidade antioxidante maior nos extratos obtidos por extração assistida por ultrassom. Para a análise de atividade antioxidante utilizando o método ORAC, o teste T para análise de médias mostrou não haver diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras analisadas obtidas pelos diferentes métodos de extração.

A diferença observada para os resultados dos métodos de quantificação da capacidade antioxidante se dá devido, possivelmente, a sensibilidade dos métodos adotados; o método ORAC apresenta uma maior sensibilidade do que o método TEAC.

Morales-Soto e colaboradores (2014) determinaram as atividades antioxidantes pelos métodos de TEAC e ORAC para três diferentes espécies de tomate e em diferentes estações do ano com o intuito de verificar a variação do poder antioxidante deste fruto. Para a análise foram escolhidas as espécies de tomate verde Raf, tomate vermelho Débora e tomate verde Pinton. Foram obtidos valores médios de $162,0 \pm 0,11$, $169,0 \pm 0,14$ e $138,0 \pm 0,05$ µmol Trolox.g⁻¹ em análise de TEAC, respectivamente. Para o método ORAC, os valores médios para cada espécie foram de $109,0 \pm 0,04$, $108,0 \pm 0,031$ e $96,1 \pm 0,02$ µmol Trolox.g⁻¹, respectivamente. Para a obtenção dos extratos para posterior análise, os autores utilizaram como solvente extrator metanol.

Com o intuito de reaproveitar resíduos agroindustriais como sementes de romã, uva e tomate, Durante e colaboradores (2017) determinaram a capacidade antioxidante

por TEAC e ORAC em oleoresinas extraídas com CO₂ supercrítico. Os maiores valores de capacidade antioxidante foram obtidos para amostras de oleoresinas extraídas de sementes de romã, obtendo-se valores de 19,1 µmol Trolox.g⁻¹ e 828 µmol Trolox.g⁻¹, respectivamente. Para amostras de oleoresinas extraídas de sementes de tomate e uva foram obtidos valores de TEAC e ORAC de 4,5 µmol Trolox.g⁻¹ e 579 µmol Trolox.g⁻¹, e 3,4 µmol Trolox.g⁻¹ e 158 µmol Trolox.g⁻¹, respectivamente.

A forma de obtenção dos produtos de análise e a sua composição, bem como a matriz alimentícia utilizada são parâmetros de grande interferência para os resultados de capacidade antioxidante.

5.3.4 Avaliação da estabilidade e bioacessibilidade da Rutina nos extratos

Nas Tabelas 3 e 4, a seguir, estão apresentadas as concentrações da rutina e a bioacessibilidade deste composto para cada extrato nas diferentes temperaturas de armazenamento. A partir desses dados foi possível verificar a porcentagem de bioacessibilidade do composto, com auxílio da Equação 3 apresentada no item 4.5.5, (Tabela 5), sendo este dado indicador da concentração de rutina disponível para absorção.

Tabela 3. Estabilidade da rutina nos extratos estocados a temperatura de congelamento e refrigeração.

Teor de Rutina (mg/g de extrato)	Temperatura de Refrigeração		Temperatura de Congelamento	
	US	C	US	C
0 dias	3,900	3,784	3,802	3,777
7 dias	3,889	3,781	3,796	3,771
14 dias	3,787	3,661	3,644	3,608
21 dias	3,703	3,599	3,587	3,541
28 dias	3,687	3,546	3,500	3,479

US = extratos obtidos por extração assistida por ultrassom e C = extratos obtidos por meio de extração convencional com solvente orgânico.

Tabela 4. Estabilidade da bioacessibilidade nos extratos estocados a temperatura de congelamento e refrigeração.

Bioacessibilidade (mg/g de extrato)	Temperatura de Refrigeração		Temperatura de Congelamento	
	US	C	US	C
	0 dias	0,530	0,513	0,522
7 dias	0,488	0,463	0,499	0,480
14 dias	0,424	0,373	0,405	0,356
21 dias	0,401	0,312	0,389	0,303
28 dias	0,372	0,287	0,354	0,286

US = extratos obtidos por extração assistida por ultrassom e C = extratos obtidos por meio de extração convencional com solvente orgânico.

Tabela 5. Porcentagem de recuperação de rutina.

Recuperação de Rutina (%)	Temperatura de Refrigeração		Temperatura de Congelamento	
	US	C	US	C
	0 dias	13,60	13,56	13,73
7 dias	12,54	12,26	13,14	12,73
14 dias	11,20	10,19	11,05	9,87
21 dias	10,83	8,67	10,84	8,56
28 dias	10,10	8,09	10,11	8,22

US = extratos obtidos por extração assistida por ultrassom e C = extratos obtidos por meio de extração convencional com solvente orgânico.

Na Figura 14, para melhor visualização, é apresentado o gráfico de colunas da porcentagem de recuperação rutina. É possível observar um comportamento semelhante para as amostras ao longo do tempo de avaliação, sendo encontrados valores menores de recuperação nas semanas 3 e 4 para as amostras de extratos obtidos por extração convencional. As médias para os extratos obtidos pelo método convencional armazenados em temperatura de refrigeração e congelamento, e as médias para os extratos obtidos por meio de extração assistida por ultrassom foram de $10,55 \pm 2,33\%$ de recuperação, $10,56 \pm 2,39\%$ de recuperação, $11,65 \pm 1,40\%$ de recuperação e $11,77 \pm 1,57\%$ de recuperação, respectivamente. Segundo o teste T. é possível afirmar que não há diferença significativa

entre as amostras acondicionadas em temperaturas diferentes, concluindo-se que a estabilidade da rutina não foi afetada diretamente pela temperatura de armazenamento.

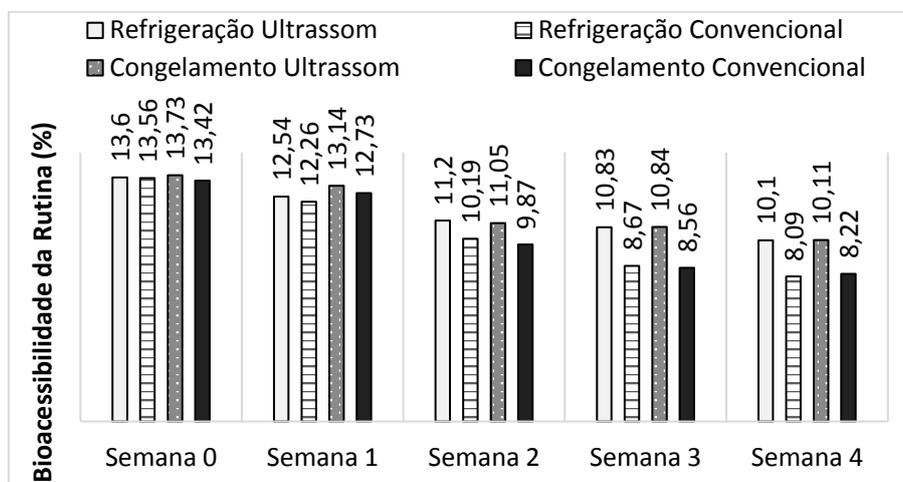


Figura 14. Gráfico de bioacessibilidade da rutina.

Utilizando tomate *in natura* e purê de tomate de espécies geneticamente modificadas, Talens e colaboradores (2016) obtiveram uma porcentagem de recuperação de rutina de 38,88% e 60,77%. Para a determinação da bioacessibilidade das amostras foi utilizado um método de digestão gastrointestinal *in vitro* semelhante ao utilizado no presente trabalho, a diferença observada pode ser explicada pela diferença da matriz alimentícia, uma vez que Talens utilizou o próprio fruto para as análises e não somente o resíduo. Gayoso e colaboradores (2016) avaliaram diferentes métodos de digestão *in vitro* na estabilidade e bioacessibilidade de compostos fenólicos, com foco em rutina, ácido caféico e ácido rosmarínico. Para a rutina foram obtidos valores de recuperação variando entre 35 e 40%. A utilização de matrizes alimentícias distintas é um fator que tem grande influência sobre a bioacessibilidade dos compostos, uma vez que interações com alguns componentes alimentares podem ocorrer. Neste sentido, os valores de recuperação para a rutina determinados no presente trabalho podem ser comparados com a literatura específica.

6 CONCLUSÃO

A utilização da casca de tomate em pó se mostrou promissora para a extração de compostos bioativos.

Na faixa de operação avaliada, não houve diferença significativa entre os métodos de extração por etanol e assistida por ultrassom no que se refere ao teor de rutina obtido, na atividade antioxidante e na concentração de compostos fenólicos.

Não foi verificada diferença significativa no valor da bioacessibilidade da rutina nos dois extratos.

Não houve diferença significativa da bioacessibilidade da rutina nos extratos armazenados em duas temperaturas (refrigeração e congelamento).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGEITEC (2013). **Árvore de conhecimento do tomate**. <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tomate/Abertura.html>> Acesso em 29/09/2016.
- AGUILERA, J. M. (2003). **Solid-liquid extraction**. Extraction optimization in food engineering, New York, 2003.
- ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: produção e campo, em casa de vegetação e em hidroponia**. UFLA: Lavras, p. 393, 2004.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 18th ed. Washington, DC, 2005. AOAC, 2005, rev. 2010.
- BARBA, F. J. et al. **Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review**. Trends in Food Science and Technology, v. 49, p. 96-109, 2006.
- BECHO, J. M. R. et al. **Avaliação toxicológica do flavonoide rutina no sistema reprodutor de ratos wista**. Revista interdisciplinar de estudos experimentais – Animais e humanos. v. 7, n. 1, 2015.
- BEDANI, R.; ROSSI, E. A.; SAAD, S. M. I. **Impact of inulin and okara on *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* Bb-12 viability in a fermented soy product and probiotic survival under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions**. Food microbiology, v. 34, n. 2, p. 382-389, 2013.
- BEHLING, E. B. et al. **Flavonoide quercetina: Aspectos gerais e ações biológicas**. Alim. Nutr., Araraquara, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.
- BENEFÍCIOS NATURAIS (2016). **10 remédios caseiros a base de tomate**. <<http://beneficiosnaturais.com.br/10-remedios-caseiros-a-base-de-tomate/>> Acesso em 05/10/2016.
- BORGUINI, R. G. **Avaliação do potencial antioxidante e de algumas características físico-químicas do tomate (*Lycopersicon esculentum*) orgânico em comparação ao convencional**. USP: São Paulo, 2006.
- BRAMLEY, P. M. **Is lycopene beneficial to human health**. Phytochemistry, v. 54, n. 3, p. 233-236, 2000.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity**. Lebensmittel-Wissenschaft Technologie, London, v. 28, p. 25-30, 1995.
- CARDOSO, I. C. et al. **Influência da técnica de extração e do tamanho de partícula do material vegetal no teor de compostos fenólicos totais da tintura das folhas de *Alpinia zerumbet***. Revista Fitos, Rio de Janeiro, p. 62-68, 2017.
- CASTOLDI, M. **Estudo do processo de secagem de polpa de tomate por *refractance window***. Florianópolis: UFSC, 2012.
- CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Campinas: Unicamp, 212 p, 1999.

- CONSTANT, L. S. **Adaptação de metodologia de digestão in vitro para avaliação da bioaccessibilidade de carotenoides em suco de melancia.** UFRRJ: Rio de Janeiro, 2016.
- CONSTANT, L. S. **Desenvolvimento de processo tecnológico para obtenção de produtos ricos em licopeno a partir de suco de melancia.** UFRRJ: Rio de Janeiro, 2014.
- COTTA, J. A. O.; REZENDE, M. O. O.; LANDGRAF, M. D. **Avaliação de solventes de extração por ultrassom usando-se cromatografia líquida de alta eficiência para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em solos contaminados.** Quim. Nova, São Carlos, v. 32, n. 8, p. 2026-2033, 2009.
- CRUZ, P. M. F; BRAGA, G. C.; GRANDI, A. M. **Chemical composition, color and sensory quality of tomato dried at different temperatures.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 33, n. 4, p. 1475-1486, 2012
- DANTAS, R. **Atomatados: com sabor de praticidade.** Giro News, v. 01, n. 45, p. 10-11, 2008.
- DELL VALLE, M.; CÂMARA, M.; TORIJA, M. E. **Chemical characterization of tomato pomace.** Journal of the Science of Food and Agriculture, London, v. 86, p. 1232-1236, 2006.
- DENG, J. et al. **Comparative evaluation of maceration and ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from fresh olives.** Ultrasonics Sonochemistry, v. 37, p. 328-334, 2017.
- DRISKO, J. A.; CHAPMAN, J.; HUNTER, V. J. **The use of antioxidants with first-line chemotherapy in two cases of ovarian cancer.** J Am Coll Nutr. 2003.
- DURANTE, M. et al. **Seeds of pomegranate, tomato and grapes: An underestimated source of natural bioactive molecules and antioxidants from agri-food by-products.** Journal of food composition and analysis, v. 63, p. 65-72, 2017.
- DURIGON, A. **Produção e caracterização de tomate em pó por cast-tape drying.** Florianópolis: UFSC, 2016.
- EMBRAPA (2006). **Cultivo de Tomate para Industrialização.** <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial_2ed/importancia.htm> Acesso em 29/09/2016.
- FAILLA, M. L. et al. **In vitro bioaccessibility of beta-carotene in orange-fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas*, Lam.).** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 57, p. 10922-10927, 2009.
- FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática.** Artmed, Porto Alegre, v. 2, 2006.
- FERNANDES, A. M. et al. **Qualidade físico-química e de fritura de tubérculos de cultivares de batata na safra de inverno.** Horticultura Brasileira, v. 28, n. 3, p. 299-304, 2010.
- FERRARI, A. A. **Caracterização química de tomates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) empregando análise por ativação neutrônica instrumental.** USP: Piracicaba, 2008.
- FERREIRA, C. H. A.; COLOMBO, R. **Validação de método e determinação espectrofotométrica dos flavonoides das folhas e do vinhoto da cana-de-açúcar e comparação com método CLAE-V.** Química Nova, v. 34, n. 9, p. 1651-1655, 2011.

- GARRET, D. A. et al. **Development of an *in vitro* digestion model of estimating the bioavailability of carotenoids from meals.** Journal of Agriculture and Food Chemistry, v. 47, p. 4301-4309, 1999.
- GULLÓN, B. et al. **Rutin: A review on extraction, identification and purification methods, biological activities and approaches to enhance its bioavailability.** Trends in food science & technology, v. 67, p. 220-235, 2017.
- HERTOG, M.G.L et al. **Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in The Netherlands.** Nutr. Cancer, v.20, n.1, p.21-29, 1993.
- HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B. **Health effects and bioavailability of dietary flavonols.** Free Radic. Res., London, v. 31, p. 75-80S, 1999.
- IBGE (2016). **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA).** <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/prevsaf/default.asp?z=t&o=26&i=P>> Acesso em 29/09/2016.
- JORGE, M. F. et al. **Physicochemical characteristics, antioxidant capacity and phenolic compounds of tomatoes fertigated with different nitrogen rates.** Rev. Caatinga, Mossoró, v. 30, n. 1, p. 237 – 243, 2017.
- LISERRE, A. M.; RÉ, M. I.; FRANCO, B. D. G. M. **Microencapsulation of Bifidobacterium animalis subsp. Lactis in modified alginate-chitosan beads and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions.** Food Biotechnology, v. 21, n.1, p. 1-16, 2007.
- LIZA, M. S. et al. **Supercritical carbon dioxide extraction of bioactive flavonoid from Strobilanthes crispus (Pecah Kaca).** Food and Bioproducts Processing, v. 88, p. 319-326, 2010.
- LOLITO, B. S.; FREI, B. **Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: Cause, consequence, or epiphenomenon?** Free Radical Biology & Medicine, v.41, p.1727–1746, 2006.
- LONG, M. et al. **Metabolite profiling of carotenoid and phenolic pathways in mutant and transgenic lines of tomato: Identification of a high antioxidant fruit line.** Phytochemistry, v. 67, p. 1750-1757, 2006.
- MAIA, A. P. S. **Atividade anti-inflamatória de extrato fenólico de tomate roxo (Solanum Lycopersicum L.) em camundongo em modelo de peritonite induzido pelo LPS.** 2015. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de pós-graduação em Ciências de Alimentos. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.
- MELO, P. S. **Composição química e atividade biológica de resíduos agroindustriais.** USP: São Paulo, 2010.
- MINEKUS, M. et al. **A standardised static in vitro digestion method suitable for food - an international consensus.** Food Funct, v. 5, p. 1113-24, 2014.
- MONTEIRO, C. S. et al. **Qualidade nutricional e antioxidante do tomate “tipo italiano”.** Alim. Nutr., Araraquara, v.19, n.1, p. 25-31, 2008.
- MORALES-SOTO, A. et al. **Antioxidant capacity of 44 cultivars of fruits and vegetables grown in Andalusia (Spain).** Food Research International, v. 58, p. 35–46, 2014.
- NASCIMENTO, L. S. M. **Identificação e quantificação de compostos bioativos em frutos de Eugenia brasiliensis, Lam.** 2015. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-

graduação *Strictu Sensu*. Instituto Federal de Ciência, Educação e Tecnologia. Rio de Janeiro, 2015.

NASSIRI-ASL, M. et al. **The effects of rutin on the development of pentylenetetrazole kindling and memory retrieval in rats.** *Epilepsy and Behavior*. v. 18, p. 50-53, 2010

New York, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

OLIVEIRA, C. A. **Desenvolvimento, avaliação da segurança e eficácia clínica de sistemas nanoparticulados de gelatina contendo rutina.** Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

PAPINI, C. J. **Estudo comparativo de métodos de determinação do tamanho de partícula.** São Paulo: IPEN, 2003.

PARADA, J.; AGUILERA, J. M. **Food Microstructure Affects the Bioavailability of Several Nutrients.** *Journal of Food Science*, p. 1750-3841, 2007.

PATHAK, D.; PATHAK, K.; SINGLA, A. K., **Flavonoids as medicinal agents: recent advances.** *Fitoterapia*, Amsterdam, v. 57, n. 5, p. 371-389, 1991.

PEDRIALI, C. A. **Síntese química de derivados hidrossolúveis da rutina: determinação de suas propriedades físico-químicas e avaliação de suas atividades antioxidantes.** 2005. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

PEDRO, A. M. K. **Determinação Simultânea e Não-Destrutiva de sólidos totais e solúveis, licopeno e β -caroteno em produtos de tomate por espectroscopia no infravermelho próximo utilizando calibração multivariada.** Campinas. Dissertação no Instituto de Química. Universidade Estadual de Campinas. UNICAMP. São Paulo. 118 p., 2004.

POOJARY, M. M.; PASSAMONTI, P. **Extraction of lycopene from tomato processing waste: Kinetics and modelling.** *Food Chemistry*, Camerino, v. 173, p. 943–950, 2015.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. **Tecnologia farmacêutica**, 4^a ed. Fundação Calouste Gulbenkian: Lisboa, 1996.

RE, R. et al. **Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay.** *Free Radical Biology & Medicine*, v. 26, n. 9/10, p. 1231–1237, 1999.

REIS, M. M. L. **Avaliação de flavonóides em extratos vegetais por meio de técnica de CLAE.** UNB: Brasília, 2015.

Reseach. p. 64, 2010.

RICE-EVANS, C. A. et al. **The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids.** *Free Radical Research*, Basingstoke, v. 22, n. 4, p. 375-383, 1995.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. **Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids.** *Free Radical Biology and Medicine*,

RODRIGUES, D. B. et al. **Two-step cleanup procedure for the identification of carotenoid esters by liquid chromatographyatmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry.** *Journal of Chromatography*, p. 116-124, 2016.

RODRIGUEZ, N.M.; SOUSA, L.F.; CASTRO, K.J. **Utilização de Subprodutos da Agroindústria na Alimentação de Ruminantes: Experiência Brasileira**. Associação Brasileira de Zootecistas. São Paulo, 2009.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. EUA: OMNI

RODRÍGUEZ-AMAYA, D.B. **Latin american food sources of carotenoids**. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, v. 49, n.1, p. 74-84, 1999.

ROSA, C. L. S. et al. O. **Caracterização físicoquímica, nutricional e instrumental de quarto acessos de tomate Italiano (*Lycopersicum esculentum* Mill) do tipo “Heirloom” produzido sob manejo orgânico para elaboração de polpa concentrada**. Alimentos e Nutrição, v. 22, n. 4, p. 649-656, 2011.

RUFINO, M. S. M et al. **Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical ABTS^{•+}**. Comunicado Técnico (Embrapa Agroindústria Tropical), 2007.

SÁNCHEZ-MORENO, C. **Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems**. Food Science Technology International, v. 8, n. 3, p. 121-137, 2002.

SANTOS, T. S. **Extração de carotenóides totais e β -caroteno por ultrassom no resíduo de indústria de polpa de goiaba (*Psidium guajava* L.)**. UFS: Sergipe, 2013.

SCHIEBER, A.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. **By-products of plant food processing as a source of functional compounds – Recent Developments**. Trends in Food Science & Thecnology, Cambridge, v. 12, p. 401-413, 2001.

SENAI – SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM INDUSTRIAL. **Relatório: Molho de tomate, extrato e catchup**. 2013.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. **Lycopene as an antioxidant agent**. Rev. Nutr. v.17, n.2, Campinas, 2004.

SHAMI, N. J. I.; MOREIRA, E. A. M. **Licopeno como agente antioxidante**. Rev. Nutr., v. 17, n. 2, p. 227-236, 2004.

SILVA, M. L. C. et al. **Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products**. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682. 2010.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. **Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents**. Am. J. Enol. Vitic., v. 16, p. 144-168, 1965.

SLIMESTAD, R.; FOSSEN, T.; VERHEUL, M. J. **The flavonoids of tomatoes**. J Agric Food Chem. 2008

SOBRINHO, T. J. S. P. et al. **Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonóides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel**. Revista brasileira de ciências farmacêuticas, v. 44, n. 4, 2008

STRATI, I. F.; OREOPOULOU, V. **Effect of extraction parameters on the carotenoid recovery from tomato waste**. International Journal of Food Science and Technology, v. 46, p. 23–29, 2011.

STRATI, I. F.; OREOPOULOU, V. **Recovery of carotenoids from tomato processing by-products – a review**. Food Research International, Athens, v. 65, p. 311–321, 2014.

- THOMSON, C.; BLOCH, A.; HASLER, C. M. **Position of the American Dietetic Association**, Orlando, v. 99, n. 10, p. 1280-1281, 1999.
- THOO, Y. Y. et al. **Optimal binary solvent extraction system for phenolic antioxidants from Mengkudu (*Morinda citrifolia*) fruit**. *Molecules*, v. 18, p. 7004-7022, 2013.
- TUNDO, P. ANASTAS, P. T. **Green chemistry: challenging perspectives**, New York: Oxford University Press, 269 p, 2000.
- VAJIC, U. J. et al. **Optimization of extraction of stinging nettle leaf phenolic compounds using response surface methodology**. *Industrial Crops and Products*, v. 74, p. 912-917, 2015.
- VALANDRO, F. et al. **Avaliação da liberação da rutina associada ao ultrassom contínuo**. *Ciência e Natura*, v. 37, n. 3, p. 678-683, 2015.
- VAN ACQUIRE, S. A. **Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids**. *Free Radic Biol Med.*, v. 20, n. 3, p. 331-342, 1996.
- VIZZOTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 16 p. 2010.
- WORD PROCESSING TOMATO COUNCIL - WPTC. **Banco de dados**. Montex: WPTC. Disponível em: <www.wptc.to>. Acesso em: jan. 2017.
- XIE, Z. et al. **Extraction and isolation of flavonoid glycosides from Flos Sophorae Immaturus using ultrasonic-assisted extraction followed by high-speed countercurrent chromatography**. *Journal of Separation Science*, v.37, p. 957-965, 2014.
- ZULUETA, A.; ESTEVE, M. J.; FRÍGOLA, A. **ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products**. *Food Chemistry*, v. 114, n. 1, p. 310-316, 2009.