



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIENCIA E TECNOLOGIA DO PIAUI.
CAMPUS TERESINA ZONA SUL
CURSO DE TECNOLOGIA EM GASTRONOMIA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, POLIFENÓIS E ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE NOS FRUTOS DE BIRIBIRI (*Averrhoa bilimbi* L.)**

EDIVÂNIO NUNES PESSOA

TERESINA-PI

2017

EDIVÂNIO NUNES PESSOA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, POLIFENÓIS E ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE NOS FRUTOS DE BIRIBIRI (*Averrhoa bilimbi* L.)**

Monografia de Conclusão do Curso de
Tecnologia em Gastronomia do Instituto
Federal de Educação, Ciência e Tecnologia
do Piauí – IFPI, *Campus* Teresina Zona
Sul, para obtenção do título de Tecnólogo
em Gastronomia.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro de Lima

Co-Orientador: Me. Jurandy do Nascimento
Silva.

TERESINA-PI

2017

EDIVÂNIO NUNES PESSOA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, POLIFENÓIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NOS FRUTOS DE BIRIBIRI (*A.bilimbi* L.)

Monografia de conclusão do curso de Tecnologia em Gastronomia do Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Piauí- IFPI *Campus* Teresina Zona Sul, como requisito para obtenção do título de Tecnóloga em Gastronomia.

Monografia aprovada em 27/07/2017

Banca examinadora:

Orientador e Presidente da Banca: Prof. DrºAlessandro de Lima
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí - IFPI.

Co-orientador: Me. Jurandy do Nascimento Silva
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI.

Membro da Banca: Profª. Me. Juliany Sales Ramos
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí - IFPI.

Membro da Banca: Prof Fhanuel Silva Andrade
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí - IFPI.

Dedico esta conquista a minha família, especialmente aos meus Pais Lourival Nunes Pessoa e Jacira Dina Pessoa (*in memorium*), aos meus irmãos que sempre estiveram ao meu lado, aos meus sobrinhos que muita força e incentivos repassaram a mim. Amo vocês de paixão.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por tudo que tens feito em minha vida, pela força para enfrentar as dificuldades ao longo da vida e mostra que sim somos capazes de vencer e recomeçar. Agradeço aos meus pais Lourival Nunes Pessoa e Jacira Dina Pessoa (*in memorium*), aos meus irmãos (Edinaldo, Edileuza, Edilene, Antonio, Erisvanio, Erislene), aos meus sobrinhos (Jarbas e Francinaldo) pela convivência do dia a dia, a minha tia Maria Nunes e as minhas cunhadas que me acolheram no início de tudo e sempre estiveram comigo Marcia Regina e Maria Francisca, a todos vocês que sempre me apoiaram e me deram força para seguir em frente muito obrigado.

Meu orientador Professor Drº. Alessandro de Lima, uma pessoa admirável, sábia, humilde e compreensivo. Obrigado pelos ensinamentos no curso superior. Sou muito grato e honrado em tê-lo como meu Orientador.

Ao meu amigo e co-orientador Me. Jurandy do Nascimento Silva pelas importantes orientações e ajudas durante a pesquisa, aprendi muito com você. Obrigado pela oportunidade dada a mim no laboratório de alimentos foi muito válida e importante, obrigado pela confiança, paciência e compreensão ao longo do projeto PIBIC e do TCC.

A todos os professores do curso de Tecnologia em Gastronomia, pela atenção e incentivo, em especial as minhas amadas professoras Marília Marques, Ana Maria, Jeanne Leite.

Aos meus colegas de turma, em especial as minhas amigas Maria do Rosário, Myrella Pereira, Maria Gomes, Diana Moita, Ana Livia pelo companheirismo, ajuda e cumplicidade no decorrer dessa caminhada acadêmica.

Às amigas Viviane Borges e Raquel Ducarmo, pela força e incentivo nos momentos bons e ruins, pelas dicas, conselhos e conversas agradáveis. Muito obrigado.

Enfim a todos que de alguma forma, contribuíram para a minha formação e para a realização deste trabalho, minha sincera gratidão.

RESUMO:

O fruto do biribiri (*Averrhoa bilimbi* L), apesar de suas características nutricionais, biotivas e tecnológicas, ainda não é plantado de forma comercial e explorado industrialmente no Brasil. Dessa forma o presente estudo objetivou estudar as propriedades físico-químicas e bioativas do biribiri produzido no estado do Piauí. Para tanto foram analisados quanto ao teor de umidade, cinzas, acidez, pH, Brix%, vitamina C, Fenólicos totais e atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS. Identificou-se que esses frutos são ricos em água (95.4%), vitamina C (72,9 mg/100g), muito ácido (pH = 1,42), Polifenóis variando de 50 a 55 mg/100g e expressiva atividade antioxidante pelos dois métodos testados. Demonstrando que esses frutos apresentam potencial tecnológico para desenvolvimento de produtos ácidos e apresentaram significativo teor de compostos bioativos.

ABSTRACT

The biribiri (*Averrhoa bilimbi*) fruit, despite its nutritional, biotaive and technological characteristics, is not yet commercially planted and industrially exploited in Brazil. Therefore, the present study aimed to study the physicochemical and bioactive properties of biribiri. The results were analyzed for moisture, ash, acidity, pH, Brix%, vitamin C, total phenolics and antioxidant activity by the DPPH and ABTS methods. 95.4%), vitamin C (72.9 mg / 100g), very acidic (pH = 1.42), polyphenols ranging from 50 to 55 mg / 100g and expressive antioxidant activity by the two methods tested, demonstrating that these fruits have technological potential For the development of acid products and presented a significant content of bioactive compounds.

Sumário

1.INTRODUÇÃO	10
2. PROBLEMA	12
3.OBJETIVOS	13
3.1 OBJETIVO GERAL	13
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICO.....	13
4. REFERENCIAL TEÓRICO	14
4.1 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM ALIMENTOS	14
4.2 Árvore e Fruto do Biribiri.....	15
4.3 Utilização do biribiri na alimentação	17
5. MATERIAL E MÉTODOS	18
5.1 Coleta dos frutos	18
5.2 Caracterização físico-química	18
5.2.1 Peso médio e biometria do fruto.....	18
5.2.2 pH.....	18
5.2.3 Sólidos solúveis totais (SST).....	19
5.2.4 Acidez total titulável (ATT).....	20
5.2.5 Relação entre Sólidos Solúveis Totais e Acidez – “ratio” (STT/ATT)	20
5.2.6 Umidade	21
5.2.7 Resíduo Mineral Fixo (Cinzas)	22
5.2.8 Ácido ascórbico (vitamina C).....	22
5.2.9 Determinação da Atividade Antioxidante pelo método ABTS.....	23
5.2.10 Determinação da Atividade Antioxidante pelo método DPPH	24
5.2.11 Determinação dos fenólicos totais (polifenóis)	25
5.2.12 Análises estatísticas	26
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
7. CONCLUSÕES	32
8.REFERÊNCIAS.....	33

1.INTRODUÇÃO

A família Oxalidácea compreende seis gêneros e cerca de 950 espécies, distribuídas largamente pelo mundo, em áreas tropicais e em regiões mais frias (LOURTEIG, 1983 e MAIDANA et al., 2005). São plantas representadas por arbustos ou ervas, com folhas alternas, aparentemente basais, com ou sem estipulas. As inflorescências são axilares ou caulifloras, bífidas ou cimos umbelifloras, raramente flores solitárias. As flores são actinomorfas e hermafroditas. O fruto pode apresentar-se como cápsula com cinco lóbulos, cuja deiscência é loculicida, ou baga carnosa indeiscente. O cálice é persistente. Na família se destacam o gênero *Oxalis* por apresentar espécies exóticas com importância ornamental e comestível; e o gênero *Averrhoa*, por suas espécies com frutos comestíveis (LOURTEIG, 1983; MAIDANA et al., 2005).

O gênero *Averrhoa* abrange apenas duas espécies, *A. carambola* e *A. bilimbi*, que são bastante distribuídas e cultivadas nas regiões tropicais. Morfologicamente, tais espécies são descritas como árvores, com folhas imparipenadas e frutos carnosos, do tipo baga, indeiscentes. Segundo Xavier et al.(2001), o gênero *Averrhoa* é caracterizado quimicamente pela presença de C-glicosilflavonoides. Ambas as espécies presentes no gênero se destacam por suas propriedades medicinais. A *A. bilimbi* L. apresenta propriedades hipoglicemiantes, antiperoxidativa de lipídeos, antiteratogênica e antilipídicas, quando avaliada em ratos diabéticos (PUSHPARAJ et al., 2000).

A. bilimbi L., é uma espécie frutífera pertencente à família Oxalidaceae, popularmente conhecido como biribiri, bilimbi, limão-japonês, limão-de-caiena e caramboleira amarela (Lima et al.,2001).

O biribiri apresenta origem incerta, podendo ter se originado na Índia ou Malásia provavelmente se dispersando da Índia para outros países como o Brasil (Corrêa, 1978; Wiersema e León, 1999). No Brasil, esta espécie é cultivada nos Estados do Rio de Janeiro, Amazonas, Pará e Santa Catarina, com a distribuição e comercialização dos frutos restrita (Lima et al.,2001), mas pode-se encontrar em vários Estados do Brasil, cultivadas nos quintais de residências de forma isolada, em especial no Maranhão e Piauí.

O cultivo é feito através de sementes ou enxertias, preferencialmente em regiões de clima tropical e subtropical, desenvolvendo-se melhor em locais com temperatura média de 25 graus centígrados e pluviosidade acima de 1.000 mm.

O biribiri apresenta importância econômica na utilização da madeira e também é cultivado visando à obtenção das frutas, que contêm elevada acidez e, quando verdes, são utilizadas na produção de vinagre e conservas.

Além do seu uso medicinal, o suco do biribiri pode ser usado ainda na remoção de manchas de ferrugem de roupas (CORRÊA 1926; 1978; JOSEPH et al., 1989; LENOX et al., 1990; WONG e WONG, 1995; WIERSEMAN et al., 1990). Várias pesquisas no mundo têm estudado o biribiri, entretanto, a composição química de frutos, cultivados em diferentes regiões, pode variar pela interferência de determinados fatores, como: genéticos, solo, localização, estação do ano e estágio de maturação (LIMA et al., 2001). Tendo em vista essas considerações esse estudo se propõe a estudar as características físico-químicas e bioativas, especialmente dos polifenóis e sua atividade antioxidante, do fruto do biribiri produzidos no estado do Piauí.

2. PROBLEMA

Segundo dados da organização mundial da saúde (OMS), as doenças crônicas, como o câncer e as doenças cardiovasculares figuram como as principais causas de morte entre os seres humanos na atualidade. Essas doenças estão associadas, entre outros fatores ao estresse oxidativo prolongado, ou seja, ao excesso de radicais livres circulando em seus organismos que levam a lesão de várias biomoléculas como fosfolípidos de membranas, proteínas e o próprio DNA. Essas lesões são provocadas pelos radicais livres gerados nas reações metabólicas internas. Entre os principais compostos que combatem esses radicais livres estão os compostos fenólicos presentes principalmente em vegetais, especialmente frutos, produzidos em regiões de alta insolação. Dessa forma estudos que visam caracterizar alimentos como fontes de compostos polifenóis se traduzem em uma alternativa na redução do risco de desenvolvimento de tais patologias.

3.OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Estudar as propriedades físico-químicas e bioativas do biribiri (*Averrhoa bilimbi*) produzidos no estado do Piauí.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar as características físico-químicas do fruto do biribiri;

Quantificar os compostos bioativos do biribiri (polifenóis totais e vitamina C);

Avaliar a capacidade antioxidante do biribiri pelos métodos ABTS e DPPH.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 ATIVIDADES ANTIOXIDANTES EM ALIMENTOS

Pesquisas envolvendo compostos antioxidantes oriundos de fontes naturais têm sido desenvolvidas em diferentes centros de estudos, devido a sua importância na prevenção do desencadeamento das reações oxidativas, tanto nos alimentos como no organismo animal. Os antioxidantes podem agir retardando ou prevenindo a oxidação do substrato envolvido nos processos oxidativos, impedindo a formação de radicais livres (HALLIWEL, 1995).

No século passado, a partir dos anos 80, deu-se início às pesquisas com antioxidantes naturais, visando à substituição total ou parcial dos antioxidantes sintéticos, aos quais se atribuem efeitos deletérios ao organismo animal, quando utilizados em doses elevadas. Além dos possíveis riscos que o uso irregular e/ou indiscriminado dos antioxidantes sintéticos pode acarretar ao homem, soma-se a rejeição generalizada dos aditivos alimentares sintéticos. Ênfase tem sido dada à identificação e purificação de novos compostos com atividade antioxidante, oriundos de fontes naturais, que possam agir sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como uma forma de prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e restringir a utilização dos antioxidantes sintéticos (SHAHIDI et al., 2007).

Dentre os métodos para avaliar a atividade antioxidante tem-se o método do radical DPPH° (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) que é um radical livre estável, devido a um elétron desemparelhado que também previne sua dimerização, fenômeno observado com outros radicais livres. O teste fotométrico de atividade antioxidante baseia-se no sequestro do radical DPPH° (MOLYNEUX, 2004).

Alguns estudos mostram que esse teste é bastante utilizado, como o estudo reportado por Melo et al. (2008) em extrato aquoso de caju, goiaba e da acerola, cujos frutos exibiram forte capacidade de sequestro do radical DPPH°, superior a 90%. No entanto, Melo et al.(2006) relataram que, em frutos de umbuzeiro (*Spondias tuberosa Arruda*), os extratos hidrometanólicos das polpas dos frutos maduros e semimaduros exibiram fraca capacidade antioxidante, uma vez que o

percentual de sequestro foi inferior a 60% durante todo o tempo da reação. Dentre as hortaliças com menor ação antioxidante, destacaram-se o chuchu, pepino e a cenoura, com o menor percentual de inibição. Estes autores evidenciaram que a maior ação antioxidante foi exibida pelo extrato etanólico do espinafre, seguido pelo da cebola roxa, couve-flor, cebola branca, tomate, repolho verde e cenoura. Martinez-Valverde et al. (2000) relataram que o extrato etanólico do tomate exibiu uma baixa eficiência em sequestrar o radical DPPH°.

Segundo Melo et al.(2006), a capacidade do potencial antioxidante varia de vegetal para vegetal. Alguns possuem compostos bioativos que apresentam uma potente ação antioxidante, exibindo a maior atividade e a mais elevada capacidade de sequestrar o radical DPPH°; outros têm mais eficácia em sequestrar o radical livre, cujo percentual de inibição, aos 15 min da reação, foi superior a 70%. Com exceção de outros, com ação antioxidante moderada por ter atingido 60-70% de inibição, após os 15 min da reação ou com inibição inferior a 60%, exibiram uma fraca capacidade em sequestrar o radical DPPH°.

Frutas e outros vegetais contêm substâncias antioxidantes distintas, cujas atividades têm sido bem comprovadas nos últimos anos. A presença de compostos fenólicos, tais como flavonoides, ácidos fenólicos, antocianinas, além dos já conhecidos: vitaminas C, E e carotenoides, contribuem para os efeitos benéficos destes alimentos. Somando-se a isto, estudos têm demonstrado que polifenóis naturais possuem efeitos significativos na redução do câncer, e evidências epidemiológicas demonstram correlação inversa entre doenças cardiovasculares e consumo de alimentos, fonte de substâncias fenólicas, possivelmente por suas propriedades antioxidantes (KARAKAYA, 2004).

4.2 Árvore e Fruto do Biribiri.

A árvore do biribiri é pequena, podendo variar entre 5 e 9m (figura 1) chegando até 15m de altura, com frutos tipo baga, cilíndricos apresentando cinco lóbulos longitudinais, mudando de coloração de verde a amarelada, com aumento máximo do peso e das dimensões das frutas durante este estágio (MATHEW et al.,1993; LIMA et al.,2001).

Na verdade, os frutos são bagas elipsóides, de cinco a oito centímetros de comprimento e de dois a quatro centímetros de diâmetro (Figura 01). Nasceram agrupados no tronco e ramos lenhosos da planta, com aproximadamente dez sementes de cor marrom e polpa verde-clara. Frutos verdes contêm um alto teor de ácido oxálico (SOUZA et al., 2011)

Souza et al (2011) detectaram que os frutos do biribiri contêm altas concentrações de vitamina C e ácido oxálico, portanto sendo um alimento de considerável valor nutricional.

Figura 01. Árvore do Biribiri, extraído de <https://www.panoramio.com/photo/66577504>



Bnouham et al. (2006) demonstraram que o extrato etanólico de folhas de biribiri tem ação antidiabética, contribuindo para redução da taxa de glicose, bem como o teor de triglicerídeos no sangue em 130%. O suco do fruto é antiescorbútico com alto teor de ácido oxálico e ascórbico, participando este de diversos processos metabólicos, dentre eles a formação de colágeno e síntese de epinefrina, corticosteroides e ácidos biliares, além de cofator enzimático, participando de

processos de óxido-redução, aumentando a absorção de ferro e a inativação de radicais livres (PADH, 1991). Este mesmo autor afirma que a vitamina C é essencial para o ser humano, agindo como antioxidante varredor de radicais livres e nutre as células, protegendo-as de danos causados pelos antioxidantes. Os indivíduos que não ingerem esta vitamina o suficiente, desenvolvem o escorbuto que causa fadiga, sangramento e má cicatrização.

4.3 Utilização do biribiri na alimentação

Apesar de não ser considerado fruto comercial, o biribiri é bastante utilizado para a confecção de conservas, molhos, geleias, doces, sucos, vinhos, compotas, licores, vinagre, além de substituir o limão no tempero de carnes e peixes, é também bastante utilizado na culinária hindu. Essa sua versatilidade para o preparo desses alimentos é decorrente de sua elevada acidez, constituído principalmente pelo ácido oxálico, que facilita a formação do gel no caso de geleias e a elaboração de vinagres (LIMA et al; 2001).

Quando maduros podem ser consumidas *in natura*. Apresenta importância econômica na utilização da madeira, e também é cultivada visando à obtenção de frutos, que contem elevada acidez e altos teores de Vitamina C.

Na cultura popular é usado como removedor de manchas e ferrugens e também utilizado com fins medicinais, servindo como base para xaropes e bebidas fermentadas, por sua característica antiescorbútica e no combate a febre, bem como no tratamento de afecções cutâneas. Estudos têm comprovado outros benefícios dessa fruta na medicina, onde um trabalho desenvolvido com ratos mostrou que o extrato etanólico do biribiri possui propriedades hipoglicêmicas, hipotrigliceridêmica, anti-peroxidativa lipídica e anti-aterogênica em ratos diabéticos, tendo efeito similar a outros medicamentos já utilizados para tratamento da Diabetes mellitus. Lembrando que o uso em pacientes com problemas renal aguda não é recomendado (BNOUHAM et al. 2006).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Coleta dos frutos

Os frutos de *A.bilimbi* L.(Biribiri) foram coletados diretamente da copa da planta, na localidade Santa Tereza na chácara Madecota, município de Teresina-Pi, durante os meses de Janeiro e Fevereiro de 2017. Em seguida foram armazenados em caixas de isopor forrado com papel e transportados para as análises físicas, químicas, compostos bioativos. Após lavagem em água clorada (50 ppm), os frutos foram triturados, sem acréscimo de água, com casca para a obtenção do suco para as análises que foram realizadas no Laboratório de Análises Alimentos do Instituto de Educação Ciência e Tecnologia do Piauí *Campus* Zona Sul, Teresina – PI.

5.2 Caracterização físico-química

5.2.1 Peso médio e biometria do fruto

Para a mensuração do peso e determinação das medidas (comprimento, largura e espessura), foram utilizadas cerca de 60 unidades do fruto *in natura*, utilizando-se balança analítica marca Shimadzu, modelo AY 220 e paquímetro digital marca Shinwa modelo 19975. O peso médio dos frutos foi determinado utilizando a formula abaixo:

$$\text{Peso médio} = \frac{\text{soma do peso dos frutos}}{\text{n}^{\circ} \text{ total de frutos pesados}}$$

5.2.2 pH

O Potencial Hidrogeniônico (pH) consiste num índice que indica a acidez, neutralidade ou alcalinidade de um meio qualquer. As substâncias, em geral, podem ser caracterizadas pelo seu valor de pH , sendo que este é determinado pela

concentração de íons de Hidrogênio (H^+). Quanto menor o pH de uma substância, maior a concentração de íons H^+ e menor a concentração de íons OH^- . Os valores de pH variam de 0 a 14 e podem ser medidos através de um aparelho chamado pHmetro, com maior precisão (ALVES, 2013).

Para determinação do potencial hidrogeniônico (pH) seguiu-se a metodologia descrita por IAL (2008). Pesaram-se 10 g do fruto e adicionou-se 100 mL de água destilada em temperatura ambiente (25°C). Homogeneizou-se por 30 minutos em agitador magnético e após 10 minutos de repouso, foi realizada a leitura do pH no sobrenadante. Foi utilizado potenciômetro de bancada marca: TECNOPOM, modelo: mPA210 previamente calibrado.

5.2.3 Sólidos solúveis totais (SST)

Os sólidos solúveis são constituídos por compostos solúveis em água, que representam substâncias, tais como açúcares, ácidos, vitamina C e algumas pectinas. Medidos em refratômetro, são utilizados como indicador dos açúcares totais em frutos, indicando o grau de maturidade. Essa influência da variação dos teores de açúcar é devido a alguns fatores climáticos: quantidade de chuva, variedade do solo etc.; além de considerar que, durante o processamento, alguns produtores adicionam água para facilitar o processamento, levando a condições de abaixamento do teor de sólidos solúveis no produto final (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Os sólidos solúveis são compostos de todos os constituintes da fruta que estão dissolvidos na porção de água do suco (TING, 1983). Os teores de SST foram determinados por meio de leitura direta utilizando um refratômetro portátil marca: DIGIT, previamente calibrado e valores corrigidos a 20 °C. Adicionaram-se gotas da amostra no prisma do aparelho e realizou-se as leituras. Os resultados foram expressos em °Brix (IAL, 2008).

5.2.4 Acidez total titulável (ATT)

Altos teores de ácidos em produtos alimentícios revelam uma característica importante no que diz respeito ao processamento, pois é interessante que os frutos tenham elevada acidez, visto que isso diminui a adição de acidificantes. Do ponto de vista industrial, o elevado teor de acidez titulável diminui a necessidade de acrescentar acidificantes. O teor de ácidos influi no, "flavour" dos sucos, tornando-os mais ou menos aceitos, a depender do tipo de consumidor. Em geral, para o consumo *in natura*, os brasileiros preferem frutos menos ácidos, o que não ocorre para frutos que se destinam ao mercado externo e para a industrialização (CORRÊA et al., 2008).

A acidez total titulável foi determinada utilizando a técnica colorimétrica de titulação. Pesaram-se 2,5 g de amostra, diluíram-se em 25 mL de água destilada, adicionaram-se 3 gotas de solução de fenolftaleína e titulou-se com solução de NaOH 0,1 N, sob agitação constante, até mudança de coloração para levemente rosado persistente por 30 segundos. O teor da acidez foi calculado, conforme **Equação 2**, e os resultados expressos em % ácido cítrico (IAL,2008).

Equação 2:
$$ATT = \frac{V \times f \times N \times PM}{10 \times P \times n}$$

ATT = acidez total titulável

V= volume em mL da solução de NaOH gasto na titulação

f = fator de correção da solução de NaOH

N = normalidade da solução de NaOH

PM = peso molecular do ácido correspondente em g (PM ácido cítrico = 192 g)

P = peso da amostra em g

n = número de hidrogênios ionizáveis (n ácido cítrico = 3)

5.2.5 Relação entre Sólidos Solúveis Totais e Acidez – “ratio” (STT/ATT)

Existe uma empírica relação encontrada pela divisão do °Brix pela percentagem de acidez titulável. Esta relação é mais conhecida entre os técnicos como “ratio”. O “ratio” pode ser utilizado como um teste de maturação, porque os sólidos solúveis totais (açúcares) aumentam e os ácidos diminuem, durante o

crescimento e maturação dos frutos (BARTHOLOMEW & SINCLAIR, 1943). Para determinação do "ratio" seguiu-se o proposto por Ting (1983) o qual afirma que, é o melhor índice de maturação disponível, pois é de fácil determinação e se aproxima do grau de maturação real.

5.2.6 Umidade

Todos os alimentos, qualquer que seja o método de industrialização a que tenham sido submetidos, contem água em maior ou menor proporção. Geralmente a umidade representa a água contida no alimento, que pode ser classificada em umidade de superfície, que refere-se a água livre ou presente na superfície externa do alimento facilmente evaporada e umidade adsorvida, referente a água ligada, encontrada no interior do alimento, sem combinar-se quimicamente com o mesmo (IAL, 2008).

A determinação de umidade é umas das medidas mais importantes utilizadas na análise de alimentos. A umidade de um alimento esta relacionada com a sua estabilidade, qualidade e composição, e pode afetar os seguintes itens:

Estocagem: Alimentos com alta umidade irá deteriorar-se mais rapidamente que os que possuem baixa umidade. Como por exemplo, os grãos com umidade excessiva que estão sujeitos a rápida deterioração devido ao crescimento de fungos.

Embalagem: Alguns tipos de deterioração podem ocorrer em determinadas embalagens se o alimento apresentar umidade excessiva. Os vegetais e frutas podem sofrer rápido escurecimento em embalagens permeáveis a luz e ao oxigênio.

Processamento: A quantidade de água é importante no processamento de vários produtos como o trigo utilizado na fabricação de pães.

Para determinação da umidade, utilizou-se o método gravimétrico descrito pelo IAL (2008). Pesaram-se 3 g da amostra triturada e homogeneizada em cápsulas de porcelana previamente aquecidas a 105 °C e pesadas. Colocaram-se as cápsulas com as amostras em estufa a 105 °C por 3 horas, posteriormente foram retiradas da estufa e resfriadas em dessecador por 30 minutos, e em seguidas foram pesadas. O

procedimento foi repetido até peso constante. O teor de umidade (%) foi obtido pela

Equação 3:

Equação 3. $U (\%) = \frac{100 \times N}{P}$

U (%) = teor de umidade por cento

N = nº de gramas de umidade (perda de massa em g)

P = nº de gramas da amostra

5.2.7 Resíduo Mineral Fixo (Cinzas)

O resíduo mineral fixo foi obtido pelo método gravimétrico preconizado pelo IAL (2008). Foram pesados 4 g de amostra em cadinhos previamente secos em mufla a 550 °C e pesados. Os cadinhos com as amostras foram colocados em mufla a 250 °C por 4 horas para carbonização da amostra, posteriormente a temperatura da mufla foi aumentada a 550 °C, gradativamente, até incineração completa da amostra. Em seguida, os cadinhos foram resfriados em dessecador por 30 minutos e pesados. O procedimento foi repetido até peso constante. O teor de cinzas foi obtido pela **Equação 4:**

Equação 4. $C (\%) = \frac{100 \times N}{P}$

C(%) = teor de cinzas por cento

N = nº de gramas de cinzas

P = nº de gramas da amostra

5.2.8 Ácido ascórbico (vitamina C)

Controla a produção de substâncias do cimento intercelular, impedindo o vazamento de sangue dos capilares, o sangramento subcutâneo, a fraqueza muscular e a formação de gengivas esponjosas que levariam à perda dos dentes. Portanto, a integridade das estruturas celulares depende da vitamina C, que, além disso, estimula a cicatrização e a consolidação de fraturas, reduzindo a tendência a infecções. Bioativo importante, e que existe um grupo de seres vivos que não são

capazes de sintetizar é a Vitamina C, fazendo-se necessário o consumo de uma concentração adequada, que tem as principais fontes as frutas cítricas e hortaliças. O ácido ascórbico é uma vitamina que se degrada facilmente, estável apenas em meio ácido, na ausência de luz, oxigênio e calor, sendo que os fatores que favorecem a sua degradação são os meios alcalinos, oxigênio, calor, ação da luz, metais e a enzima oxidase do ácido ascórbico. Uma doença típica causada pela carência de vitamina C é o *escorbuto*, cujos principais sintomas são o aumento do tamanho das articulações; diminuição da excreção urinária; a concentração do plasma, dos tecidos e dos leucócitos; debilidade; anemia; diminuição do apetite e do crescimento; frouxidão nos dentes; inflamação de gengivas e articulações; dificuldade respiratória; hemorragias subcutâneas e dores durante a realização de movimentos corporais. O conteúdo de vitamina C na maioria das frutas tende a diminuir durante o processo de maturação (HALIWEL, 1995).

O teor de ácido ascórbico (vitamina C) foi determinado pelo método de Tillmans, que se baseia na redução do sal sódico 2,6-diclorofenol indofenol (DCFI) pelo ácido ascórbico (IAL, 2008). Inicialmente, realizou-se a análise da solução padrão de ácido ascórbico (concentração de 1mg/mL) pipetando-se 10mL em um *erlenmeyer* contendo 50 mL da solução de ácido oxálico a 1%, em seguida a solução final foi titulada com a solução DCFI a 0,2% até coloração rosa persistente durante 15 segundos. Posteriormente, foi realizado o mesmo procedimento, substituindo a solução de ácido ascórbico pela amostra analisada. Para quantificar o teor de ácido ascórbico nas amostras utilizou-se a **Equação 5**:

$$\text{Equação 5: ácido ascórbico mg/100g} = \frac{V \times F \times 100}{A}$$

Onde:

V= volume da solução de Tillmans gasto na titulação

F= fator de correção da solução de Tillmans

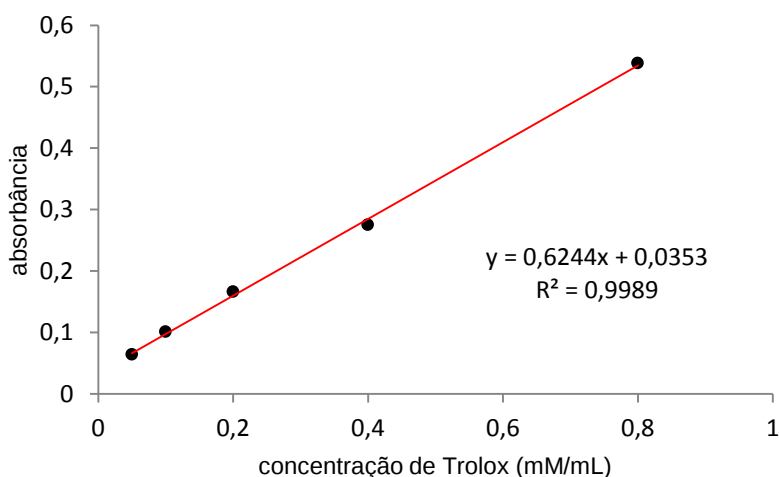
A= mL da amostra utilizada

5.2.9 Determinação da Atividade Antioxidante pelo método ABTS

O radical ABTS^{•+} foi gerado a partir da reação de 7 mM de ABTS com 2,45 mM de persulfato de potássio, sendo reservados à temperatura ambiente e na ausência

de luz, por 12-16 horas. Transcorrido esse período, a solução foi diluída em etanol PA até obter-se uma solução com absorvância de 0,70 ($\pm 0,01$). Adicionou-se 40 μL das amostras diluídas (em etanol) a 1960 μL da solução contendo o radical, determinando-se a absorvância em espectrofotômetro a 734 nm, após 30 minutos de reação (RE et al., 1999, adaptado por LIMA, 2008). Como solução padrão, usou-se o antioxidante sintético trolox para construção de uma curva de calibração (**Figura 2**). Todas as leituras foram realizadas em triplicata, e os resultados foram expressos em TEAC – capacidade antioxidante equivalente ao trolox (μM de trolox por grama de amostra).

Figura 2. Curva de calibração-resposta de inibição dos radical ABTS^{++} frente ao padrão trolox.



5.2.10 Determinação da Atividade Antioxidante pelo método DPPH

Para realização das análises, adicionou-se 1,5 mL da solução etanólica do radical $\text{DPPH}^{\bullet}$ ($6 \times 10^{-5} \text{M}$) e uma alíquota de 0,5 mL das amostras contendo diferentes concentrações de cada extrato. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 517 nm, após 30 minutos do início da reação. As determinações foram feitas em triplicata acompanhada de um controle (sem antioxidante). A queda na leitura da densidade ótica das amostras foi correlacionada com o controle (somente o radical), estabelecendo-se a porcentagem de descoloração do radical

DPPH^{*} conforme formula a seguir (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; VIEIRA et al., 2011).

$$\text{Equação 6: \% de inibição do radical DPPH}^* = \frac{\text{Abs}(\text{controle}) - \text{Abs}(\text{branco})}{\text{Abs}(\text{controle})} \times 100$$

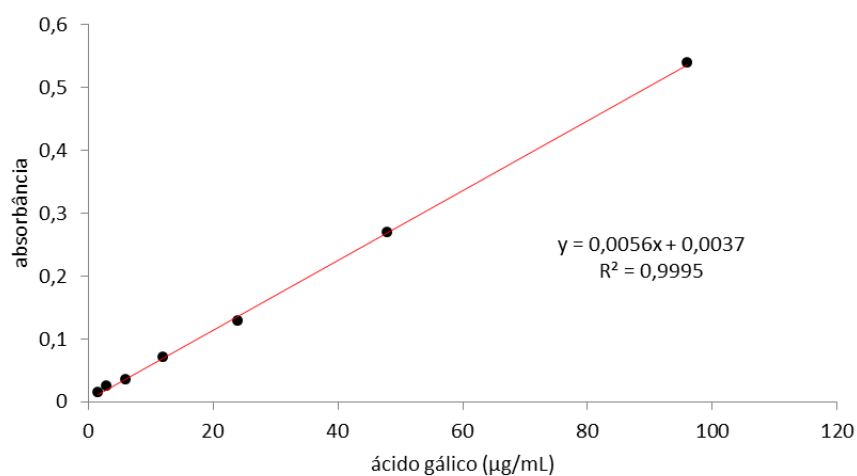
Abs - absorbância

Além do porcentual de proteção também foi calculada, a concentração eficaz para inibir 50% do radical (CE₅₀).

5.2.11 Determinação dos fenólicos totais (polifenóis)

A determinação do teor de fenólicos totais seguiu a metodologia descrita por Swain e Hills (1959). As amostras foram solubilizadas em água destilada com auxílio de 5% de DMSO em concentrações de 250 µg/mL. Das soluções preparadas foram retirados 0,5mL e transferidos para tubos de ensaio, adicionado 8mL de água destilada e 0,5mL do reagente *Folin Ciocalteu* 20% (v:v). Em seguida, a solução foi homogeneizada em agitador tipo vortex, após 3 minutos, acrescido 1mL de solução de carbonato de sódio (Na₂CO₃) a 20% (m:v) e após 1h em banho maria a 37°C foram realizadas as leituras das densidades óticas em espectrofotômetro à 720 nm. Utilizou-se como padrão de referência o ácido gálico marca Sigma, nas concentrações de 1,5; 3,0; 6,0; 12,0; 24,0; 48,0 e 96,0 µg/mL para construção da curva de calibração (**Figura 3**). A partir da equação da reta obtida na curva de calibração, realizou-se o cálculo do teor de fenólicos totais, expresso em EAG (equivalente ao ácido gálico /mg de extrato seco). Todas as análises foram realizadas em triplicata e acompanhada do controle catequina marca Sigma.

Figura 3. Curva de calibração do padrão de referencia ácido gálico.



5.2.12 Análises estatísticas

Todos os testes foram realizados em triplicata (n=3) e os resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão da média (D.P.M.). Utilizando-se o programa GraphPad Prism[®], versão 6.0, foram realizadas análises de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Tukey para múltiplas comparações das médias. Adotou-se o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da biometria dos frutos de biribiri encontram-se na **tabela 01**, comparando os resultados obtidos neste estudo com os de Araújo et al (2009) percebe-se que ocorreu uma variação nos parâmetros avaliados, pois esses autores encontraram um peso médio de 25,3g para o peso, 62,2 mm para comprimento, valores distintos ao encontrado neste estudo. Essa variação é considerada normal, pois ainda não existe uma padronização quanto às técnicas de cultivo e período de colheita desse fruto.

Tabela 1. Biometria de frutos de biribiri, Teresina, 2017.

Peso (g)	Comprimento (mm)	Diametro (mm)
30,29± 3,5	77,43± 4,1	28,68± 2,2

*Os resultados estão apresentados com média. $\pm$ - Desvio padrão da média, n=60.

Na **tabela 2** constam os resultados da caracterização físico-química dos frutos avaliados, observa-se que são ricos em água (95,7%), vitamina C (77,92 mg/100g) e altamente ácidos com pH de 1,42. Comparando os resultados obtidos com os de Souza et al (2010) que encontraram uma umidade de 93,61%, um pH de 1,92 e vitamina C de 13,4 mg/100g, percebe-se valores semelhantes para os dois primeiros parâmetros avaliados e uma discrepância para os teores de Vitamina C. Já Araújo et al (2009) encontraram um pH de 1,15 e 58,8 mg/100g de vitamina C.

Esses resultados demonstram que o biribiri é uma fonte considerável de vitamina C, e rica em ácidos orgânicos, sendo indicada para uso no preparo de vinagres e geleias.

Tabela 2. Caracterização físico-química frutos de biribiri, Teresina, 2017.

pH	Umidade (%)	Cinzas (%)	STT (°BRIX)	ATT (ác. cítrico-g/100g)	ratio (STT/ATT)	Vitamina C (ac. Ascórbico - mg/100g)
1,42±0,3	95,47±0,1	0,26±0,0	3,86±0,2	1,14±0,4	3,40±0,1	72,92±3,6

*Os resultados estão apresentados com média. ± - Desvio padrão da média, n=3.

Na **tabela 3** tem-se a atividade antioxidante dos extratos de biribiri. O extrato acetônico apresentou maior capacidade antioxidante (13,90 µmol de trolox/g), seguido do extrato etanólico (9,50 µmol de trolox/g). Esses valores são superiores aos de frutas como Jaca (0,63 ± 0,01 µmol de trolox/g), sapoti (0,99 ± 0,11 µmol de trolox/g) e abacaxi (3,78 ± 0,03 µmol de trolox/g) e menores que os de mangaba (10,84 ± 0,13 µmol de trolox/g), e o Murici (15,73 ± 0,01 µmol de trolox/g) (ALMEIDA et al., 2011).

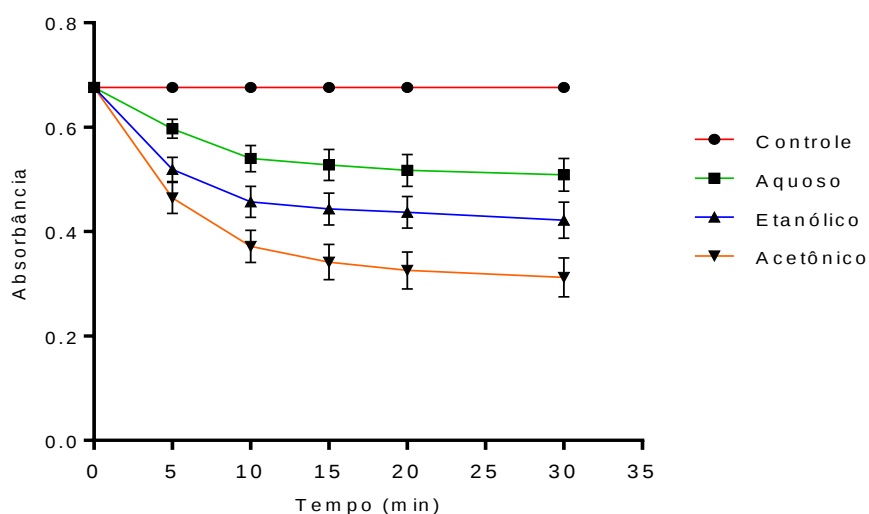
Tabela 3. Capacidade antioxidante equivalente ao trolox (µM de trolox por grama de amostra) TEAC– ABTS de extratos de fruto de biribiri, Teresina, 2017.

Extratos	µMol de trolox/g	IC 95%
Aquoso	6,03 ± 2,2 ^a	0,67 - 11,40
Etanólico	9,50 ± 2,2 ^{ab}	3,52 - 15,48
Acetônico	13,90 ± 2,6 ^b	7,46 - 20,32

Valores expressos em média ± desvio padrão

Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 4. Curva Cinética da inibição do radical livre ABTS^{•+} de extratos de biribiri.



Na **tabela 4** e **figura 4** consta a atividade antioxidante pelo método DPPH. Todos os extratos apresentaram atividade antioxidante, se destacando o extrato etanólico com melhor sequestro dos radicais livres de DPPH, com um IC 50 de 1705 μ M de trolox por grama de amostra. Entretanto quando comparado com os padrões comerciais de vitamina C e trolox esse resultados estão bem acima dos padrões de antioxidantes.

Tabela 4. Capacidade antioxidante equivalente ao trolox em CE₅₀ do radical DPPH^o em extratos de fruto de biribiri, Teresina, 2017.

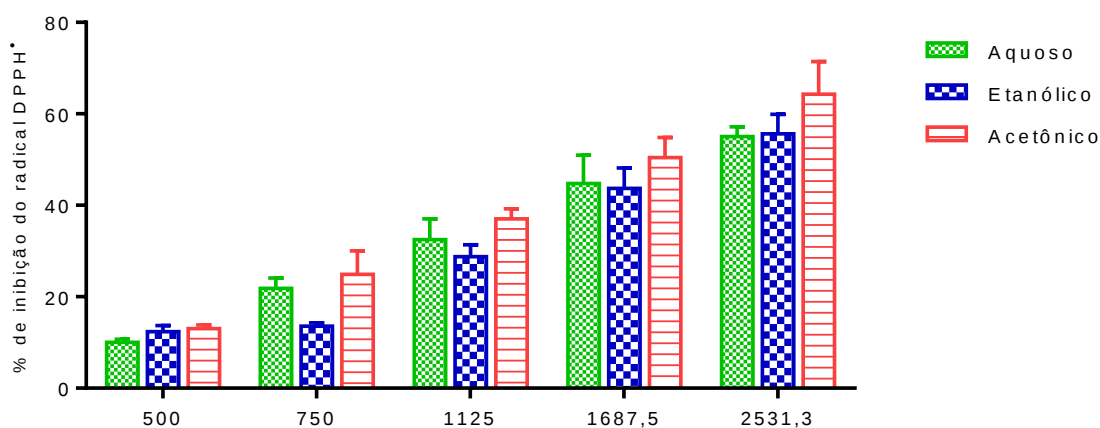
AMOSTRAS	CE ₅₀ μ g/mL $\pm$ DP	IC 95%
Aquoso	2186,9 $\pm$ 3,0 ^a	2160,1 - 2213,7
Etanólico	2100,2 $\pm$ 100,2 ^a	1199,2 - 3001,2
Acetônico	1705,4 $\pm$ 13,6	1583,2 - 1827,6
Trolox	14,92 $\pm$ 0,4	13,89 – 15,94
Acido Ascórbico	22,72 $\pm$ 0,1	22,39 – 23,04

Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão

Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p<0,05).

Na **figura 5** observa-se que a atividade antioxidante dos extratos se elevou com o aumento da concentração, os melhores resultados foram obtidos na concentração de 2.531mg/mL, os três extratos testados apresentaram uma proteção próximas a 60%. Figueredo (2014) encontrou para extrato aquoso de biribiri uma proteção de 80,73%, portanto superior aos deste trabalho.

Figura 5. Percentual de inibição do radical DPPH* após 30 minutos do início da reação



Na **tabela 5** e **figura 06** constata-se os teores de polifenóis no extratos estudados, os três extratos apresentaram valores próximos não havendo diferença estatística entre os três extratos testados e os valores variam de 50,26mg/100g para o extrato etanólico a 55,51 mg/100g para o extrato aquoso. Figueredo (2014) encontrou um teor de fenólicos totais para o extrato aquoso de 0,75 mg/100g, valores muito inferiores ao deste estudo. Não existe um método oficial para análise de polifenóis e dependendo dos solventes utilizados bem como do método a literatura descreve resultados bem distintos para um mesmo fruto.

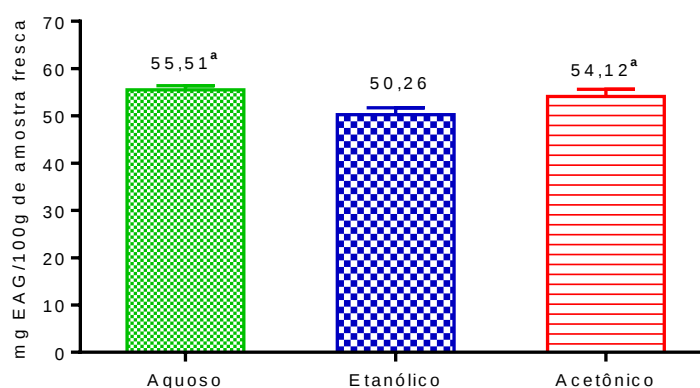
Tabela 5. Fenólicos totais em extratos de biribiri, Teresina, 2017.

Extratos	mg EAG/100g	IC 95%
Aquoso	55,51 ± 0,9 ^a	53,28 - 57,73
Etanólico	50,26 ± 1,5	46,62 - 53,91
Acetônico	54,12 ± 1,5 ^a	50,39 - 57,84

Valores expressos em média ± desvio padrão

Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Figura 06 Conteúdo de fenólicos totais em extratos de biribiri, Teresina, 2017.



Os resultados obtidos neste estudo demonstram que o biribiri é um fruto promissor por suas características físico-químicas e teor de compostos bioativos bem como pela sua expressiva atividade antioxidante, portanto, se constituindo em uma alternativa para elaboração de alimentos a partir deste fruto.

7. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, pode-se inferir que:

O fruto do biribiri é rico em água, muito ácido e rico em vitamina C;

Os extratos aquoso, etanólico, acetônico apresentaram expressivo teor de polifenóis totais o que refletiu em considerável atividade antioxidante pelos dois métodos testados;

Dentre os extratos testados, o extrato acetônico apresentou melhor capacidade em extrair os compostos bioativos, o que refletiu em sua maior capacidade antioxidante;

O biribiri apresenta potencial tecnológico para desenvolvimento de produtos ácidos como vinagres e geleias, além de agregar expressivo teor de compostos bioativos.

8.REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. M. B.; SOUSA, P. H. M.; ARRIAGA, A. M. C.; PRADO, G. M.; MAGALHÃES, C. E. C.; MAIA, G. A.; LEMOS, T.L.G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. Food Research International, v. 44, n. 7, p. 2155-2149, 2011.

ALVES, L. Jornal Brasil Escola. <http://www.brasilescola.com/quimica/conceito-ph.htm> Consulta em 05/03/2017.

ARAÚJO, E.L., et al. Caracterização físico-química de frutos de biribiri (*Averrhoa bilimbi* L.). Revista Biotemas, vol. 22, n. 4, 2009.

BARTHOLOMEW, E. T.; SINCLAIR, W. B.; Soluble constituents and buffer properties of orange juice. Plant Physiology, Rockville, v. 18, n. 2, p. 185- 206, 1943.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, v. 28, n. 1, p.25-30, 1995.

BNOUHAM, M.; ZIYYAT, A.; MEKHfi , H.; TAHRI, A.; LEGSSYER, A. 2006. Medicinal plants with potential antidiabetic activity – A review of ten years of herbal medicine research (1990-2000). International Journal of Diabetes & Metabolism, vol.14: p. 1-25.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. Lavras: UFLA, 2005. 785p.

CORRÊA, M.P. 1978. Dicionário das plantas úteis e das exóticas cultivadas. Vol. VI. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, 777p.

CORRÊA, G. de C.; NAVES, R. V.; ROCHA, M. R. da; CHAVES, J. R.; BORGES, J.D. Determinações físicas em frutos e sementes de baru (*Dipteryx alata* vog.), cajuzinho (*Anacardium othonianum* rizz.) e pequi (*Caryocar brasiliense* camb.), visando melhoramento genético. Bioscience Journal, v. 24, n. 4, p. 42-47, 2008.

CORRÊA, M.P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1926. v.1., 747p.

FIGUEREDO, B.G, CARACETRIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E COMPOSTOS BIATIVOS DE FRUTOS DO BIRIBIRI (*Averrhoa bilimbi* L). Dissertação – Mestrado Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2014. 56 fjs.

HALLIWEL, B. et al. The characterization of antioxidants. Food Chem. Toxicol., Oxford, v. 33, n. 7, p. 601-17, 1995.

IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4 ed. São Paulo: IAL, 2008. 1018p.

JOSEPH, J.; MENDONÇA, G. 1989. Oxalic acid content of carambola (*Averrhoa carambola* L.) and bilimbi (*Averrhoa bilimbi* L.). Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture, vol.33: p.117-120.

KARAKAYA, S. Bioavailability of Phenolic Compounds. Critical Rev. Food Sci. Nutr., Boca Raton, v. 44, n. 6, p. 453-64, 2004.

LIMA, V. L. A. G. de; MÉLO, E. de A.; LIMA, L. dos S. 2001. Physicochemical Characteristics of Bilimbi (*Averrhoa bilimbi* L.). Revista Brasileira de Fruticultura, vol.23 (2): p.421-423.

LIMA, A. Caracterização química, avaliação da atividade *in vitro* e *in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). (Tese Doutorado), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2008, 219p.

LENOX, A.; RAGOONATH, J. Carambola and bilimbi. Fruits, Pelotas, v. 45, n. 5, p. 497-501, 1990.

LOURTEING, A. 1983. Oxalidáceas. In: R. Reitz (ed.). Flora Ilustrada Catarinense, parte 1, fascículo Oxal. Itajaí, Santa Catarina.

MAIDANA, R. O, FERRUCCI, M. S., DEMATTEIS, M. Las especies de la familia Oxalidaceae del parque nacional de Mburucuyá. Trabajo presentado en las XVI Reunión de Comunicaciones Científicas y Técnicas y; VIII Reunión de Extensión FCAUNNE. Vol.8. 3-6 p.2005.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; ARAÚJO, C. R. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante de polpas congeladas de frutas. Alim. Nutr., Araraquara v.19, n.1, p. 67-72, jan./mar. 2008.

MELO, E. A. et al. Polyphenol, ascorbic acid and total carotenoid contents in common fruits and vegetables. Brazilian J. Food Technol., v. 9, n. 2, p. 89-94, 2006.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M.J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Arch. Latinoam. Nutr., Caracas, v.50, n.1, p.5-18, 2000.

MATHEW, L.; GEORGE, S. T.; BABYLATHA, A. K.; GEETHA, C. K. Flowering and fruit development in bilimbi (*Averrhoa bilimbi* L.). South Indian Horticulture, Coimbatore, v. 41, n. 1, p. 41-42, 1993.

PADH, H. 1991. Vitamin C: New insights into its biochemical functions. Nutrition Reviews, vol.49 (3): p.65-70.

PUSHPARAJ, P.N., TAN, C. H., TAN, B. K. Effects of *Averrhoa bilimbi* leaf extract on blood glucose and lipids in streptozotocin-diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology. Malaysia. Vol.72. p.69-76, 2000.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICEEVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, New York, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

SOUZA, LM, et al., CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO BIRIBIRI (*Averrhoa bilimbi* L), JEPEX, UFRPE, 2009.

SHAHIDI, F.; ALASALVAR, C.; LIYANA-PATHIRANA, C. M. Antioxidant Phytochemicals in Hazelnut Kernel (*Corylus avellana* L.) and Hazelnut Byproducts. *J. Agric. Food Chem.*, Washington, v. 55, n. 4, p. 1212-20, 2007.

SOUZA, R. M. Compostos bioativos e atividade antioxidante (in vitro) de frutos do cerrado piauiense. 2011. 93 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.

SWAIN, T.; HILLS, W. E. The phenolic constituents of *Punus domestica*. I-quantitative analysis of phenolics constituents. *Journal of the science of food and agriculture*, v. 19, p.63-68, 1959.

TING, S. V. Citrus fruits In: CHA, H. T. J. Handbook of tropical foods. New York:Marcel Dekker, 1983. chap. 5, p. 201-253.

VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de polpas de frutos tropicais. *Revista Brasileira de Fruticultura*. Jaboticabal – SP, v. 33, n. 3, p. 888-897, 2011.

WONG, K. C.; WONG, S. N. Volatile constituents of *Averrhoa bilimbi* L. fruit. *Journal of Essential Oil Research*, Carol Stream, v.7, n.6, p.691-693, 1995.

XAVIER, H.S.; Componentes flavonolicos majoritários de duas espécies de *Averrhoa* (Oxalidaceae) introduzidas em Pernambuco. Disponível em: <http://www.propesq.utpe.br>. Acesso em: 20/01/2001.

WIERSEMA, J. H. & LEÓN, B. 1999. World economic plants, a standard reference. C. R. C. Press, Boca Ratón, London. 749 p