

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

DISSERTAÇÃO

DESENVOLVIMENTO E ESTABILIDADE DE POLPA DE ACEROLA
(*Malpighia glabra*, L.) PASTEURIZADA E FORTIFICADA COM FERRO
QUELATO

FABIANA ROCHA REIS DE JESUS

2013



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

**DESENVOLVIMENTO E ESTABILIDADE DE POLPA DE ACEROLA
(*Malpighia glabra*, L.) PASTEURIZADA E FORTIFICADA COM FERRO
QUELATO**

FABIANA ROCHA REIS DE JESUS

Sob a Orientação do Professor

Dr. Armando Ubirajara Oliveira Sabaa Srur

e Co-orientação da Professora

Dr. Nathércia Percegoni

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

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2013

583.79

J58d

T

Jesus, Fabiana Rocha Reis de, 1983-
Desenvolvimento e estabilidade de
polpa de acerola (*Malpighia glabra*,
L.) pasteurizada e fortificada com
ferro quelato / Fabiana Rocha Reis
de Jesus - 2013.

71 f.

Orientador: Armando Ubirajara
Oliveira Sabaa Srur.

Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro, Curso de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Bibliografia: f. 40-53.

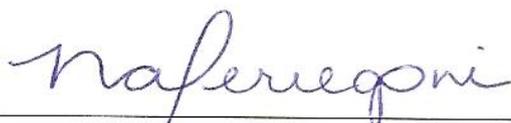
1. Acerola - Teses. 2. Anemia
ferropriva - Teses. 3. Vitamina C -
Teses. 4. Tecnologia de alimentos -
Teses. I. Srur, Armando Ubirajara
Oliveira Sabaa,-. II. Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro.
Curso de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos. III.
Título.

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

FABIANA ROCHA REIS DE JESUS

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

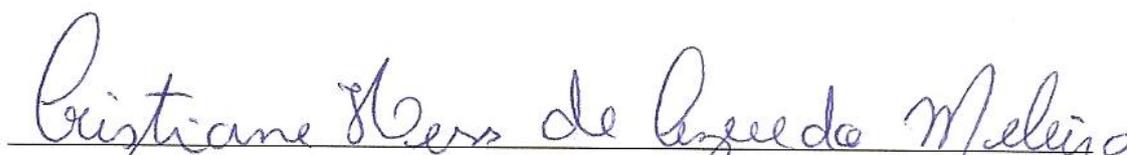
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 20/02/2013



Nathércia Percegoni. DSc. UFRJ
(Co-orientadora)



Maria Cristina Freitas Jesus. DSc. UFRJ
(Membro)



Cristiane Hess Azevedo Meleiro. DSc. UFRRJ
(Membro)

DEDICATÓRIAS

Dedico este trabalho à minha querida e amada mãe, que sempre se empenhou em me oferecer melhores condições de ensino. Apesar das dificuldades financeiras, sempre priorizou o estudo de suas filhas, as quais criou sozinha, com muito sacrifício. Agradeço também pelo carinho, por sempre me ouvir e por vibrar comigo a cada conquista.

“Mãe o título de mestre é seu!!”

Dedico ao meu amado marido, que por diversos dias precisei deixar só para dedicar-me a elaboração desse trabalho. Obrigada pela compreensão nesses momentos de ausência, por executar tarefas domésticas que seriam, normalmente, feitas por mim. Obrigada por entender a importância que tudo isso representa em minha vida.

Dedico também à minha querida irmã e agradeço pelo incentivo e pelas nítidas demonstrações de orgulho a cada conquista.

A todos vocês meu muito obrigada.

Valeu a pena!!

“Bom mesmo é ir à luta com determinação, abraçar a vida com paixão, perder com classe e vencer com ousadia, porque o mundo pertence a quem se atreve e a vida é "muito" para ser nada”.

(Augusto Branco)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois é a base de toda a minha trajetória. Agradeço a ele pela saúde e fé concedida, pela proteção a cada viagem até a faculdade, pela concentração nos momentos em que mais precisei, por dar-me disposição e ânimo para prosseguir e por colocar pessoas especiais em meu caminhos.

Ao ao meu querido orientador Dr^o Armando Ubirajara Oliveira Sabaa Srur, que sempre mostrou-se disponível para me orientar sempre que precisei. Agradeço pela confiança depositada. Por ser um orientador parceiro e amigo e pelos constantes incentivos para o crescimento profissional de seus alunos.

À professora Maria Cristina Jesus Freitas a qual é um amor de pessoa e está sempre disponível para ouvir e ajudar seus alunos. Você é uma pessoa especial.

À professora Cristiane Hess Azevedo Meleiro, a qual foi muito gentil e comprometida em ajudar-me na determinação de carotenoides, estando disponível até mesmo por telefone para sanar as minhas dúvidas. Obrigada pelo comprometimento, pela didática e organização.

Ao professor Celso Barbosa que disponibilizou seu precioso tempo e compartilhou seus conhecimentos estatísticos para auxiliar-me na análise dos dados deste trabalho. Agradeço pela paciência e por ser um professor tão dedicado à profissão.

Ao professor Antônio Jorge do NPPN-UFRJ, o qual permitiu a utilização do espectrofotômetro de seu Instituto e sempre me auxiliou na utilização do equipamento, mostrando-se bastante acessível.

À professora Andrea Melo do IFRJ-Nilópolis pela utilização do Cromatógrafo de sua unidade e por auxiliar-me em sua utilização.

Aos indivíduos que participaram prontamente da análise sensorial durante os 6 meses de realização. Obrigada pela solidariedade.

Às alunas da Graduação de Nutrição da UFRJ, mestrandas e doutorandas, as quais dividiam o laboratório comigo e me receberam muito bem, com muita simpatia e disponibilidade para ajudar, quando necessário.

À toda equipe de técnicos e auxiliares dos laboratórios que de alguma forma, direta ou indiretamente contribuíram para a execução de meu trabalho.

Aos laboratórios vizinhos, os quais estiveram sempre de portas abertas para receber-me.

À amiga Juliana Vilar, a qual pude tirar dúvidas e trocar experiências à respeito das análises e demais assuntos. Foi muito bom poder contar com você.

Às amigas Renata e Simone as quais me acompanharam nesta difícil caminhada. Obrigada pela companhia, pela amizade, por ajudar-me quando precisei e, principalmente, por serem pessoas solidárias que se preocupam com o próximo e sabem compartilhar as informações.

A todos da minha turma do mestrado que indiretamente contribuíram para o cumprimento das disciplinas, seja compartilhando materiais, seja simplesmente tornando o dia mais agradável, com palavras amigas e de incentivo.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, a qual me recebeu para a realização desse curso
e aos docentes pelos ensinamentos

À CAPES pela concessão da bolsa, a qual foi essencial para realização do curso.

A todos que torceram por mim e que porventura não tiveram seus nomes citados aqui.

JESUS, F. R. R. **Desenvolvimento e estabilidade de polpa de acerola pasteurizada e fortificada com ferro quelato**. 2013. 71 p. 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. 2013.

RESUMO

A anemia ferropriva, constitui o problema nutricional de maior magnitude no mundo. Esta deficiência acomete, principalmente, crianças menores de cinco anos e mulheres em idade fértil. Os principais determinantes desta deficiência são o baixo consumo e a pouca biodisponibilidade do ferro nas dietas. A fortificação de alimentos é um dos melhores e mais efetivo método para prevenir a deficiência nutricional de ferro. Esse trabalho objetivou o desenvolvimento de polpa de acerola pasteurizada fortificada com ferro quelato e a avaliação de sua estabilidade por 180 dias de estocagem. A polpa de acerola, antes da pasteurização, foi fortificada na concentração de $20\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ de ferro quelato, correspondendo a $4\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ de ferro elementar (T2) e $25\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ de ferro quelato, correspondendo a $5\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ de ferro elementar (T3), além disso, utilizou-se amostra controle, sem fortificação (T1). As determinações realizadas nos produtos formulados e na polpa de acerola congelada *in natura* foram: pH, sólidos solúveis totais, acidez total, relação sólidos solúveis/acidez total, glicídios totais, glicídios redutores, fibras totais, antocianinas, carotenoides, ferro e ácido ascórbico. Além disso, realizou-se análise microbiológica na polpa pasteurizada e não pasteurizada e análise sensorial mensalmente em T1, T2 e T3. O conteúdo de ácido ascórbico foi determinado pelo método de Tillmans modificado mensalmente na polpa de acerola *in natura* e quinzenalmente em T1, T2 e T3. Ao final do período de armazenamento o teor de ácido ascórbico, também, foi determinado pela CLAE. As determinações de pH, sólidos solúveis totais, acidez total e relação SST/AT foram realizadas mensalmente em T1, T2 e T3. A polpa de acerola estudada esteve dentro dos padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 01 de 7 de Janeiro de 2000 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, do Brasil. Com relação à estabilidade do ácido ascórbico, nos tratamentos T1, T2 e T3 ao longo dos 180 dias de armazenamento, observou-se conteúdo estável desta vitamina até em torno do 75º dia e aumento ($p < 0,05$) até o final do experimento. Ao comparar o uso da metodologia de Tillmans com a CLAE, o experimento foi finalizado com $1.628,6 \pm 22,6\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ e $1.262,1 \pm 43,1\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ respectivamente, para T1, $1.549,3 \pm 13,6\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ e $1.074,6 \pm 22,6\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ para T2 e $1.384,5 \pm 0,0\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ e $1.037,3 \pm 22,1\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ para T3. O método de Tillmans modificado apresentou valores maiores em relação à CLAE ($p < 0,05$). Considerando a qualidade geral, os produtos finais apresentaram índice de aceitabilidade satisfatório (77,8% para T1, 73,7% para T2 e 73,2% para T3) e bom resultado no teste de intenção de compra (63,1%, 53,1% e 55% comprariam T1, T2 e T3, respectivamente), sendo assim é possível concluir que o ferro quelato, nas concentrações adicionadas, não causou alterações às características sensoriais dos produtos testados e, portanto foram bem aceitos. Este trabalho mostra que a fortificação com ferro gerou produtos com boas características químicas, físicas e físico químicas, bom aspecto sensorial e considerável conteúdo de ácido ascórbico, antocianinas e carotenóides. Pesquisas em humanos são necessárias para avaliar a biodisponibilidade de ferro dos produtos formulados para a prevenção e tratamento de anemias.

Palavras chave: anemia, ácido ascórbico, fortificação

JESUS, F. R. R. **Development and stability of pasteurized acerola pulp and fortified with chelate iron.** 2013. 71 p. Dissertation (Master in Food Science and Technology). Institute of Technology, Department of Food Technology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2013.

ABSTRACT

Iron deficiency anemia constitutes the world's nutritional problem of great magnitude. The most affected population groups are children under five years of age and reproductive age women. The main determinants for this deficiency are low intake and little bioavailability of iron on a diet. Food fortification is one of the best and most effective processes to prevent iron deficiency. This work aimed the development of pasteurized acerola pulp fortified with chelate iron and the assessment of stability during the days of storage. The acerola pulp, before pasteurization, was fortified in the concentration of $20\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ chelate iron, corresponding to $4\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ elementary iron (T2) e $25\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ chelate iron, corresponding to $5\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ elementary iron (T3), besides, was used control sample, without fortification (T1.) The determinations made in formulated products and in frozen fresh acerola pulp was pH, total soluble solids, total acidity, soluble solids/total acidity relation, total sugars, reducing sugars contents, total fiber (soluble and insoluble), anthocyanins, carotenoids, iron and ascorbic acid. Besides, was made microbiological analysis in pasteurized and non pasteurized acerola pulp and sensory analysis at each 30 days in T1, T2 and T3. Ascorbic acid content of fresh acerola pulp had been made, through the changed method Tillmans, at each 30 days and at each 15 days, in T1, T2 and T3; both during 180 days of storage. The ascorbic acid content, also, had been made through the HPLC, in the end of the experiment. Analytics determinations as pH, total soluble solids, total acidity and soluble solids/total acidity relation had been made at each 30 days in T1, T2 and T3. It was verified that the acerola pulp studied had been in accordance with Normative Instructor number 01 of January 7 of 2000 of Ministry of Agriculture, Livestock and Supply legislation, of Brazil. Regarding the stability ascorbic acid in the treatments T1, T2 e T3 during 180 days of storage it was observed stable content until around 75° day, with increase ($p<0,05$) until the end of the experiment. When comparing the Tillmans changed method and the HPLC method, the experiment was finalized with $1.628,6 \pm 22,6\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ and $1.262,1 \pm 43,1\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ respectively, for T1, $1.549,3 \pm 13,6\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ and $1.074,6 \pm 22,6\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ for T2 and $1.384,5 \pm 0,0\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ and $1.037,3 \pm 22,1\text{mg}\cdot 100^{-1}\text{g}$ for T3. The Tillmans changed method showed values higher than HPLC method ($p<0,05$). Considering the general quality, the final products showed satisfactory level of acceptability (77,8% for T1, 73,7% for T2 and 73,2% for T3) and a good result in the test of purchase intent (63,1%, 53,1% e 55% would buy T1, T2 e T3, respectively). As such, the iron's concentration used did not alter the sensory characteristics of the tested products, therefore was well accepted. This work showed the iron fortification generated products with good chemical, physical and physicochemical characteristics, good sensory aspect and considerable ascorbic acid, anthocyanins and carotenoids content. Studies involving humans is needed to assessment the bioavailability of iron in formulated products for prevention and treatment for anemia.

Key words: anemia, ascorbic acid, fortification

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Valores médios obtidos nas determinações químicas, físicas e físico-químicas realizadas na polpa de acerola <i>in natura</i>	24
Tabela 2.	Variação mensal do teor de ácido ascórbico da polpa de acerola <i>in natura</i> durante 180 dias de armazenamento.....	25
Tabela 3.	Comparação entre os resultados obtidos nas análises químicas, físicas e físico-químicas realizadas na polpa de acerola <i>in natura</i> e após a pasteurização e fortificação (T1, T2 e T3).....	27
Tabela 4.	Análises realizadas nos tratamentos T1, T2 e T3 com periodicidade mensal, durante 180 dias de armazenamento.....	28
Tabela 5.	Variação quinzenal do teor de ácido ascórbico dos tratamentos T1, T2 e T3 durante os 180 dias de armazenamento.....	32
Tabela 6.	Comparação do teor de ácido ascórbico final nos tratamentos T1, T2 e T3, pelo método de Tillmans e CLAE.....	34
Tabela 7.	Microbiologia da polpa de acerola <i>in natura</i>	35
Tabela 8.	Microbiologia da polpa de acerola pasteurizada.....	35
Tabela 9.	Perfil dos provadores.....	36
Tabela 10.	Médias das notas dos provadores para os tratamentos T1, T2 e T3 mensalmente para cada atributo e intenção de compra.....	37
Tabela 11.	Intenção de compra dos provadores para cada tratamento.....	38

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.	Prevalência mundial de anemia por grupo populacional.....	4
------------------	---	---

Quadro 2.	Distribuição geográfica da prevalência de anemia por grupo populacional.....	4
Quadro 3.	Prevalência de anemia por macrorregiões brasileiras.....	5
Quadro 4.	Recomendação de ingestão diária de ferro.....	6
Quadro 5.	Conteúdo de ferro de alguns alimentos.....	7
Quadro 6.	Conduta de intervenção do programa de suplementação.....	9
Quadro 7.	Disponibilidade de ferro em diferentes refeições.....	11
Quadro 8.	Informações nutricionais de acerola.....	15

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Fluxograma do desenvolvimento da polpa de acerola pasteurizada e fortificada com ferro quelato.....	20
Figura 2.	Variação mensal do teor de ácido ascórbico da polpa de acerola <i>in natura</i>	

	durante 180 dias de armazenamento.....	25
Figura 3.	Reação de oxidação do ácido ascórbico a ácido desidroascórbico e de hidrólise deste último ao ácido dicetogulônico.....	26
Figura 4.	Curva padrão da concentração de ferro.....	31
Figura 5.	Variação quinzenal do teor de ácido ascórbico dos tratamentos T1, T2 e T3 durante os 180 dias de armazenamento.....	33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Justificativa	1
1.2	Objetivos	2
1.2.1	Objetivo geral.....	2
1.2.2	Objetivos específicos.....	2
2	REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1	Anemia	3

2.1.1	Anemia Ferropriva.....	3
2.1.1.1	Definição.....	3
2.1.1.2	Epidemiologia.....	3
2.1.1.3	Fisiopatologia.....	5
2.1.1.4	Avaliação do Estado Nutricional de Ferro.....	5
2.1.1.5	Manifestações Clínicas.....	7
2.1.1.6	Tratamento.....	8
2.1.1.7	Estratégias para a Redução da Anemia.....	8
2.2	O Ferro	10
2.2.1	Biodisponibilidade.....	10
2.2.2	Excesso de Ferro no Organismo.....	12
2.3	A Acerola	13
2.3.1	Aspecto Nutricional.....	14
2.3.2	Aspecto Tecnológico.....	15
2.4	Fortificação de Alimentos	16
2.4.1	Fortificação com Ferro Quelato.....	17
3	MATERIAL E MÉTODO	19
3.1	Material	19
3.2	Método	19
3.2.1	Manuseio da matéria prima.....	19
3.2.2	Preparo da polpa de acerola fortificada com ferro quelato.....	19
3.3.3	Análises químicas, físicas e físico-químicas	20
3.3.3.1	Sólidos Solúveis Totais (SST).....	20
3.3.3.2	pH.....	20
3.3.3.3	Acidez Total Titulável.....	21
3.3.3.4	Teor de Glicídios Totais (reduzores e não reduzores).....	21
3.3.3.5	Fibra total (solúvel e insolúvel).....	21
3.3.3.6	Determinação do Mineral Ferro.....	21
3.3.3.7	Determinação de Ácido Ascórbico.....	21
3.3.3.8	Determinação de Carotenoides Totais.....	22
3.3.3.9	Determinação de Antocianinas Totais.....	22
3.3.4	Análises microbiológicas	22
3.3.5	Análise sensorial	23
3.3.6	Análise estatística	23
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1	Análises químicas, físicas e físico-químicas	24
4.2	Análises microbiológicas	34
4.3	Análise sensorial	35
5	CONCLUSÕES	39
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA	40
7	ANEXOS	54
Anexo A	Análises Realizadas e Periodicidade.....	55
Anexo B	Ficha Utilizada para o Teste Afetivo – Escala Hedônica e Intenção de Compra.....	56

Anexo C	Ficha para coleta de dados demográficos dos provadores no Teste de Aceitação e Intenção de Compra.....	57
Anexo D	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - Comitê de Ética em Pesquisa.	58

1 INTRODUÇÃO

A alimentação saudável é uma das maneiras mais adequadas para a prevenção e controle de doenças. A importância de algumas vitaminas e minerais presentes na dieta para a promoção da saúde e bem-estar em geral, se faz necessário, uma vez que, o consumo diário habitual possa estar aquém das necessidades do indivíduo.

A anemia ferropriva é um problema de saúde pública que atinge milhares de crianças e mulheres em idade fértil em função da carência de ferro no organismo. Os principais fatores envolvidos nessa carência são: baixo consumo alimentar, pouca variedade de alimentos

fontes, presença de fatores antinutricionais na dieta, os quais prejudicam a biodisponibilidade do ferro e ausência do consumo de compostos que potencializam a absorção desse mineral.

Existe grande dificuldade em atingir o consumo diário de ferro recomendado, principalmente por parte das mulheres, grupo mais vulnerável, o qual a recomendação de ingestão desse mineral é maior, devido às perdas sanguíneas no ciclo menstrual. Essa dificuldade também existe durante a gestação, fase na qual as demandas desse mineral são maiores devido ao desenvolvimento fetal e aumento do volume sanguíneo materno. As crianças também representam um grupo de risco, uma vez que as necessidades de ferro são aumentadas após os 6 meses de vida, fase na qual deverão ser introduzidas refeições como almoço e jantar. Porém, sabe-se que muitas crianças têm consumo alimentar insuficiente, ora devido a baixa aceitação da dieta ofertada, ora devido às condições financeiras precárias que inviabilizam a compra de produtos cárneos (principal fonte de ferro).

Além das carnes, outros produtos também são considerados fontes de ferro. Porém é necessário considerar a biodisponibilidade desse mineral no alimento. Sabe-se que a manutenção das reservas de ferro e vitamina C são essenciais aos processos vitais do organismo humano. Uma alimentação com deficiência nesses nutrientes pode ocasionar, além da anemia, diversos problemas de saúde, não comentados corriqueiramente, mas que afetam o estado de saúde geral do indivíduo, a médio e longo prazo.

Considerando a gravidade do problema, surge o interesse no desenvolvimento de estratégias tecnológicas que viabilizem a oferta de ferro biodisponível, de maneira que atinja todos os grupos de risco de forma prática e saudável. O desenvolvimento de polpa de acerola, fruto rico em ácido ascórbico, fortificada com ferro quelato representaria uma maneira viável e de baixo custo para um consumo diário de ferro, não somente para tratar a anemia, mas principalmente para preveni-la, uma vez que o produto, sendo 100% natural, poderia ser consumido por gestantes e crianças. É preciso considerar, também, aspectos relativos a estabilidade do produto, os quais são de extrema importância para a constatação de sua eficácia.

1.1 Justificativa

A dificuldade de adequação das demandas nutricionais de ferro devido a sua baixa ingestão por meio da alimentação tradicional, faz-se necessária a complementação desse nutriente através da utilização de alimentos fortificados, alguns de elevado valor comercial, pouco acessíveis à população menos favorecida e de baixa biodisponibilidade. A polpa de acerola fortificada com ferro quelato poderia viabilizar a oferta de ferro biodisponível, de maneira que atinja todos os grupos de risco de forma prática, saudável e com baixo valor comercial. Além do ácido ascórbico, o fruto representa boa fonte de precursores da vitamina A, nutriente o qual também possui envolvimento com o metabolismo do ferro. A avaliação da estabilidade do ferro e da vitamina C do produto, daria respostas quanto a possível eficácia de sua utilização por indivíduos com deficiências desses nutrientes, o que representaria uma importante contribuição para a prevenção e tratamento da anemia ferropriva, inclusive em crianças e gestantes, uma vez que, o produto seria isento de aditivos.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo Geral

Desenvolver polpa de acerola pasteurizada fortificada com ferro quelato e avaliar sua estabilidade ao longo da vida de prateleira.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Formular produto fonte de ferro e ácido ascórbico, de baixo custo, prático consumo e sabor agradável.
- Definir a quantidade de ferro quelato possível de ser utilizada, sem alterar as características sensoriais do produto.
- Avaliar a estabilidade do ácido ascórbico ao longo dos 180 dias de armazenamento
- Realizar a caracterização química, física e físico-química da polpa de acerola *in natura* e do produto elaborado.
- Avaliar a aceitabilidade do produto elaborado através da análise sensorial.
- Realizar a análise microbiológica do produto *in natura* e do produto pasteurizado.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Anemia

A anemia é definida pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 1968) como processo patológico no qual a concentração de hemoglobina (Hb), contida nos glóbulos vermelhos, encontra-se baixa, respeitando-se as variações segundo idade, sexo e altitude em relação ao nível do mar, em consequência de várias situações como infecções crônicas, problemas hereditários sanguíneos, carência de um ou mais nutrientes essenciais, necessários à formação da hemoglobina, como o ferro, ácido fólico, vitaminas B₁₂, B₆ e C e proteínas. No

entanto, dentre esses nutrientes, destaca-se o ferro, como o mais importante; e sua deficiência leva à anemia ferropriva.

2.1.1 Anemia Ferropriva

2.1.1.1 Definição

A Anemia Ferropriva, anemia por deficiência de ferro, é caracterizada pela produção de eritrócitos pequenos (microcítica), diminuição do volume corpuscular médio (VCM), geralmente acompanhada pela diminuição da hemoglobina corpuscular média (HCM) e da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), caracterizando a presença de hipocromia associada (FIGUEIREDO & VICARI, 2006). É um processo evolutivo que se inicia com a depleção dos estoques de ferro, passa pela queda no ferro em transporte e termina na redução do ferro ligado à hemoglobina, resultando na anemia clínica (DEL CIAMPO e ALMEIDA, 2002). Portanto, a anemia ocorre quando os níveis de hemoglobina estão abaixo de 13 g/dL em homens; 12g/dL em mulheres; 11 g/dL em mulheres grávidas e crianças de 6 meses a 5 anos (WHO, 2001).

2.1.1.2 Epidemiologia

Segundo estimativas do Ministério da Saúde do Brasil a anemia por deficiência de ferro (ADF) é a carência nutricional de maior magnitude no mundo, sendo considerada uma carência em expansão em todos os segmentos da população. Esta deficiência gera severas consequências econômicas e sociais, uma vez que acarreta um custo adicional para a economia brasileira em tratamentos e perdas de produtividade e de dias de trabalho, além de baixos rendimentos escolares, segundo o banco de dados da Política Nacional de Alimentação e Nutrição (PNAN) (BRASIL, 2012).

A Organização Mundial de Saúde (OMS), única fonte de dados de estimativas sobre a anemia a nível nacional, regional e mundial estabelece os limites de normalidade de hemoglobina nos diferentes grupos fisiológicos da população (crianças, adolescentes, adultos e grávidas) que foram definidos em reunião onde participaram os melhores estudiosos desse assunto (OMS, 1972)

A última estimativa da OMS em 2008 (Quadro 1) constatou que a anemia afetava 1620 milhões de pessoas em todo o mundo, o que correspondia a 24,8% da população. A máxima prevalência se dava entre crianças em idade pré-escolar (47,4%), apesar- do grupo de mulheres não grávidas (468,4 milhões de mulheres) contar com o número máximo de pessoas afetadas. Geograficamente (Quadro 2), para todos os grupos populacionais avaliados (crianças em idade pré-escolar, gestantes e não gestantes) a máxima prevalência dessa deficiência se dava na África (67,6%) e na Ásia Sudoriental (65,5%) (OMS,2008).

Quadro 1: Prevalência mundial de anemia por grupo populacional

Grupo Populacional	Prevalência (%)	Nº pessoas afetadas (em milhões)
Crianças em idade pré-escolar	47,4	293
Crianças em idade escolar	25,4	305
Gestantes	41,8	56
Mulheres não gestantes	30,2	468
Homens	12,7	260
Idosos	23,9	164
População Total	24,8	1620

Fonte: OMS, 2008

Quadro 2: Distribuição geográfica da prevalência de anemia por grupo populacional

Local	Crianças em idade pré-escolar	Gestantes	Mulheres não gestantes
	Prevalência (%)		
África	67,6	57,1	47,5
Américas	29,3	24,1	17,8
Ásia Sudoriental	65,5	48,2	45,7
Europa	21,7	25,1	19
Mediterrâneo Oriental	46,7	44,2	32,4
Pacífico Ocidental	23,1	30,7	21,5
Global	47,4	41,8	30,2

Subgrupos da população: Crianças em idade pré-escolar (0,00 a 4,99 anos); grávidas (não se indica o intervalo de idade); mulheres não grávidas (15,00 a 49,99 anos).

Fonte: OMS, 2008

No caso do Brasil, a anemia por deficiência de ferro também representa um grande problema de saúde pública, sendo, provavelmente, o problema nutricional mais importante da população brasileira (BRASIL, 2012).

Através da Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher (PNDS) realizada no Brasil pela primeira vez foi feito um levantamento nacional da prevalência de anemia em crianças menores de 5 anos e em mulheres de 15 a 49 anos de idade (BRASIL, 2006). A pesquisa foi financiada pelo Ministério da Saúde e coordenada pela equipe da área de População e Sociedade do Centro Brasileiro de Análise e Planejamento (CEBRAP).

Anteriormente a essa pesquisa, na ausência de um levantamento nacional, o Ministério da Saúde baseava-se apenas em estudos, os quais indicavam que aproximadamente metade dos pré-escolares brasileiros eram anêmicos (cerca de 4,8 milhões de crianças) com a prevalência chegando a 67,6% nas idades entre 6 e 24 meses. No caso de gestantes, estimava-se uma média nacional de prevalência de anemia em torno de 30% (BRASIL, 2004).

No entanto, a Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher (BRASIL, 2006) revelou prevalência de anemia em crianças de 20,9% e de 29,4% em mulheres. Para crianças e mulheres observou-se que a região Nordeste apresentava a maior prevalência, 25,5% e 39,1%, respectivamente (Quadro 3). Além disso, a pesquisa apontou maior prevalência de anemia em crianças com idade inferior a 24 meses (24,1%), quando comparadas às crianças com idades entre 24 e 59 meses (19,5%). Observou-se, ainda, que as crianças moradoras de áreas rurais apresentam menor frequência de anemia quando comparadas as crianças das áreas urbanas e que as mulheres negras apresentam maior prevalência de anemia em relação às demais.

Quadro 3. Prevalência de anemia por macrorregiões brasileiras

Macrorregião	Crianças (6 meses a 59 meses)	Mulheres em idade fértil
BRASIL	20,9%	29,4%
Norte	10,4%	19,3%
Nordeste	25,5%	39,1%
Sudeste	22,6%	28,5%
Sul	21,5%	24,8%
Centro-Oeste	11,0%	20,1%

Fonte: Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde (PNDS) (BRASIL, 2006)

Com base na PNDS, 2006 pode-se concluir que a prevalência de anemia entre crianças apresenta tendência de diminuição, porém, essa tendência não é percebida entre as mulheres, já que a prevalência, nesse caso, é elevada em todas as macrorregiões, evidenciando uma situação mais grave entre as mulheres, o que era mais prevalente entre as crianças (BRASIL, 2006). Talvez esse panorama esteja refletindo as intensas medidas das políticas públicas no Brasil para combater a anemia na infância. Assim, também há necessidade de maior sensibilização por parte das políticas públicas para combate à anemia entre mulheres.

2.1.1.3 Fisiopatologia

Apesar da anemia por deficiência de ferro ocorrer devido a diversos fatores o principal fator de risco para a instalação da anemia ferropriva é o dietético, por meio do consumo insuficiente de alimentos fontes e da baixa biodisponibilidade de ferro da dieta (ASSIS, 2001). Uma alimentação restrita em carnes, geralmente mais comum nas faixas de menor renda traz como consequência, uma menor utilização biológica de ferro; sendo assim, as classes mais pobres, além de apresentarem ingestão menor de ferro, estão também consumindo ferro menos biodisponível, devido às dietas monótonas, ricas em cereais, e que contém pouca quantidade de carnes e de alimentos fontes de vitamina C (BATISTA FILHO e BARBOSA, 1985).

Outros fatores também exercem impacto significativo na redução dos níveis de hemoglobina, como o baixo nível de escolaridade materna, ausência de televisão no domicílio, falta de saneamento básico, reduzida duração do aleitamento materno exclusivo e ocorrência de diarreia (LIMA *et al.*, 2004).

2.1.1.4 Avaliação do estado nutricional de ferro

O estado nutricional de ferro em uma pessoa pode variar de sobrecarga de ferro para anemia por deficiência de ferro. Os desvios do estado normal de ferro foram resumidos por HERBERT (1992) da seguinte maneira:

Estágios 1 e 2 de balanço de ferro negativo (isto é, depleção de ferro): nesses estágios, as reservas de ferro são baixas e não há disfunção. No estágio 1 a absorção de ferro reduzida produz reservas de ferro moderadamente esgotadas. Já o estágio 2 é caracterizado por reservas de ferro gravemente esgotadas. Se o indivíduo for tratado com ferro nessa fase da deficiência (1 e 2), não desenvolverá a anemia.

Estágios 3 e 4 de balanço de ferro negativo (isto é, deficiência de ferro): nesses estágios o teor de ferro corporal é inadequado, já causando disfunção ao organismo. No estágio 3, a disfunção não é acompanhada por anemia; entretanto, no estágio 4 já ocorre a anemia ferropriva.

Estágios 1 e 2 de balanço de ferro positivo: o estágio 1 normalmente dura por vários anos sem nenhuma disfunção associada. Suplementação excessiva de ferro ou vitamina C promove a progressão para a disfunção ou doença. A doença de sobrecarga de ferro se desenvolve em pessoas no estágio 2 de balanço positivo após anos de sobrecarga de ferro terem causado dano progressivo aos tecidos e órgãos. A remoção do ferro interrompe a progressão da doença.

A concentração de hemoglobina, isoladamente, é inadequada para o diagnóstico da ADF; sendo assim, exige-se a avaliação da ferritina sérica, parâmetro mais sensível, o qual encontra-se em equilíbrio com as reservas corporais de ferro, e dessa forma pode revelar melhor o balanço de ferro negativo ainda nos estágios 1 e 2 da deficiência; além de parâmetros como ferro sérico, transferrina total circulante e saturação de transferrina, os quais

são complementares ao diagnóstico (KRAUSE e MAHAN, 2005). As ingestões médias de ferro para a maioria das mulheres são menores que a recomendação de ingestão diária (IDR) definida pelo *Institute of Medicine* (IOM), 2001 (Quadro 4), enquanto que as ingestões médias dos homens geralmente excedem a IDR, conforme relatado em *National Center for Health Statistics III* (NHANES) (ALAIMO, 1994).

Quadro 4: Recomendação de ingestão diária de ferro

Grupos Populacionais	Ferro¹ (mg)	Grupos Populacionais	Ferro² (mg)
Crianças de 0 a 6 meses de idade	0,27	Crianças de 0 a 6 meses de idade	0,27
Crianças de 7 a 12 meses de idade	11	Crianças de 7 a 11 meses de idade	9
Crianças de 1 a 3 anos de idade	7	Crianças de 1 a 3 anos de idade	6
Crianças de 4 a 8 anos de idade	10	Crianças de 4 a 6 anos de idade	6
Crianças de 9 a 13 anos de idade	8	Crianças de 7 a 10 anos de idade	9
Meninos (14 a 18 anos de idade)	11	Meninos (14 a 18 anos de idade)	-
Meninas (14 a 18 anos de idade)	15	Meninas (14 a 18 anos de idade)	-
Homens (adultos)	8	Homens (adultos)	14
Mulheres (adultas)	18	Mulheres (adultas)	14
Gestantes	27	Gestantes	27
Lactante (19 – 50 anos)	9	Lactante	15

1: IOM, 2001

2: IDR –ANVISA (BRASIL, 2005)

Uma dieta adequada contendo carnes e outras fontes animais tipicamente possui alto teor de ferro, contendo aproximadamente 6mg de ferro por 1000Kcal. Portanto, uma mulher em idade fértil, consumindo 2000Kcal consome 12mg de ferro ou aproximadamente 67% da IDR de 18mg/dia. Esse nível de ingestão não atinge as necessidades de quase nenhuma das mulheres que menstruam. Entretanto, as ingestões de ferro totalizando muito menos de 12mg/dia colocam as mulheres em risco mais sério de desenvolver anemias por deficiências. Enquanto que, no caso dos homens adultos, com poucas exceções, a anemia por deficiência de ferro é o resultado de perda de sangue e não de dieta com conteúdo insuficiente do mineral (KRAUSE e MAHAN, 2002). O Quadro 5 mostra o conteúdo de ferro de alguns alimentos.

Quadro 5: Conteúdo de ferro de alguns alimentos

Alimentos – 100g	Ferro (mg)
Fígado de frango cru	9,5
Fígado do boi cru	5,6
Coração de Frango cru	4,1
Carne bovina (patinho) grelhado	3,0
Feijão preto cozido	1,5
Frango inteiro sem pele cozido	0,5
Ovo de galinha inteiro frito	2,1
Castanha de caju torrada salgada	5,2
Melado	5,4

Açúcar mascavo	8,3
Batata doce cozida	0,2
Quiabo cru	0,4
Espinafre Nova Zelândia cru	0,4
Brócolis cozido	0,5
Couve manteiga crua	0,5
Repolho roxo cru	0,5
Inhame cru	0,4

Fonte: Unicamp, 2011

2.1.1.5 Manifestações clínicas

Como a anemia é a última manifestação de deficiência de ferro crônica, de longo prazo, os sintomas refletem uma disfunção de uma variedade de sistemas corporais comprometendo inúmeras funções orgânicas, tais como: o transporte de oxigênio aos tecidos (devido à baixa concentração de hemoglobina), o que favorece o surgimento de sinais e sintomas como palidez, glossite, estomatite, disfagia, fadiga, fraqueza, palpitação, redução da função cognitiva, do crescimento e do desenvolvimento psicomotor, além de afetar a termorregulação (COOK *et al.*, 1994). Afeta também as reações de oxidação e redução, a imunidade humoral e celular (predispondo à infecções), a síntese de ácido desoxirribonucleico (DNA), a síntese de neurotransmissores e, possivelmente, da mielina, dentre outras atividades vitais (OLIVARES e TOMÁS, 2003).

Mesmo na ausência de anemia, a deficiência de ferro pode acarretar distúrbios neurológicos (PAIVA *et al.*, 2000; DAVIDSSON *et al.*, 2000), em alguns casos, com consequências irreversíveis (CONRAD, 2002). Em sua fase mais avançada, a anemia está associada a sintomas clínicos como diminuição da capacidade respiratória e tontura (PAIVA *et al.*, 2000).

A deficiência de ferro durante a gravidez, principalmente no último trimestre, predispõe a resultado obstétrico menos favorável como nascimentos prematuros, baixo peso ao nascer, mortalidade perinatal e baixa concentração de hematócrito no recém-nato (THIAPO *et al.*, 2007). O estudo realizado por RASMUSSEN (2001) encontrou forte associação entre anemia grave (Hb < 4,7 g/dL) e mortalidade materna. Segundo PATTERSON *et al.* (2001), as adolescentes grávidas estão frequentemente em alto risco em função dos seus hábitos alimentares precários e contínua fase de crescimento, além do aumento das demandas nutricionais para o desenvolvimento fetal.

Em crianças, dos 6-12 meses de vida, as necessidades de ferro por peso corporal se encontram bastante elevadas, uma vez que, o peso da criança, ao final do primeiro ano de vida, terá triplicado em relação ao peso ao nascimento, sendo assim, aproximadamente 30% do ferro necessário para a eritropoiese deve ser proveniente do consumo alimentar, pois, do contrário, a criança se torna bastante suscetível a entrar em balanço negativo desse mineral (STEKEL, 1984).

A anemia ferropriva nesse grupo pode prejudicar o seu desenvolvimento comportamental e cognitivo (AKMAN *et al.*, 2004). Mais especificamente, promove riscos de comprometimento do desenvolvimento, da coordenação motora e da linguagem, efeitos comportamentais, como falta de atenção, fadiga, redução da atividade física e redução da afetividade (STOLTZFUS, 2001). Segundo BEARD *et al.* (2001), os efeitos prejudiciais da anemia por deficiência de ferro em crianças persistem por muitos anos.

2.1.1.6 Tratamento

Apesar da necessidade do estímulo para uma boa alimentação e consumo de alimentos fontes de ferro, a suplementação medicamentosa é necessária. A dose terapêutica de ferro elementar recomendada para o tratamento da anemia ferropriva é de 3 mg a 5 mg/kg/dia por um período suficiente para normalizar os valores da hemoglobina - de um a dois meses, e restaurar os estoques normais de ferro do organismo - de dois a seis meses, ou até obter-se valor de ferritina sérica de, pelo menos, 15 ng/mL para crianças e 30 ng/mL para adultos. Portanto, a duração do tratamento pode variar amplamente, dependendo da intensidade da deficiência de ferro, da sua causa e da dose diária de ferro elementar administrada (COOK, 2003; BEUTLER, 2006; ALLEYNE *et al.*, 2008).

No Brasil, o sulfato ferroso, ferro inorgânico não hematínico, é a fonte de ferro mais utilizada para a suplementação. Além de poder causar efeitos colaterais, sua absorção está comprometida na presença de fatores dietéticos, assim como ocorre com o ferro de origem vegetal, não heme (CONRAD, 2002).

Quanto ao tratamento nutricional, é necessário incentivar o consumo de alimentos variados, principalmente os ricos em ferro, utilizando alternativas mais acessíveis sob o ponto de vista econômico, como as vísceras. Também se deve incentivar o consumo de alimentos ricos em vitamina C juntamente com os alimentos ricos em ferro numa mesma refeição, objetivando favorecer o aproveitamento de ferro não heme, em detrimento de alimentos que possam inibir essa absorção (YIP, 1994).

2.1.1.7 Estratégias para a redução da anemia

A redução da anemia por carência de ferro no Brasil está entre as diretrizes da Política Nacional de Alimentação e Nutrição (PNAN). Como estratégia para a redução da anemia, adotou-se as seguintes medidas:

- α) Criação do Programa Nacional de Suplementação de Ferro (PNSF), aos grupos vulneráveis, por meio da Portaria Ministerial nº 730 de 13 de maio de 2005 e regulamentado por Manual Operacional – 70% efetivo a curto prazo (BRASIL, 2005) .
- β) Fortificação das farinhas de trigo e de milho no país, através da RDC/ANVISA nº 344/2002, obrigatória desde junho de 2004 – 90% efetiva a longo prazo (BRASIL, 2002).
- χ) Educação nutricional na rede de saúde e nas escolas (aleitamento materno, alimentação complementar oportuna e saudável com diversificação da dieta, orientação alimentar nas escolas e creches).

De acordo com o Manual Operacional do Programa Nacional de Suplementação de Ferro (BRASIL, 2005), o programa é destinado a todos os municípios brasileiros e consiste na suplementação medicamentosa universal de ferro, independente de diagnóstico e prescrição, para as crianças de 6 a 18 meses, gestantes a partir da 20^a semana e mulheres até o 3^o mês pós-parto. A suplementação também é recomendada nos casos de abortos, com a mesma conduta para as mulheres no pós-parto. Os suplementos são com dosagem de prevenção e não de tratamento e são de distribuição gratuita às unidades de saúde que conformam a rede do SUS. A conduta de intervenção do programa encontra-se no Quadro 6.

Quadro 6: Conduta de intervenção do programa de suplementação

Público	Dosagem profilática	Periodicidade	Tempo de permanência	Produto
Crianças de 6 a 18 meses	5 mL de xarope de sulfato ferroso (25mg de Ferro)	1 vez por semana	Até completar 18 meses	Xarope de Sulfato Ferroso
Gestantes a partir da 20^a	1 comprimido de Sulfato Ferroso	Diário	Até o final da gestação	Comprimido de Sulfato Ferroso

semana	(40mg de Ferro*) e 1 comprimido de ácido fólico (5mg)			+ Ácido Fólico
Mulheres no pós-parto ou no pós- aborto	1 comprimido de Sulfato Ferroso (40mg de Ferro*)	Diário	Até o 3 ^o mês pós-parto ou até o 3 ^o mês pós- aborto	Comprimido de Sulfato Ferroso

*: concentração do insumo produzido, apesar da conduta ser de 60mg
Fonte: Manual Operacional do PNSF (BRASIL, 2005)

Considerando-se não apenas a deficiência de ferro, mas, também, no intuito de prevenir defeitos do tubo neural, no Brasil, a fortificação de farinhas de trigo e milho foi instituída pela Resolução RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002/ANVISA (BRASIL, 2002), a qual determinou a adição obrigatória de 4,2 mg de ferro e de 150 µg de ácido fólico nas farinhas de trigo e milho, cujo prazo para as indústrias se adequarem foi até 17 de junho de 2004.

De acordo com o banco de dados da PNAN (BRASIL, 2012), ressalta-se que as farinhas de trigo e milho foram escolhidas para a fortificação, pois atendem a todos requisitos exigidos: alimentos consumidos pela maioria da população; pequena variação do consumo por pessoa; não ocorrem alterações em suas características sensoriais (sabor, cheiro e de aceitabilidade do produto); nutrientes biodisponíveis no alimento; e os processos de fortificação são economicamente viáveis. Além da suplementação preventiva e da fortificação de alimentos, implantou-se um sistema de educação nutricional na rede de saúde e nas escolas com orientação acerca de uma alimentação saudável e sobre a importância do consumo de alimentos ricos em ferro, incluindo informações sobre alimentos facilitadores ou dificultadores da absorção do mineral, com vistas à prevenção da anemia por deficiência de ferro, bem como, o estímulo ao aleitamento materno (BRASIL, 2012).

Tanto o leite de vaca como o leite materno são pobres em ferro (cerca de 0,2-0,5 mg de ferro por litro), no entanto o ferro do leite materno está ligado à lactoferrina e apresenta maior biodisponibilidade (SILVA *et al.*, 2006). Dessa forma os bebês retêm muito mais ferro do leite materno que do leite de vaca ou fórmulas lácteas.

As estratégias para a redução da anemia, particularmente o PNSF, tem sua efetividade prejudicada, uma vez que, a administração oral de ferro pode acarretar efeitos colaterais, especialmente de trato gastrointestinal, como desconforto epigástrico, náusea, vômito, constipação e diarreia, cuja a intensidade está relacionada com a dose. Esses efeitos colaterais são um dos principais responsáveis pela baixa adesão ao tratamento de suplementação com ferro (WHO, 1989).

Em estudo com gestantes, constatou-se que apenas 34% delas estavam fazendo uso do suplemento de ferro durante a gestação Essa informação foi obtida através de relatos das próprias gestantes participantes da pesquisa- (VASCONCELOS, 2008).

2.2 O Ferro

O ferro é um elemento essencial na maioria dos processos fisiológicos do organismo humano, desempenhando função central no metabolismo energético celular (PIETRANGELO, 2004).

Na dieta, o ferro pode ser encontrado em duas formas: orgânica ou ferro hematínico (heme) e inorgânica ou ferro não-hematínico (não heme). O ferro hematínico, (isto é, o anel de porfirina intacto) é encontrado na hemoglobina e mioglobina, sendo absorvido pela borda em escova das células de absorção intestinal após ser digerido de fontes animais. Já o ferro não-hematínico está presente nos alimentos vegetais, na forma iônica, como composto férrico e ferroso (FNB, 2001).

Sua quantidade total, no adulto, é de aproximadamente 3,5 a 4g; a maior parte (de 1,5 a 3,0g) está ligada ao heme da hemoglobina e tem como principal função a oxigenação dos tecidos, e outra parte está armazenada sob a forma de ferritina ou de hemossiderina nas células do sistema mononuclear fagocitário, principalmente no fígado, na medula óssea e no baço (PIETRANGELO, 2004).

Em síntese, dependendo da presença de substâncias, estimuladoras ou inibidoras, a absorção de ferro numa dieta mista pode variar entre 1% e 30% em pessoas com boas reservas de ferro. Indivíduos saudáveis absorvem cerca de 5% a 10% do ferro contido em dietas, enquanto indivíduos deficientes de ferro têm absorção de 10% a 20% (DEVINCENZI *et al.*, 2000).

2.2.1 Biodisponibilidade

De acordo com Portaria 710/GM, do Ministério da Saúde (BRASIL, 1999), biodisponibilidade é definido como o grau de aproveitamento de nutrientes específicos contidos nos alimentos, tomando como referência o conteúdo total (100%) do princípio nutritivo considerado.

Quanto aos mecanismos de absorção e biodisponibilidade, BORTOLONI e VITOLO, (2010) ressaltam que o ferro apresenta-se nos alimentos sob 2 formas: heme e não heme. O ferro heme presente na hemoglobina e mioglobina das carnes e vísceras tem maior biodisponibilidade, não estando exposto a fatores inibidores, sendo que sua absorção é de 20 a 30%. Já o ferro não heme contido no ovo, nos cereais, nas leguminosas e nas hortaliças é absorvido de 2 a 10% pelo organismo.

Segundo ANDERSON *et al.*, 1988, para calcular a biodisponibilidade de ferro de cada refeição é necessário determinar a quantidade total de ferro, a quantidade total de ferro heme, a quantidade total de ferro não-heme, a quantidade total de vitamina C e a quantidade total de carne vermelha, peixe ou ave (CPA). Considera-se que 40% de CPA é constituída de ferro heme e 60% de ferro não heme. Os demais alimentos, computa-se como 100% ferro não-heme. Sendo assim, classifica-se a refeição de acordo com a disponibilidade de ferro descrita no Quadro 7, abaixo:

Quadro 7. Disponibilidade de ferro em diferentes refeições

Tipo de Refeição	Ferro	
	Não-heme	Heme
Baixa disponibilidade < 30g de CPA e < 25mg de Vit.C	3%	23%
Média disponibilidade 30 a 90g de CPA ou 25 a 75mg de Vit.C	5%	23%
Alta disponibilidade > 90g de CPA e/ou > 75mg de Vit.C ou	8%	23%

> 30 a 90g de CPA + 25 a 75mg de Vit. C		
---	--	--

Fonte: Anderson *et al.*, 1988

Os estudos sobre biodisponibilidade constaram que fatores fisiológicos e nutricionais podem interferir na absorção, no transporte e no armazenamento, com subsequente aumento da suscetibilidade à deficiência ou toxicidade (BREMNER e BEATTIE 1995).

Existe uma larga variedade de compostos facilitadores e inibidores do aproveitamento do ferro pelo organismo (HURRELL, 1997).

- **Fatores antinutricionais**

Os fatores antinutricionais são substâncias que afetam negativamente a quantidade de ferro disponível para absorção. São os fitatos, taninos (polifenóis), cálcio, fosfatos, ácidos oxálicos, avidina (presente no ovo) dentre outros, que podem formar precipitados, quelatos insolúveis ou macromoléculas que diminuem a absorção do ferro (BEARD, 1996). A fibra, isoladamente, não tem influência na absorção de ferro. O efeito inibitório do cereal integral é também atribuído ao conteúdo de fitatos (MORRIS, 1983).

- **Ácido Ascórbico**

O ácido ascórbico, como agente redutor, mantém o ferro dos alimentos no estado ferroso, que é mais solúvel. Também, forma quelato ferro-ascorbato, que se mantém solúvel mesmo com o aumento do pH no intestino delgado proximal (SAMMÁN *et al.*, 1999). O ácido ascórbico quando adicionado à refeição, favorece o rápido aumento na porcentagem de absorção do ferro (LYNCH, 1997).

O ferro de fontes vegetais como as frutas e hortaliças, por serem ricos em ácido ascórbico, normalmente, 15% é disponível. A absorção do ferro aumenta de 3,7% para 10,4% em refeições com pão, ovo e chá quando se adiciona de 40 a 50 mg de ácido ascórbico (BIANCHI *et al.*, 1992).

A vitamina C na forma reduzida é conhecida como ácido ascórbico ou ácido L-ascórbico e na forma oxidada como ácido L-desidroascórbico. A recomendação de ingestão diária (IDR) de vitamina C para homens adultos é de 90mg/ dia e para mulheres adultas 75mg/dia.(IOM, 2000).

- **Produto de origem animal**

Além do ácido ascórbico, a carne ou tecido animal também é um importante promotor dietético de ferro biodisponível (SAMMÁN *et al.*, 1999). Diversos produtos de origem animal como carne de boi, de galinha, peixe, bode, fígado e porco aumentam a biodisponibilidade de ferro por suprir a forma heme desse mineral e aumentar a absorção de ferro não heme (HURRELL, 1997).

O mecanismo pelo qual a carne bovina, de peixe e ovos potencializa a absorção de ferro não heme em outros gêneros alimentares é desconhecido. Porém, sabe-se que na digestão desses alimentos pode levar à liberação de aminoácidos (particularmente a cisteína) e polipeptídeos na parte superior do intestino delgado, que então quelam o ferro não heme para formar complexos solúveis absorvíveis (MULVIHILL, 1998). Tem sido proposto, também, que outros aminoácidos livres na luz intestinal, como a histidina e a lisina, além da cisteína, aumentam a absorção da espécie férrica, por formarem quelatos solúveis com o ferro não heme (BIANCHI, 1988).

- **Vitamina A**

A vitamina A é muito importante para as condições hematológicas do indivíduo. Sua deficiência afeta o transporte de ferro até os tecidos, favorecendo o acúmulo desse mineral nos órgãos de depósito, principalmente o fígado; condição a qual resulta em uma deficiência de ferro como a anemia que, para ser corrigida, exige uma suplementação de vitamina A (WHO, 2007; HUNT, 2005). Ambos atuam de forma sinérgica, ou seja, a vitamina A favorece a disponibilidade do metal à hematopoiese na síntese da hemoglobina (SEMBA e BLOEM 2002). Enquanto que o estado nutricional adequado de ferro é essencial ao funcionamento de vários sistemas enzimáticos, incluindo o sistema envolvido com a mobilização hepática de vitamina A (HAAS e BROWNLIE, 2001; FAO/WHO, 2001). Além disso, a vitamina A e o betacaroteno podem formar complexos com o ferro, aumentando sua solubilidade no lúmen intestinal, reduzindo os efeitos inibitórios de fitatos e polifenóis na absorção de ferro (GARCIA-CASAL *et al.*, 1998).

2.2.2 Excesso de ferro no organismo

Para as mulheres (pós-menopausa) e homens idosos, o uso de suplementos de ferro pode ser prejudicial à saúde em razão dos maiores riscos de doença cardíaca. De fato, um estudo feito com idosos, concluiu que essas reservas aumentadas eram um risco para o coração (FLEMING, 2001).

Além disso, um estudo realizado em homens voluntários demonstrou que a suplementação da alimentação com sulfato ferroso, na concentração de 19 mg de ferro/dia, durante duas semanas, resultou em um aumento nas concentrações de ferro e radicais livres nas fezes desses indivíduos. Esses resultados corroboram com a tese de aumento de suscetibilidade a processos carcinogênicos em indivíduos suplementados com ferro (LUND, *et al.*, 1999). Elevados estoques de ferro têm sido associados, também, com um risco aumentado para infarto do miocárdio (TUOMAINEN, 1998).

Em adultos normais, a quantidade total de ferro é de aproximadamente 3,5 g a 4,0 g, a quantidade de ferro absorvida diariamente equivale à quantidade excretada (\pm 1 a 2 mg/dia), e 20 a 30 mg/dia de ferro do organismo são continuamente reciclados através de um eficiente sistema de reutilização desse metal. O aumento progressivo do aporte de ferro, seja por via intestinal seja por via parenteral, leva impreterivelmente à condição patológica de sobrecarga de ferro (ANDREWS, 1999; PORTER, 2001).

Sobrecarga de ferro pode ser classificada como primária ou secundária. Sobrecarga de ferro primária ocorre em situações resultantes de defeito primário do processo de regulação da homeostasia do ferro no organismo. É o que se observa nos pacientes com hemocromatose hereditária (HH) (CAMASCHELLA, 2005)

Sobrecarga de ferro secundária é observada em doenças congênitas ou adquiridas que cursam com anemia hemolítica e/ou eritropoese ineficaz e requerem múltiplas transfusões de hemácias. É o que se observa nos pacientes com talassemia beta maior e em outras condições como anemia falciforme, síndrome mielodisplásica, anemia de Fanconi, etc (KUSHNER *et al.*, 2001).

O termo hemocromatose refere-se às doenças nas quais há aumento progressivo nos estoques corpóreos de ferro, o que ocasiona sua deposição nas células parenquimatosas do coração, hipófise, gônadas, pâncreas, fígado e outros órgãos, com posterior dano estrutural e funcional dessas estruturas (POWELL, 1997).

A hemocromatose pode ser **hereditária**, quando causada por uma anomalia genética, ou **secundária**, quando é provocada por outras doenças de sobrecarga de ferro. A hemocromatose hereditária é uma doença autossômica recessiva, associada, na maioria das

vezes, à mutação do gene HFE (*Classical Hereditary Hemochromatosis*) (FIX e KOWDLEY 2008; PIETRANGELO, 2009). O quadro clínico dessa doença é bastante variável e dependente do acúmulo de ferro, que ocorre lenta e progressivamente por várias décadas. A maioria dos doentes torna-se sintomática entre a 3ª e a 5ª década de vida, sendo que, nas mulheres, as manifestações clínicas são observadas cinco a dez anos mais tarde do que nos homens, devido à lactação e às perdas sanguíneas fisiológicas que ocorrem no período menstrual (ALLEN *et al.*, 2008; GURRIN *et al.*, 2008).

Os sintomas mais referidos são: fadiga (de 70% a 80%), artralgia/artrite (de 40% a 50%), dor abdominal (de 20% a 60%), diminuição da libido ou impotência sexual (de 20% a 50%), perda de peso (de 10% a 50%); os sinais clínicos mais frequentes para o diagnóstico são: hepatomegalia (de 50% a 90%), hiperpigmentação da pele (de 30% a 80%), hipogonadismo (de 20% a 50%), artropatia, esplenomegalia, diabetes mellitus, cirrose hepática, miocardiopatia e/ou arritmia. (WOJCIK *et al.*, 2002; AJIOCA e KUSHNER 2003; BULAJ *et al.*, 2000; ALLEN *et al.*, 2008; GURRIN *et al.*, 2008). O risco de carcinoma hepático é cerca de vinte vezes maior nos pacientes com hemocromatose e é mais frequente em pacientes com cirrose hepática (PIETRANGELO, 2009; DEUGNIER *et al.*, 2008).

O ferro em excesso é armazenado como ferritina e hemosiderina nos macrófagos do fígado, baço e medula óssea. O corpo possui capacidade limitada para excretar ferro. As pessoas com sobrecarga do mineral excretam maiores quantidades, especialmente nas fezes, para compensar parcialmente a absorção aumentada e reservas maiores (FAIRBANKS, 1999).

Para pacientes com sobrecarga de ferro significativa, a flebotomia semanal por 2 a 3 anos pode ser necessária para eliminar todo o excesso desse mineral. A recomendação de ingestão diária (IDR) não deve ser excedida, e em alguns casos, o consumo de ferro deverá estar, até mesmo, abaixo da recomendação. Outros distúrbios associados com sobrecarga de ferro são: as talassemias, anemias sideroblástica, hemolítica crônica, aplástica, eritropoiese ineficaz, porfiria cutânea tardia (KRAUSE e MAHAN, 2005).

2.3 A Acerola

A acerola ou cereja das Antilhas (*Malpighia glabra L.*, *Malpighia puniceifolia L.* ou *Malpighia emarginata DC.*) tem sua origem na América Central, especificamente, nas Antilhas (ASSIS *et al.*, 2001), sendo cultivada nos estados americanos do Havaí e Flórida, em alguns países da América Central e no Brasil (EMBRAPA, 2012a).

A aceroleira é uma planta rústica que se desenvolve bem em clima tropical e subtropical, resistente à temperatura próxima a 0°C, sendo a temperatura média anual em torno de 26°C ideal para o seu cultivo. Um regime pluviométrico entre 1200 e 1600mm anuais bem distribuídos proporciona uma maior produção de frutos com boa qualidade. A produtividade média em áreas não irrigadas está em torno de 10 a 15 t/ha/ano, podendo aumentar com o uso de irrigação, especialmente em regiões com déficit hídrico acentuado. Os solos mais indicados para o seu cultivo são os de textura argilo-arenoso, profundos e bem drenados (EMBRAPA, 2012b).

É uma planta de comportamento diferenciado; precoce e produtiva, produz durante quase todo o ano. O Brasil está entre os principais produtores de polpa de acerola, concentrando a produção nos estados do Ceará, Bahia, Pernambuco e São Paulo. Cerca de 70% da produção nacional é exportada para o Japão, Estados Unidos e países da Europa e América Central (EMBRAPA, 2009).

A aceroleira foi introduzida no Brasil no século passado, na década de 50. Seus plantios, porém, ganharam expressão econômica somente a partir da década de 90 desse mesmo século, com o aumento da demanda do produto tanto pelo mercado interno como externo, estando hoje difundidos em praticamente todo o território nacional. Esta afirmação é

sustentada por diversos autores, que atestam sua ampla distribuição geográfica no país (ARAÚJO *et al.*, 1994; BATISTA *et al.*, 1991 e 1994; FREIRE *et al.*, 1994; GONZAGA NETO *et al.*, 1994; LEDO E MEDEIROS, 1994; SANTOS E SANTOS, 1994; VIDA E BRANDÃO FILHO, 1994; WARUMBY *et al.*, 1994).

O Nordeste brasileiro é o maior produtor e exportador do fruto no país, devido ao clima tropical e subtropical. Existem mais de 42 variedades de acerola que são cultivadas no Brasil (ROSSITER *et al.*, 2008). Pelos dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a área cultivada no país era de mais de 11 mil hectares, com uma produção de aproximadamente 32.990 toneladas e um rendimento de 3.000 kg por hectare (EMBRAPA, 2004).

2.3.1 Aspecto nutricional

A acerola é considerada uma excelente fonte de vitamina C, além de conter pró-vitamina A, vitaminas do complexo B, como tiamina, riboflavina, piridoxina e niacina, além de minerais como cálcio, ferro e fósforo (EMBRAPA, 2012a). O consumo em expansão dessa fruta deve-se, basicamente, a seu elevado teor de ácido ascórbico que, em algumas variedades, alcança até 5.000 miligramas por 100 gramas de polpa. Índice que chega a ser cem vezes superior ao da laranja ou dez vezes ao da goiaba, frutas com alto conteúdo desse nutriente (EMBRAPA, 2012a).

Considerando alguns autores, os teores de ácido ascórbico na acerola são bastante variáveis, oscilando de 300 a 4.676 mg/100g de polpa (MUSTARD, 1946; ASENJO e MOSCOSO, 1950; JACKSON e PENNOCK, 1958; ROCHA, 1988; ITOO *et al.*, 1990; CAVALCANTE, 1991; MATSUURA, 1994).

Além de ser fonte potencial de vitamina C, a fruta também é rica em fitoquímicos como o betacaroteno e antocianinas (EMBRAPA, 2009). Os carotenoides presentes na acerola podem fornecer 720 a 4.540 unidades internacionais (UI) de vitamina A por 100 gramas de polpa do fruto, (GONZAGA NETO e SOARES, 1994). As antocianinas e os carotenoides são pigmentos antioxidantes que quando combinados são responsáveis pela coloração vermelha dos frutos da aceroleira (LIMA *et al* 2003). TANG (1995) sugere em sua pesquisa que vitamina C de fontes naturais, como a acerola, é mais biodisponível, quando comparada aos produtos sintéticos. É possível que a presença de flavonoides, substância encontrada nas plantas cítricas em geral, seja responsável pelo aumento da absorção de ácido ascórbico e pela sua estabilização (GUILLAND e LEQUEL, 1995). As informações nutricionais da acerola estão demonstradas no Quadro 8.

Quadro 8. Informações nutricionais de acerola

Nutrientes	Em 100g da fruta crua	Em 100g da polpa congelada
Kcal	33 Kcal	22 Kcal
Proteína	0,9g	0,6g
Carboidrato	8g	5,5g
Lipídio	0,2g	Traços
Vitamina C	941,4mg	623,2mg
Pró vitamina A	247 µgRE** ou 124 µgRAE*	192 µgRE** ou 96 µgRAE*
Riboflavina	0,04mg	0,10mg
Niacina	1,38mg	Traços
Potássio	165mg	112mg
Ferro	0,2mg	0,2mg
Fibra	1,5g	0,7g

Fonte:
Unicamp, 2011

*: Cálculo de RAE

(Equivalente de Atividade de Retinol):

1 RAE = 1 mg de retinol + 1/12 µg de *trans* beta-caroteno + 1/24 mg de *cis* beta-caroteno + 1/24 mg de outros *trans* carotenóides pró-vitamínicos A + 1/48 de outros *cis* carotenóides pró-vitamínicos A.

** Cálculo de RE (Equivalente de Retinol):

1 RE = 1 mg de retinol + 1/6 mg de *trans* beta-caroteno + 1/12 mg de *cis* beta-caroteno + 1/12 mg de outros *trans* carotenóides pró-vitamínicos A + 1/24 de outros *cis* carotenóides pró-vitamínicos A.

2.3.2 Aspecto tecnológico

A acerola é um fruto muito perecível para o seu consumo *in natura*. Os frutos quando maduros, deterioram-se rapidamente e devem ser consumidos até três dias após a colheita. Quando armazenados a 8°C com 90% de umidade relativa e embalados em sacos de polietileno, para preservar suas qualidades, a validade pode estender-se por até sete dias. (SEBRAE, 2012a).

No entanto, se a acerola for destinada a mercados distantes, sobretudo à exportação, precisa-se recorrer ao seu armazenamento sob congelamento a temperaturas iguais ou inferiores a -20°C, a única forma de se conservá-la por período mais longo, sem perdas mais significativas de sua qualidade, inclusive com a melhor conservação do seu conteúdo em vitamina C. Isso ocorre, porque a acerola é um fruto que apresenta maturação e senescência muito rápidas, o que dificulta o seu manuseio, armazenamento e conservação pós-colheita. Isso resulta de uma atividade de respiração muito intensa do fruto, sendo classificado entre os frutos climatéricos, isto é, aqueles que apresentam aumento acentuado da taxa de respiração na fase de amadurecimento, acompanhado por perda da firmeza (textura), mudança na coloração e o desenvolvimento do sabor e do aroma (EMBRAPA, 2012a).

Para o Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresa (SEBRAE, 2012b), a acerola é uma fruta de grande importância nutricional, no entanto, devido à alta perecibilidade e acidez de sua polpa, seu consumo *in natura* é restrito, e não se acredita no potencial de comercialização da acerola fresca, mas sim, na forma de produtos derivados, sendo, a maior parte, voltada para a produção, principalmente, de néctares e refrescos. Os frutos da aceroleira apresentam rendimento de polpa entre 49% e 75% do seu peso, com elevada acidez e pH em torno de 3,3.

Além dos néctares e refrescos, a polpa do fruto da aceroleira também é consumida sob a forma de geléias, xaropes, licores, doces em calda, produtos liofilizados e ultrafiltrados (indústria farmacêutica), picolés, sorvetes, balas, cápsulas de vitamina C, cosméticos, adicionado a sucos de outras frutas (mix) e diferentes outros produtos tanto no mercado externo como interno (EMBRAPA, 2012a).

Segundo MATSUURA e ROLIM (2002), devido ao seu elevado teor de vitamina C, a acerola vem sendo utilizada vantajosamente como agente enriquecedor no processamento de numerosos sucos e néctares de frutos pobres nessa vitamina.

Outro fator a ser considerado é a estabilidade do ácido ascórbico no fruto *in natura* e processado. Os principais fatores que podem afetar a degradação da vitamina C em suco de fruta são: o tipo de processamento, as condições de estocagem, a embalagem e características inerentes ao suco (ZERDIN *et al.*, 2003). Também se considera a influência da concentração de sais e de açúcar, concentração inicial de ácido ascórbico, carga microbiana, oxigênio, luz, catalisadores metálicos, enzimas e pH (LEE e COATES, 1999). Porém, de acordo com POLYDERA *et al.*, (2005), as reações de degradação da vitamina C em suco de fruta são predominantemente de natureza não-enzimática, e podem seguir dois caminhos consecutivos e/ou paralelos: aeróbico e anaeróbico.

Segundo BOBBIO e BOBBIO (1995) o ácido ascórbico é instável na presença de calor, álcali e oxidação, exceto em ácidos e sua oxidação leva à formação de furaldeídos, compostos que se polimerizam facilmente, com formação de pigmentos escuros. Em baixas temperaturas, também, podem ocorrer mudanças físicas, bioquímicas, microbiológicas e

nutricionais, que variam em função do tempo e da temperatura de armazenamento dos frutos congelados (EMBRAPA, 2012a). Mas, segundo SEMENSATO (1997), mesmo após o processamento da acerola, os produtos ainda retêm alto conteúdo de vitamina C.

O processamento afeta o conteúdo, a atividade e a biodisponibilidade dos componentes bioativos (NICOLI *et al.*, 1999). As antocianinas, pigmentos muito instáveis, podem ser degradadas durante o processamento e a estocagem de alimentos com consequente alteração da cor (ALVES *et al.*, 1997). Além da temperatura, outros fatores incluindo pH e oxigênio também afetam a estabilidade desses pigmentos (CHAN e YAMAMOTO 1994). A proteção contra a luz também é importante (LADEROZA e DRAETTA, 1991). O congelamento, um dos principais métodos de conservação de frutos, bastante utilizado na conservação da polpa de acerola, descaracteriza completamente a coloração natural do fruto (ALVES *et al.*, 1997). Em suco de acerola pasteurizado, também ocorre modificação em sua coloração, que passa de vermelho-brilhante a amarelo laranja (CONCEIÇÃO, 1997).

Diferente da suspeita de GUILLAND (1995), de que a presença de flavonoides seja responsável pelo aumento da absorção de ácido ascórbico e pela sua estabilização, a interação de antocianinas com a vitamina C causa a degradação de ambos os compostos, com descoloração dos pigmentos (BOBBIO e BOBBIO, 1992).

Com relação aos carotenoides, são em sua grande maioria termolábeis, e uma das maiores causas da perda de cor durante a estocagem é a oxidação dos mesmos, que é acelerada pela luz, temperatura e presença de catalisadores metálicos (SARANTÓPOULOS *et al.*, 2001). Sua natureza não saturada os torna susceptíveis à isomerização e oxidação resultando em perda de cor, que é mais pronunciada, seguida de oxidação (ESKIN, 1990).

2.4 Fortificação de alimentos

De acordo com a Portaria nº 31 de 13/01/1998, considera-se alimento fortificado/enriquecido ou simplesmente adicionado de nutrientes todo alimento ao qual for adicionado um ou mais nutrientes essenciais contidos naturalmente ou não no alimento, com o objetivo de reforçar o seu valor nutritivo e ou prevenir ou corrigir deficiência(s) demonstrada(s) em um ou mais nutrientes, na alimentação da população ou em grupos específicos da mesma (BRASIL, 1998).

A fortificação de alimentos refere-se à adição de micronutrientes em alimentos processados, aplicável quando o acesso e a disponibilidade de alimentos são limitados e, portanto, não há oferta de nutrientes em níveis adequados na dieta associado ao nível de carência nutricional da população. Apresenta-se como intervenção de saúde pública de custo-efetividade, ou seja, a médio e longo prazo pode elevar o status de micronutrientes na população a custo razoável (ALLEN, 2006).

Para a fortificação de alimentos com ferro no Brasil, a ANVISA através da RDC nº 344/2002 (ANVISA, 2002) permite a utilização de compostos de grau alimentício, nas formas de sulfato ferroso desidratado (seco); fumarato ferroso; ferro reduzido – 325mesh Tyler; ferro eletrolítico – 325mesh Tyler; EDTA de ferro e sódio (NaFeEDTA); ferro bisglicina quelato e outros compostos de biodisponibilidade não inferior a dos compostos permitidos.

O ferro é o mineral mais difícil de ser adicionado aos alimentos, pois os compostos com maior biodisponibilidade são aqueles que causam maiores alterações sensoriais ao produto (HURRELL, 2002). Segundo a Portaria nº 31 de 13/01/1998 do Serviço de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (BRASIL, 1998), a adição de nutrientes essenciais não deve alcançar níveis terapêuticos. Para Alimentos Enriquecidos ou Fortificados é permitido o enriquecimento ou fortificação desde que 100mL ou 100g do produto, pronto para consumo, forneçam no mínimo 15% da IDR de referência, no caso de líquidos, e 30% da IDR de

referência, no caso de sólidos. Dessa forma poderão utilizar no rótulo o termo: “alto teor de” ou “rico em”.

2.4.1 Fortificação com ferro quelato

Desde a década de 90 do século passado, pesquisas nacionais mostraram sucesso no controle da anemia em pré-escolares ao utilizar alimentos fortificados com ferro, sendo o ferro quelato um dos compostos mais empregados (TORRES, 1996). Isso ocorre em função de sua absorção ser muito superior às formas inorgânicas de ferro, sendo capaz de reverter o processo anêmico em prazos menores em relação ao sulfato ferroso (forma de menor absorção). Doses variando entre 150 a 200mg/dia de ferro glicina quelato contém de 27-36mg de ferro elementar (PÓVOA, 1995).

O estudo de PÓVOA (1995) comparou o tempo necessário para a recuperação do hematócrito de pacientes com anemia ferropriva e obteve o seguinte resultado: enquanto que o sulfato ferroso - 500mg/dia - o tempo necessário foi de 45-60 dias, com o ferro glicina quelato, em doses de 150mg (cerca de 27mg de ferro elementar), levou-se apenas de 20 a 30 dias.

Outros estudos relacionados à fortificação de alimentos, também demonstraram redução da prevalência de anemia com a utilização do ferro quelado, dentre eles pode-se citar o estudo de TORRES (1995), o qual fortificou leite fluido com 3mg de ferro quelato oferecido por 12 meses à crianças menores de 2 anos de idade, com redução da prevalência de anemia de 62,3% para 26,4% (TORRES, 1995).

TUMA *et al.* (2003) fortificou farinha de mandioca com ferro quelato, a qual oferecia 1mg, 2mg e 3mg de ferro/dia à 3 diferentes grupos de pré-escolares de 2 a 6 anos de idade por um período de 120 dias. O quarto grupo recebeu placebo. A prevalência de anemia no grupo total reduziu de 22,7%, no início do estudo, para 8% no final. No grupo 1, passou de 25% para 15%; no grupo 2 passou de 21% para 0%; no grupo 3, de 32% para 16%; e, no grupo 4, de 12% para 0%.

DE PAULA & FISBERG (2001) fortificaram açúcar com ferro triglicinato quelato adicionado a suco de laranja, oferecido a crianças com idade entre 10 e 48 meses. As crianças foram distribuídas em dois grupos. O grupo 1 recebeu açúcar fortificado com 10 mg de ferro/kg e o grupo 2 recebeu fortificação de 100 mg/kg. Vinte gramas de ambos os tipos de açúcar foram ingeridos por dia, ofertados no suco. Após seis meses de consumo, foi observado aumento médio de 0,4 g/dL de hemoglobina nos dois grupos. Analisando somente as crianças com anemia (Hb inicial < 11g/dL), houve incremento médio da hemoglobina de 1,4g/dL e uma redução da prevalência de anemia de 33,3% para 18,3%.

VELLOZO *et al.* (2003) fortificaram pão tipo hot dog com 3 mg de ferro aminoquelato/100g oferecido por 34 dias a crianças de 2 a 6 anos de idade. A ingestão média do pão foi calculada através das anotações diárias do número total de crianças que ingeriam e do total do seu resto alimentar. Após o período de intervenção, o grupo suplementado apresentou valor de hemoglobina maior ($p < 0,05$) e queda de 21,0% para 12,6% na prevalência de anemia; já o não suplementado, valor de hemoglobina não significativo ($p > 0,05$) e aumento de 13,6% para 18,2% na prevalência de anemia. Quanto ao incremento no valor médio de hemoglobina, observou-se que, após o período de intervenção com o pão enriquecido com ferro, o grupo suplementado apresentou valor médio significativamente mais elevado (0,33g/dL) do que o grupo não suplementado (0,02g/dL), ou seja, o grupo suplementado aumentou o valor médio de hemoglobina 16,5 vezes mais que o não suplementado.

BAGNI *et al.* (2009) fortificaram arroz branco com 3,78mg/90g uma vez por semana durante 16 semanas. Considerando um consumo diário de 90g do arroz, ao final da

intervenção, o aporte total seria de 60,48mg de ferro adicional. As crianças que receberam quantidade total de ferro $\geq 53,76$ mg pelo arroz fortificado tiveram maior aumento ($p < 0,05$) na hemoglobina em relação aquelas que receberam quantidades inferiores (0,94g/dL e 0,39g/dL respectivamente). Os autores sugerem que esse tipo de intervenção pode ser útil no controle da anemia quando o consumo do alimento fortificado é adequado, no entanto o consumo foi inferior ao esperado.

É muito importante a seleção correta do tipo de composto que vai ser utilizado na fortificação com ferro, assim como o alimento usado para veículo de transporte, já que os alimentos podem interferir na absorção dos elementos, diminuindo sua biodisponibilidade (SALGUERIO, *et al.*, 2002).

Embora o sulfato ferroso tenha custo mais baixo o ferro quelato apresenta biodisponibilidade 5 a 7 vezes maior (ASHMEAD, 2001) e, por isso, pode ser utilizado em quantidades e períodos de tempo menores, trazendo uma vantagem econômica mesmo que o preço por quilo desse composto seja superior ao do sulfato ferroso.

A fortificação de alimentos tem se mostrado uma ação de grande sustentabilidade para o controle da anemia por carência de ferro em todo o mundo e deve ser incentivada.

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1 Material

Os materiais utilizados no experimento foram: acerolas (*Malpighia glabra*, L.) maduras, frescas e sãs adquiridas na Central de Abastecimento do Rio de Janeiro (CEASA) em Fevereiro/2012, sacarose e ferro quelato 20% (em pó), fornecido pelo fabricante Orgolabs Laboratórios LTDA.

3.2 Método

3.2.1 Manuseio da matéria prima

Inicialmente as frutas foram selecionadas e pré lavadas em água corrente. Após esse processo as frutas foram sanificadas em solução de 50ppm de cloro ativo durante 20 minutos. As acerolas foram transferidas à despulpadeira, onde foi obtida a polpa, sendo descartadas as

cascas e sementes. Após verificação de seu rendimento, uma parcela da polpa de acerola “*in natura*”, foi reservada para as análises químicas, físicas e físico-químicas no produto isento de processamento térmico; enquanto a parte restante foi utilizada para a pasteurização e fortificação com ferro.

3.2.2 Preparo da polpa de acerola fortificada com ferro quelato

A polpa de acerola “*in natura*” foi dividida em 3 partes iguais e submetidas a três tratamentos: tratamento 1 (T1), o qual representou o controle, não sendo fortificado com ferro; tratamento 2 (T2) o qual foi fortificado com 20mg de ferro quelato por 100g de polpa de acerola, correspondendo à $4\text{mg} \cdot 100^{-1}\text{g}$ de ferro, e tratamento 3 (T3) o qual foi fortificado com 25mg de ferro quelato por 100g de polpa de acerola, correspondendo à $5\text{mg} \cdot 100^{-1}\text{g}$ de ferro. Após adição do ferro quelato procedeu-se a completa homogeneização da mistura em liquidificador industrial, a fim de garantir a correta distribuição do mineral no produto. Em seguida, os três tratamentos foram pasteurizados à 65°C por 30min e posteriormente resfriados a temperatura de 6 a 8°C , sendo envasados em garrafas de polietileno tereftalato (PET) de 500mL (para a análise sensorial) e em potes plásticos de 100g (para as demais análises). Após o envase, as embalagens foram devidamente identificadas e armazenadas sob congelamento à -18°C por até 180 dias.

As concentrações de ferro utilizadas para a fortificação, foram definidas com base na Portaria nº 31 de 13/01/1998 (BRASIL, 1998), a qual estabelece que em 100ml do alimento fortificado (na ocasião polpa de acerola) deve conter no mínimo 15% da IDR de referência. Os cálculos foram feitos baseado na IDR de mulheres adultas (IOM, 2001).

O fluxograma do desenvolvimento da polpa de acerola pasteurizada e fortificada com ferro quelato pode ser visualizado na Figura 1.

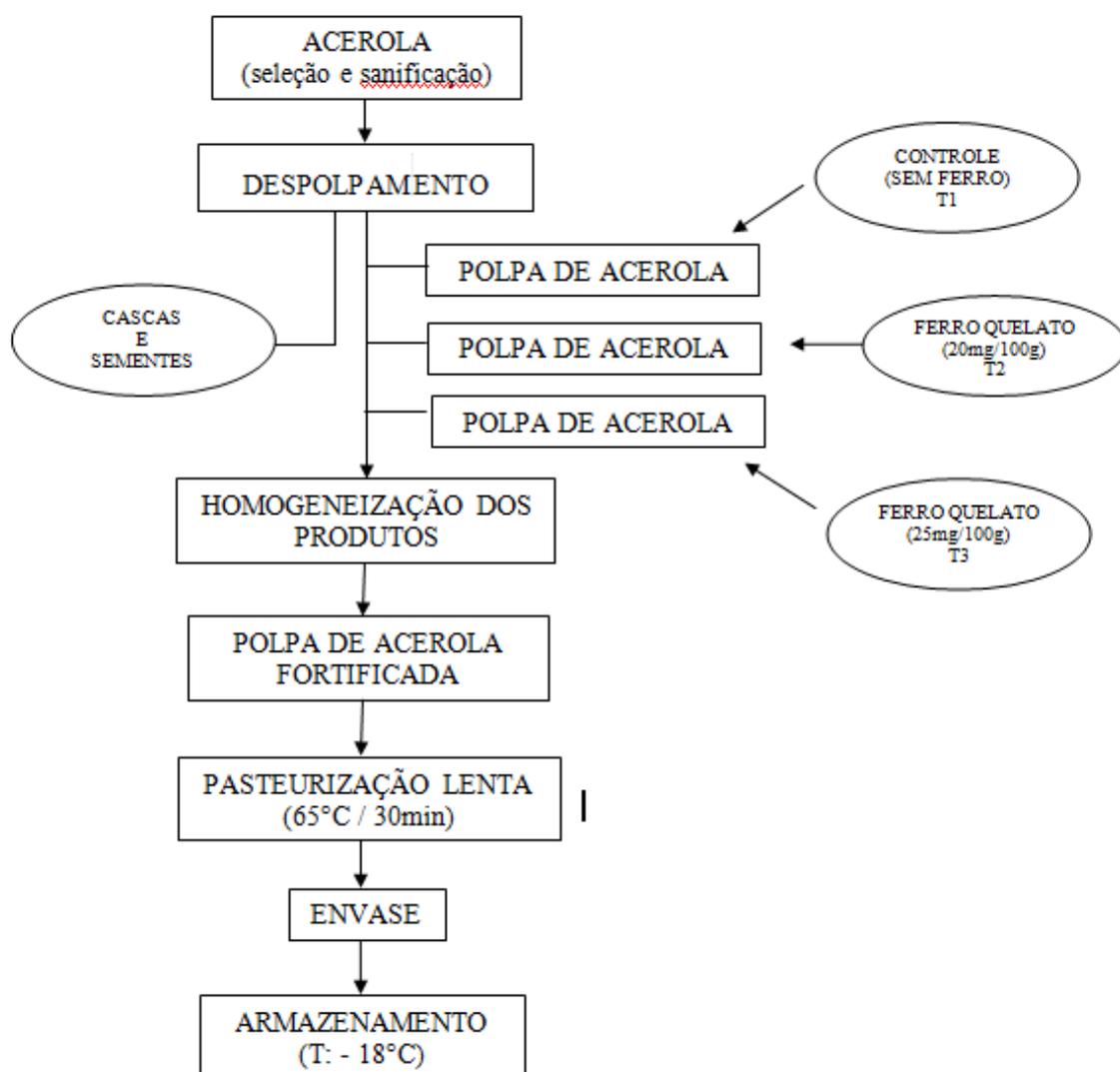


Figura 1: Fluxograma do desenvolvimento da polpa de acerola pasteurizada e fortificada com ferro quelato

3.3.3 Análises químicas, físicas e físico-químicas

As análises químicas, físicas e físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Processamento de Frutas e Hortaliças do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). As determinações foram realizadas na matéria-prima (polpa de acerola “*in natura*”) e nos produtos formulados (T1, T2 e T3) no tempo zero e ao longo dos 180 dias de armazenamento (Anexo A). Algumas determinações foram realizadas com periodicidade mensal e apenas a determinação de ácido ascórbico foi realizada quinzenalmente. As análises realizadas no material em estudo foram:

3.3.3.1 Sólidos Solúveis Totais (SST)

Os teores de SST foram determinados à 20°C com o auxílio de um refratômetro de bancada e os resultados expressos em % de sólidos solúveis totais ou °Brix (IAL, 2008).

3.3.3.2 pH

O pH foi determinado com auxílio de potenciômetro com ajuste automático de temperatura, devidamente padronizado com soluções tampões pH 7,0 e pH 4,0 em alíquotas previamente homogeneizadas. Após a estabilização dos resultados expressos no painel do equipamento, os dados mensurados foram expressos em valores reais pH (IAL, 2008).

3.3.3.3 Acidez Total (AT)

A AT foi realizada através do método potenciométrico, devido a coloração intensa da amostra, utilizando-se hidróxido de sódio e um potenciômetro devidamente padronizado com soluções tampões pH 7,0 e pH 4,0 em alíquotas previamente homogeneizadas. O resultado foi expresso em gramas de ácido cítrico por 100 mL de amostra (BRASIL, 2000). A relação SST/AT foi obtida pela razão entre os valores de SST e AT expressa em ácido orgânico. Essa relação SST/AT é aplicada para sucos de frutas integrais e polpas de frutas, sendo utilizada como indicação do grau de maturação da matéria prima (IAL, 2008).

3.3.3.4 Teor de Glicídios Totais (redutores e não redutores)

A determinação qualitativa e quantitativa dos teores de açúcares solúveis (sacarose, glicose e frutose) foi realizada pelo método Lane Eynon (IAL, 2008).

3.3.3.5 Fibra total (solúvel e insolúvel)

As frações de fibra insolúvel e solúvel foram determinadas segundo metodologia proposta por LEE *et al.* (1992). A fibra alimentar total (FAT) foi calculada pelo somatório de fibra solúvel e fibra insolúvel e os resultados foram expressos em g de fibra solúvel ou insolúvel ou total. 100⁻¹g de amostra.

3.3.3.6 Determinação do Mineral Ferro

O conteúdo de ferro foi determinado a partir de amostras secas e calcinadas em mufla a 550°C por período mínimo de duas horas e as cinzas dissolvidas em HCl 2mol/L. A determinação foi realizada por espectrofotometria a 520nm, sendo dividida em 2 etapas: primeiro foi feita a curva de calibração com sulfato ferroso amoniacal, sendo conhecida exatamente a concentração de ferro e depois foi feita a leitura das amostras após reação colorimétrica, com 2,2 dipiridil como cromóforo. A intensidade da cor é diretamente proporcional à quantidade de ferro presente na amostra (AOAC, 2000). O equipamento usado foi um espectrofotômetro modelo UV-1601 – Shimadzu®. Para a determinação do mineral ferro, foi construída a curva padrão, gráfico de regressão linear, (Figura 4) a partir dos valores de absorvância encontrados para as soluções padrão analisadas em espectrofotômetro, relacionando-se à concentração do padrão analisado, eixo “x”, com a resposta analítica (absorvância), eixo “y”. Ajustando-se os dados ao modelo de regressão linear obteve-se a equação da reta y e o coeficiente de regressão (R²). Sendo possível, então, a determinação da concentração de ferro nas amostras. Os resultados foram convertidos para base úmida e expressos em mg de ferro. 100⁻¹ g de amostra.

3.3.3.7 Determinação de Ácido Ascórbico

a) Método Titulométrico

O teor de ácido ascórbico foi obtido por titulação da amostra em solução de ácido oxálico, utilizando como titulante solução de 2,6 diclorofenolindofenol sódico (DCFI) a partir

do método de Tillmans modificado, sendo o resultado expresso em miligramas de ácido ascórbico. 100^{-1} mL de polpa (BENASSI & ANTUNES, 1988). Esta análise foi realizada no produto *in natura* e quinzenalmente nos produtos fortificados (T1, T2 e T3) por 180 dias.

b) Método Cromatográfico

O teor de ácido ascórbico foi obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), usando um Cromatógrafo modelo Class VP – Shimadzu® equipado com degaseificador, bomba quaternária, injetor Reodhyn ajustado para 20 μ L e detector uv/visível ajustado a 229 nm e 254 nm para ácido ascórbico (FACCO, 2006). Para a separação cromatográfica foi utilizada uma coluna de fase reversa C18 (150 x 4,6 mm ID, 3 μ m), solução aquosa de KH₂PO₄ 0,01M como fase móvel, com pH ajustado para 2,6 com ácido fosfórico na vazão de 0,5 mL/min. Esta análise foi realizada apenas ao final dos 180 dias nos produtos fortificados (T1, T2 e T3).

3.3.3.8 Determinação de Carotenóides Totais

Foram pesados 8g de amostra, a qual foi macerada em almofariz de porcelana com 3g de celite e 50mL de acetona utilizando pistilo, a mistura foi filtrada a vácuo em funil de vidro com placa sinterizada, até que a matriz não apresentasse coloração característica de carotenóides. O extrato líquido foi transferido para funil de separação contendo éter de petróleo. A mistura foi então lentamente lavada com água destilada. O extrato etéreo foi seco com sulfato de sódio anidro, deixado em repouso por 15 minutos em geladeira e recolhido em balão volumétrico de 100mL e avolumado com éter de petróleo. A absorvância da solução foi lida no UV/Visível (360nm a 700nm) em Espectrofotômetro modelo UV-1601 – Shimadzu®. (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). Essa metodologia determina carotenóides totais expressos através do carotenóide majoritário do alimento. De acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Carotenóides em Alimentos (RODRIGUEZ-AMAYA, 2008) o β -caroteno é o carotenóide majoritário da acerola, portanto, os resultados foram apresentados em carotenóides totais expressos em β -caroteno.

3.3.3.9 Determinação de Antocianinas Totais

A quantificação de antocianinas foi realizada pelo método do pH diferencial (WROLSTAD & GIUSTI, 2001). Alíquotas foram pesadas e transferidas para balões volumétricos e avolumadas com dois sistemas tampão: cloreto de potássio/ ácido clorídrico para o pH 1,0 (0,025M) e cloreto de potássio/acetato de sódio para o pH4,5 (0,4M). Após 30 minutos em repouso, protegidas da luz, foram filtradas em papel de filtro (faixa preta) e logo em seguida foram efetuadas as medidas em máximos de absorção na região visível a 510 nm e a 700 nm utilizando o Espectrofotômetro modelo UV-1601 – Shimadzu®. Após o cálculo da absorvância, a concentração dos pigmentos antociânicos monoméricos foi calculada e representada em cianidina-3-glicosídeo. A cianidina-3-glicosídeo é largamente usada como padrão de antocianinas em diversos procedimentos experimentais devido à abundância desta antocianina em frutas vermelhas (TERCI, 2004).

3.3.4 Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas pelo Laboratório de Análise de Alimentos Bioqualitas, sendo pesquisados bactérias mesófilas aeróbias, bolores e leveduras, coliformes a 35 °C e a 45 °C e *Salmonella spp.* A interpretação dos resultados foi realizada

com base na RDC/ANVISA nº12/2001 - Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos (BRASIL, 2001) e Instrução normativa nº 1 de 07/01/2000 (BRASIL, 2000) que fixa os padrões de identidade e qualidade para polpas de frutas.

3.3.5 Análise Sensorial

No preparo das amostras para a análise sensorial, cada tratamento foi diluído em água filtrada na proporção 1:3 (v:v) e adicionados de 11% de sacarose (néctar). A análise sensorial foi realizada em laboratório em cabines individuais com lâmpadas fluorescentes (luz do dia), com frequência mensal, durante 6 meses. Foram oferecidas três amostras, sendo uma controle (T1) e as outras duas (T2 e T3), fortificadas com ferro em diferentes quantidades. As amostras foram codificadas com 3 dígitos e oferecidas em copos plásticos transparentes (MEILGAARD, 1987) em blocos completos à 75 provadores adultos, não treinados, de ambos os sexos. Esses indivíduos foram submetidos ao teste afetivo de aceitação através de escala hedônica com 9 pontos, sendo o valor 9 correspondente à avaliação “gostei muitíssimo” e 1 à avaliação “desgostei muitíssimo”, bem como a avaliação da intenção de compra, utilizando-se uma escala de 3 pontos em que 1 – compraria; 2 – talvez compraria e 3 – não compraria (Anexo 2). Foram avaliados os atributos sabor, cor, aroma e qualidade geral. Todos os participantes da análise sensorial preencheram um questionário com dados sócio-demográficos (Anexo 3) para determinar o perfil do provador e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, o qual confirmou a participação no estudo.

Para se avaliar os possíveis efeitos dos tratamentos utilizados (T1, T2 e T3) e dos períodos de avaliação (1º ao 6º mês) sobre as variáveis analisadas (sabor, cor, aroma, qualidade geral e intenção de compra) utilizou-se como modelo experimental um delineamento em blocos ao acaso.

Para o cálculo do Índice de Aceitabilidade (IA) foi adotada a expressão: $IA (\%) = A \times 100 / B$, onde A = nota média obtida para o produto e B = nota máxima da escala hedônica (DUTCOSKY, 1996).

Este trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), obtendo a aprovação do ponto de vista ético para a realização da análise sensorial.

3.3.6 Análise estatística

Os resultados foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA), complementada pelo teste de Tukey, ambos ao nível de 5% ($p < 0,05$) de significância (VIEIRA, 2006), com o auxílio dos programas Microsoft Office Excel, versão 2007 e XLSTAT (ADDINSOFT, 2005). Na análise sensorial, as amostras que obtiveram índice de aceitabilidade (IA) igual ou superior 70% foram consideradas satisfatórias.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises químicas, físicas e físico-químicas

As etapas de seleção e despulpamento das acerolas resultaram em um rendimento em polpa de 80%. Quanto à caracterização da polpa de acerola *in natura*, os resultados obtidos podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1. Valores médios obtidos nas determinações químicas, físicas e físico-químicas realizadas na polpa de acerola *in natura*

Parâmetros Determinados	Resultados (X ± DP)	Coefficiente de variação (%)
pH	3,64 ± 0,04	1,02
Sólidos solúveis totais (%)	6,3 ± 0,27	4,35
Acidez em ácido cítrico (%)	0,9 ± 0,06	0
Relação SST/AT	7,0	
Glicídios totais (g.100g ⁻¹)	6,45 ± 0,02	0,57
Glicídios redutores (g.100g ⁻¹)	3,35 ± 0,12	3,48
Fibras totais (g.100g ⁻¹)	1,61	
Fibras solúveis (g.100g ⁻¹)	0,6 ± 0,01	1,71
Fibras insolúveis (g.100g ⁻¹)	1,01 ± 0,05	4,54
Ácido ascórbico (mg.100g ⁻¹)	3.941,2 ± 123	3,12
Antocianinas totais (mg.100g ⁻¹)	32,3 ± 0,3	0,93

X: média de 5 replicatas e DP: desvio padrão

De acordo com a Instrução Normativa n° 01 de 7 de Janeiro de 2000 (BRASIL, 2000) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), polpa ou purê de acerola é o produto não fermentado e não diluído, obtido da parte comestível da acerola (*Malpighia, spp.*) através de processo tecnológico adequado. Conforme a determinação do MAPA, o produto apresentou coloração avermelhada, sabor ácido e aroma próprio.

A polpa de acerola utilizada na presente pesquisa estava dentro dos padrões estabelecidos pela referida Instrução Normativa, a qual estabelece para polpa ou purê de acerola, valores mínimos de 5,5 °Brix, 0,80% de acidez total expressa em ácido cítrico, pH mínimo de 2,8, glicídios totais entre 4g.100g⁻¹ e 9,5g.100g⁻¹ e ácido ascórbico mínimo de 800mg.100g⁻¹.

Ao calcular a relação SST/AT obteve-se o valor de 7,0. Essa relação é aplicada para sucos de frutas integrais e polpas de frutas. Esse método baseia-se no cálculo da relação Brix por acidez expressa em ácido orgânico. Essa relação é utilizada como indicação do grau de maturação da matéria prima (IAL, 2005). Segundo CHITARRA & CHITARRA (2005), a relação SS/AT é uma das formas mais utilizadas para a avaliação do sabor, sendo mais representativa que a medição isolada de açúcares ou da acidez, indicando o grau de equilíbrio entre açúcares e ácidos orgânicos do fruto.

Em relação às fibras totais obteve-se valor de 1,61g.100g⁻¹, ou seja, superior ao 0,7g.100g⁻¹ citado na Tabela de Composição de Alimentos da UNICAMP (TACO, 2011). Quando às fibras solúveis e insolúveis, este trabalho obteve valores de 0,6 ± 0,01g.100g⁻¹ e 1,01 ± 0,05g.100g⁻¹ respectivamente. Os teores de fibras totais desse tipo de alimento tende a sofrer variações em função do cultivar analisado, representatividade da amostra, condições de cultivo, método analítico, entre outros (SALGADO *et al.*, 1999).

O conteúdo de antocianinas foi de $32,3 \pm 0,3 \text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$. AGUIAR (2001) encontrou teores variando de $0,37 \text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ a $38,38 \text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, com média de $13,51 \text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, em frutos comercialmente maduros de 75 clones de aceroleira.

Com relação ao ácido ascórbico o resultado obtido foi de $3941,2 \pm 123 \text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$. Considerando alguns autores, os teores de ácido ascórbico na acerola são bastante variáveis, de 300 a $4.676 \text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de polpa (MUSTARD, 1946; ASENJO & MOSCOSO, 1950; JACKSON & PENNOCK, 1958; ITOO *et al.*, 1990). O teor de ácido ascórbico da polpa de acerola em estudo ao longo dos 180 dias pode ser visualizado na Tabela 2.

Tabela 2. Variação mensal do teor de ácido ascórbico da polpa de acerola *in natura* durante 180 dias de armazenamento

Tempo (dias)	Ácido ascórbico ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$)	Coefficiente de Variação (%)
0	$3.941,2^c \pm 123$	3,12
30	$4.107,14^{b,c} \pm 107$	2,61
60	$4.285,71^{a,b} \pm 70$	1,63
90	$4.447,67^a \pm 130$	2,92
120	$4.230,77^{a,b} \pm 107$	2,53
150	$2.828,28^d \pm 126$	4,46
180	$1.666,67^e \pm 63$	3,78

Médias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

De acordo com o demonstrado na Tabela 2, ao final dos 180 dias de armazenamento houve redução ($p < 0,05$) do teor de ácido ascórbico na proporção de 57,7% em relação ao conteúdo inicial. No entanto, no 60º dia foi constatado um aumento ($p < 0,05$) do teor de ácido ascórbico (8,7%), sendo mantido estável no 90º dia (12,9%) até o 120º dia (7,3%). Após este período os níveis de ácido ascórbico decresceram significativamente ($p < 0,05$) até o final da observação. Esse processo pode ser melhor visualizado na Figura 2.

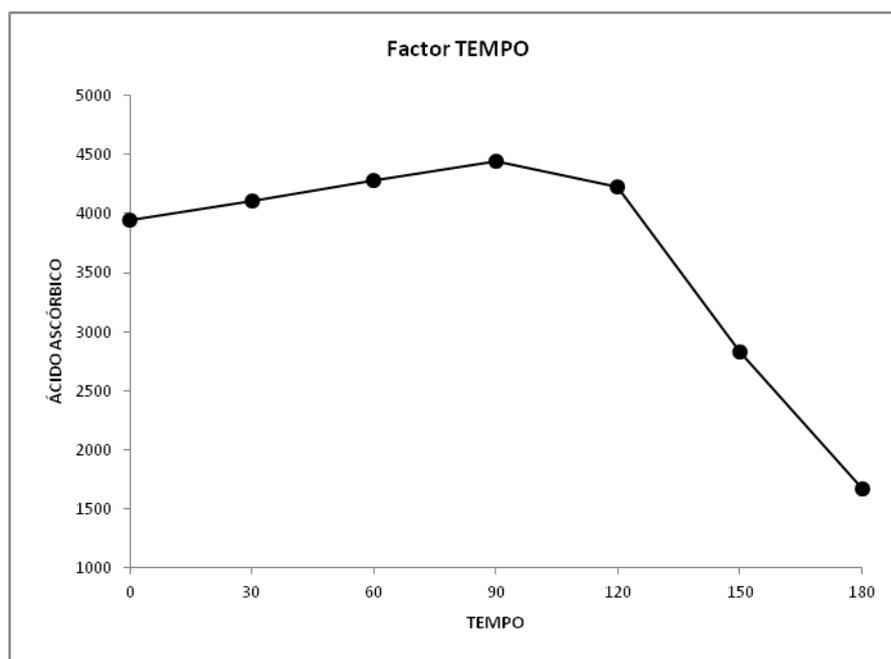


Figura 2. Variação mensal do teor de ácido ascórbico da polpa de acerola *in natura* durante 180 dias de armazenamento

Sabendo que para homens adultos a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de vitamina C é de 90mg (IOM, 2000), pode-se observar que apesar da grande perda de vitamina C após os 180 dias de armazenamento da polpa *in natura*, uma porção de 100 mL do produto estudado ainda pode fornecer 1.666,67mg de ácido ascórbico, o que representa 1.852% da IDR, caracterizando este produto como excelente fonte dessa vitamina.

O ácido L-ascórbico é um composto biologicamente ativo, instável, facilmente e reversivelmente oxidado a ácido L-desidroascórbico, também biologicamente ativo (ROJAS & GERSCHENSON 1997). Essa forma oxidada sofrendo a hidrólise do anel lactona, produz irreversivelmente o ácido 2,3-dicetogulônico (O'KEEFE, 2001), como pode ser visto na Figura 3.

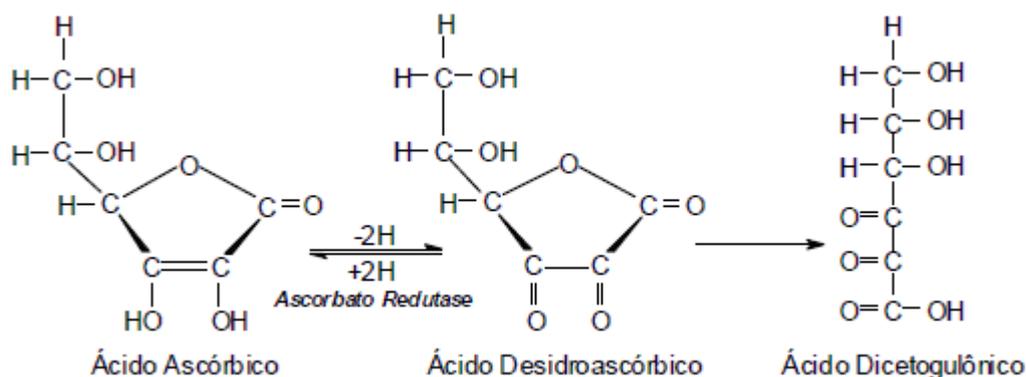


Figura 3. Reação de oxidação do ácido ascórbico a ácido desidroascórbico e de hidrólise deste último ao ácido diketogulônico.

Fonte: TAVARES, 2003.

Essa vitamina é um derivado de hexose sintetizada por vegetais e pela maioria dos animais, a partir da glicose e da galactose (KRAUSE & MAHAN 2005).

Alguns autores determinaram a possibilidade de aumento do teor de ácido ascórbico em mamões: BARATA-SOARES *et al.* (2004) descreveram que o conteúdo do ácido ascórbico no mamão maduro foi maior em relação ao verde porque há predomínio da síntese no período de amadurecimento do fruto. Os dados desses autores demonstraram que L-galactose, L-galactono-1,4-lactona são precursores eficientes do ácido ascórbico e também que há síntese do ácido ascórbico a partir da manose, galactose e glicose não só para o mamão como também para a goiaba de polpa branca e vermelha, morango, brócolis e pimentão verde. Esse fato foi comprovado por outros estudos realizados em 2006 por BRON & JACOMINO (2006) e em 2008 por GOULÃO & OLIVEIRA (2008), os quais, também, observaram o aumento do ácido ascórbico em mamões. Novas pesquisas são necessárias para justificar este comportamento desta vitamina na polpa de acerola congelada.

No entanto, interferentes redutores, corantes como as antocianinas, compostos fenólicos e flavonoides cuja concentração aumenta a medida que o fruto amadurece, podem interferir no método titulométrico utilizado para a determinação do ácido ascórbico, devido a intensificação da cor rosa (GUÇLU *et al.*, 2004). No geral, observa-se com frequência perdas no conteúdo de ácido ascórbico e não o aumento. A literatura cita perdas em torno de 20 a 30% (ITOO *et al.*, 1990) para sucos de acerola armazenados durante 180 dias.

Os resultados obtidos após a pasteurização e fortificação da polpa de acerola estão expressos na Tabela 3, onde é possível visualizar uma comparação entre os valores encontrados no produto *in natura* e nos tratamentos T1, T2 e T3. Quanto à avaliação da estabilidade, análises realizadas com periodicidade mensal, encontram-se apresentadas na Tabela 4. Os resultados obtidos para pH, sólidos solúveis totais e acidez total titulável estão

todos de acordo com os padrões definidos pela Instrução Normativa n° 01 de 07/01/2000 do MAPA (BRASIL, 2000).

Tabela 3. Comparação entre os resultados obtidos nas análises químicas, físicas e físico-químicas realizadas na polpa de acerola “*in natura*” e após a pasteurização e fortificação (T1, T2 e T3)

Parâmetros Analisados	Polpa de acerola <i>in natura</i>	T1	T2	T3
pH	3,64 ^a ±0,04	3,67 ^a ±0,04	3,76 ^b ±0,02	3,77 ^b ±0,01
Sólidos solúveis totais (%)	6,3 ^a ±0,27	9,0 ^b ±0,1	9,5 ^c ±0,1	9,5 ^c ±0,1
Acidez em ácido cítrico (%)	0,9 ^a ±0,06	1,39 ^b ±0,07	1,4 ^b ±0,07	1,49 ^b ±0,0
Relação SST/AT	6,94 ^a ±0,32	6,48 ^a ±0,33	6,78 ^a ±0,40	6,37 ^a ±0,0
Glicídios totais (g. 100g ⁻¹)	6,45 ^a ±0,02	6,57 ^a ±0,04	6,39 ^a ±0,34	6,39 ^a ±0,25
Glicídios redutores (g. 100g ⁻¹)	3,35 ^a ±0,12	3,78 ^b ±0,04	3,79 ^b ±0,10	3,72 ^b ±0,10
Fibras totais (g. 100g ⁻¹)	1,61 ^a	1,61 ^a	1,62 ^a	1,61 ^a
Fibras solúveis (g. 100g ⁻¹)	0,6 ^a ±0,01	0,61 ^a ±0,01	0,62 ^a ±0,03	0,59 ^a ±0,03
Fibras insolúveis (g. 100g ⁻¹)	1,01 ^a ±0,05	1,0 ^a ±0,04	1,00 ^a ±0,04	1,02 ^a ±0,03
Ácido ascórbico (mg. 100g ⁻¹)	1.666,7 ^a ±63	1.628,6 ^b ±22,6	1.549,3 ^{b,c} ±13,6	1.384,5 ^c ±0,0
Antocianinas totais (mg. 100g ⁻¹)	32,3 ^a ±0,3	8,42 ^b ±1,16	7,08 ^{b,c} ±0,77	9,30 ^c ±0,58
Carotenoides totais (µg. g ⁻¹)	1,21 ^a ±8	1,06 ^a ±11	1,03 ^a ±8,1	0,94 ^a ±12,4
Teor de ferro (mg. 100g ⁻¹)	0,16 ^a ±0,03	0,15 ^a ±0,01	4,32 ^b ±0,03	5,15 ^c ±0,02

Médias com as mesmas letras na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 4. Análises realizadas nos tratamentos T1, T2 e T3 com periodicidade mensal, durante 180 dias de armazenamento

Tratamentos	Análises	Tempo 0	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	150 dias	180 dias
T1	pH	3,67 ^{c,d}	3,86 ^b	4,3 ^a	3,82 ^{b,c}	3,61 ^d	3,37 ^e	3,01 ^f
		±0,04	±0,04	±0,01	±0,04	±0,07	±0,07	±0,02
	SST (%)	9,0 ^a	8,97 ^a	9,0 ^a	8,53 ^b	8,0 ^c	8,57 ^b	8,93 ^a
		±0,1	±0,06	±0,1	±0,06	±0,1	±0,06	±0,06
	Acidez em ácido cítrico (%)	1,39 ^c	1,58 ^{a,b}	1,73 ^a	1,57 ^{a,b,c}	1,48 ^{b,c}	1,56 ^{a,b,c}	1,60 ^{a,b}
		±0,07	±0,12	±0,07	±0,07	±0,0	±0,07	±0,0
Relação SST/AT	6,48 ^a	5,68 ^b	5,20 ^b	5,62 ^b	5,42 ^b	5,51 ^b	5,60 ^b	
	±0,33	±0,44	±0,26	±0,23	±0,07	±0,22	±0,04	
T2	pH	3,76 ^b	3,87 ^b	4,2 ^a	3,59 ^c	3,42 ^d	3,28 ^d	2,88 ^e
		±0,02	±0,04	±0,04	±0,04	±0,11	±0,02	±0,01
	SST (%)	9,5 ^f	8,73 ^d	8,5 ^c	8,13 ^b	7,9 ^a	8,5 ^c	8,93 ^e
		±0,1	±0,06	±0,0	±0,06	±0,1	±0,1	±0,06
	Acidez em ácido cítrico (%)	1,4 ^c	1,56 ^{a,b}	1,58 ^a	1,59 ^a	1,59 ^a	1,52 ^a	1,44 ^b
		±0,07	±0,07	±0,0	±0,0	±0,0	±0,07	±0,07
Relação SST/AT	6,78 ^a	5,62 ^c	5,37 ^c	5,13 ^c	4,97 ^d	5,61 ^c	6,20 ^b	
	±0,40	±0,30	±0,0	±0,04	±0,06	±0,20	±0,36	
T3	pH	3,77 ^{b,c}	3,93 ^b	4,25 ^a	3,63 ^c	3,41 ^d	3,29 ^d	2,87 ^e
		±0,01	±0,06	±0,04	±0,09	±0,09	±0,02	±0,01
	SST (%)	9,5 ^a	8,63 ^c	8,0 ^d	7,97 ^d	8,0 ^d	8,57 ^c	9,0 ^b
		±0,1	±0,12	±0,1	±0,12	±0,1	±0,06	±0,0
	Acidez em ácido cítrico (%)	1,49 ^a	1,65 ^a	1,53 ^a	1,64 ^a	1,57 ^a	1,68 ^{a,b}	1,71 ^a
		±0,0	±0,07	±0,10	±0,07	±0,07	±0,07	±0,12
Relação SST/AT	6,37 ^a	5,26 ^b	5,23 ^b	4,85 ^b	5,10 ^b	5,10 ^b	5,28 ^b	
	±0,0	±0,29	±0,37	±0,14	±0,18	±0,19	±0,38	

Médias com as mesmas letras na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

As polpas de acerola pasteurizadas e fortificadas (T1, T2 e T3) apresentaram, no tempo zero, valores de pH semelhantes ao valor observado anteriormente à pasteurização, no caso de T1 e valores maiores ($p < 0,05$) para T2 e T3. No transcorrer dos 180 dias de armazenamento houve uma tendência de aumento ($p < 0,05$) até o 60º dia seguido de redução ($p < 0,05$) até o final do experimento, chegando a valores de $3,01 \pm 0,02$, $2,88 \pm 0,01$ e $2,87 \pm 0,01$ para T1, T2 e T3 respectivamente. OLIVEIRA (2008) estudando diferentes clones de aceroleira observou que, em polpas armazenadas a -18°C por 11 meses ocorreu variabilidade nos valores de pH, relatando médias entre 2,77 a 3,82.

Quanto aos SST, ocorreu aumento ($p < 0,05$) de 6,3 na polpa *in natura* para 9,0, 9,5 e 9,5, nas polpas pasteurizadas, T1, T2 e T3 respectivamente. Isso pode ser creditado, a perda de água no aquecimento ocasionando a concentração do produto. Durante os 180 dias de estocagem ocorreu redução nesses valores ($p < 0,05$) com posterior aumento ($p < 0,05$), chegando a $8,93 \pm 0,06\%$, $8,93 \pm 0,06\%$ e $9,0 \pm 0,0\%$ para T1, T2 e T3 respectivamente. Essa redução dos SST em relação ao valor inicial, também foi observada por LIMA *et al.* (2012) em polpas de acerola pasteurizadas armazenadas por 360 dias sob congelamento. Segundo YAMASHITA *et al.* (2003) essa queda no teor de SST pode indicar que o produto ainda apresentava atividade enzimática, mesmo em temperatura de congelamento.

Quanto à acidez total ocorreu aumento ($p < 0,05$) após a pasteurização de $0,9 \pm 0,06\%$ para $1,39 \pm 0,07\%$, $1,4 \pm 0,07\%$ e $1,49 \pm 0,0\%$, para T1, T2 e T3 respectivamente. Durante os 180 dias de estocagem houve oscilação significativa ($p < 0,05$) dos resultados em T1 e T2, porém para T3 o percentual de acidez manteve-se estável. Os resultados finais para esse parâmetro foram $1,60 \pm 0,0\%$, $1,44 \pm 0,07\%$ e $1,71 \pm 0,12\%$ para T1, T2 e T3 respectivamente. Esse aumento da acidez total, em relação ao tempo zero, pode ser atribuído a não ocorrência de oxidação dos ácidos orgânicos da acerola (CARVALHO & GUERRA, 1995). Na polpa de acerola, SCHERER *et al.* (2008) encontraram grandes quantidades de ácido málico e ácido ascórbico, por outro lado, os ácidos tartárico e cítrico não foram encontrados. No entanto, a legislação brasileira (BRASIL, 2000) estabelece que a acidez total deve ser expressa em ácido cítrico, o ácido orgânico predominante nessa polpa.

Quanto à relação SST/AT os valores não tiveram alterações no tempo zero, logo após a pasteurização ($p > 0,05$). Durante o período de estocagem, para T1 e T3 ocorreu redução dessa relação ($p < 0,05$) logo no 30º dia, no entanto os valores foram mantidos até o final da observação, chegando a $5,60 \pm 0,04$ e $5,28 \pm 0,38$ respectivamente. Já para T2 ocorreu oscilação ($p < 0,05$) dos valores até os 180 dias de estocagem, quando atingiu $6,20 \pm 0,36$. Apesar do aumento da concentração de SST no produto pasteurizado, ainda assim houve redução da relação SST/AT devido ao aumento simultâneo da acidez total.

Após a pasteurização os glicídios totais não sofreram alterações, porém foi observado aumento dos açúcares redutores ($p < 0,05$). Esta variação pode ser atribuída à hidrólise dos açúcares não redutores (sacarose) que, em solução aquosa e meio ácido são facilmente hidrolisados em monossacarídeos redutores D-glucose e D-frutose (BOBBIO & BOBBIO, 1992). Os teores de glicídios totais e glicídios redutores foram de $6,57 \pm 0,04\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ e $3,78 \pm 0,04\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ respectivamente para T1, $6,39 \pm 0,34\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ e $3,79 \pm 0,10\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ respectivamente para T2 e $6,39 \pm 0,25\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ e $3,72 \pm 0,10\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ respectivamente para T3. Esses resultados encontram-se adequados segundo a legislação (BRASIL, 2000) e não apresentaram diferença significativa entre os 3 tratamentos ($p > 0,05$) ao longo dos 180 dias..

Os valores encontrados foram semelhantes ao observado por LIMA *et al.* (2008) que variou de 5,81 a 7,91% de glicose, do tempo zero ao tempo 180 dias, indicando aumento nos teores de açúcares redutores da ordem de 36,14%. Esses compostos parecem ter contribuído para o alto teor de sólidos solúveis apresentados pelas polpas. CHITARRA & CHITARRA (2005) afirmam que existe uma relação direta entre os sólidos solúveis e a concentração de açúcares solúveis totais.

Com relação às fibras totais, não houve redução de seu conteúdo após a pasteurização ($p > 0,05$). Os 3 tratamentos não diferem entre si ($p > 0,05$) e os resultados obtidos foram $1,61\text{g. }100\text{g}^{-1}$ de fibras totais, $0,61 \pm 0,01\text{g. }100\text{g}^{-1}$ de fibras solúveis e $1,01 \pm 0,04\text{g. }100\text{g}^{-1}$ de fibras insolúveis para T1, $1,62\text{g. }100\text{g}^{-1}$ de fibras totais, $0,62 \pm 0,03\text{g. }100\text{g}^{-1}$ de fibras solúveis e $1,00 \pm 0,04\text{g. }100\text{g}^{-1}$ de fibras insolúveis para T2 e $1,61\text{g. }100\text{g}^{-1}$ de fibras totais, $0,59 \pm 0,03\text{g. }100\text{g}^{-1}$ de fibras solúveis e $1,02 \pm 0,03\text{g. }100\text{g}^{-1}$ de fibras insolúveis para T3.

A cor vermelha da acerola, no estágio maduro, decorre da presença de antocianinas. SILVA *et al.* (1998) citam a malvidina, pelargonidina e cianidina como as principais antocianinas presentes em acerola. No presente estudo o conteúdo de antocianinas foi de $32,3 \pm 0,3\text{mg. }100\text{g}^{-1}$ na polpa *in natura* e de $8,42 \pm 1,16\text{mg. }100\text{g}^{-1}$, $7,08 \pm 0,77\text{mg. }100\text{g}^{-1}$ e $9,30 \pm 0,58\text{mg. }100\text{g}^{-1}$, nos produtos pasteurizados T1, T2 e T3 respectivamente. Houve redução significativa do conteúdo desse pigmento após a pasteurização ($p < 0,05$). Entre os 3 tratamentos houve diferença significativa ($p < 0,05$) apenas entre T1 e T3

Em cinco seleções de acerola foi constatada uma variação no teor de antocianinas totais de $14,06$ a $50,98\text{mg. }100\text{g}^{-1}$ de polpa. A seleção de cor vermelha mais intensa apresentava o maior teor de antocianinas totais (STINTZING *et al.*, 2002). AGUIAR (2001) encontrou teores variando de $0,37\text{ mg. }100\text{g}^{-1}$ a $38,38\text{ mg. }100\text{g}^{-1}$, com média de $13,51\text{ mg. }100\text{g}^{-1}$, em frutos comercialmente maduros de 75 clones de aceroleira. LIMA *et al.* (2002), caracterizando acerolas maduras de 12 acessos, observaram teores de antocianinas totais variando de $3,81$ a $47,36\text{mg. }100\text{g}^{-1}$ de polpa, com média de $19,23\text{mg. }100\text{g}^{-1}$.

A variação do conteúdo de antocianina deve-se à grande instabilidade desse componente. Os pigmentos naturais são afetados durante as etapas de processamento dos alimentos pela ação da luz, temperatura, oxigênio, íons metálicos e enzimas (LIMA *et al.*, 2000). MARCHESI (1995) reportou o impacto do tempo de pasteurização e temperatura na descoloração de suco e sugeriu pasteurização moderada com temperatura menor que 80°C , para minimizar a degradação de antocianinas.

Com relação ao conteúdo de carotenóides totais (expressos em β -caroteno) não houve diferença após a pasteurização e entre os 3 tratamentos ($p > 0,05$). Os valores encontrados foram $1,06 \pm 11\mu\text{g. }100\text{g}^{-1}$, $1,03 \pm 8,1\mu\text{g. }100\text{g}^{-1}$ e $0,94 \pm 12,4\mu\text{g. }100\text{g}^{-1}$ para T1, T2 e T3 respectivamente. Além de pró-vitaminas, os carotenóides são, também, pigmentos responsáveis pela cor de muitas frutas. Na acerola, a coloração amarela conferida por esse pigmento é mascarada pela presença de antocianinas vermelhas (AGOSTINI-COSTA *et al.*, 2003).

SILVA (2008) ao estudar frutos de diferentes clones oriundos de sistema convencional e orgânicos encontrou média de $0,95\text{mg. }100^{-1}\text{g}$ de carotenóides totais, valor semelhante ao obtido no presente estudo. Já LIMA (2010) obteve valores maiores de carotenóides, $1,23$ e $1,69\text{mg. }100^{-1}\text{g}$ ao avaliar polpa de acerola pasteurizada e não pasteurizada respectivamente, oriundas de cultivo orgânico, armazenada a -18°C por 360 dias. A estabilidade dos carotenóides difere bastante nos alimentos mesmo quando submetidos a processamentos e condições de estocagem idênticas. A principal causa de destruição dos carotenóides é a oxidação (enzimática ou não enzimática) que depende da presença de oxigênio, metais, enzimas, lipídeos insaturados, pro-oxidantes ou antioxidante, exposição à luz, tipo e estado físico dos carotenóides presentes no alimento, a severidade do tratamento bem como o tempo e temperatura do tratamento térmico (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

O fato da acerola ser fonte de carotenóides é um fator positivo ao incremento da biodisponibilidade (GARCIA-CASAL *et al.*, 1998) e mobilização hepática de ferro (SEMBA e BLOEM 2002), além dos efeitos conferidos pelo ácido ascórbico, já citados anteriormente.

Quanto à determinação do mineral ferro, a Figura 4 mostra a curva padrão (gráfico de regressão linear), a partir da qual obteve-se a equação da reta $y = 0,0594x + 0,0227$ com um

coeficiente de regressão (R^2) igual à 0,9987. Sendo possível, então, a determinação da concentração de ferro nas amostras.

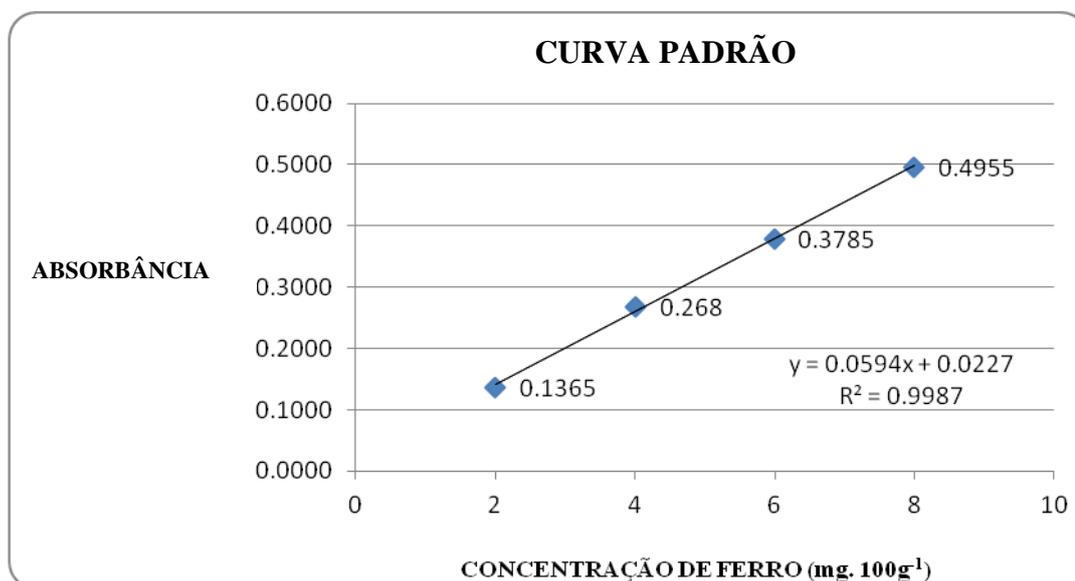


Figura 4. Curva padrão da concentração de ferro

O teor de ferro da polpa *in natura* não diferiu de T1 ($p > 0,05$), evidenciando que a pasteurização não ocasionou alterações no conteúdo no mineral. Conforme o esperado, houve diferença significativa ($p < 0,05$), entre os tratamentos, dada a fortificação em T2 e T3. Os valores obtidos foram $0,16 \pm 0,03 \text{mg. } 100^{-1} \text{g}$, para a polpa *in natura*, $0,15 \pm 0,01 \text{mg. } 100^{-1} \text{g}$ para T1, $4,32 \pm 0,03 \text{mg. } 100^{-1} \text{g}$ para T2 e $5,15 \pm 0,02 \text{mg. } 100^{-1} \text{g}$ para T3. De acordo com esses resultados é possível afirmar que T2 e T3 são alimentos com alto teor e/ou ricos em ferro (BRASIL, 1998).

Com relação ao ácido ascórbico, o conteúdo inicial, anterior à pasteurização era de $1.666,67 \pm 63 \text{mg. } 100 \text{g}^{-1}$. Após o tratamento térmico os valores decresceram significativamente ($p < 0,05$) para $1.628,6 \pm 22,6 \text{mg. } 100 \text{g}^{-1}$ em T1, $1.549,3 \pm 13,6 \text{mg. } 100 \text{g}^{-1}$ em T2 e $1.384,5 \pm 0,0 \text{mg. } 100 \text{g}^{-1}$ em T3. No entanto, entre as amostras pasteurizadas, houve diferença ($p < 0,05$) apenas entre os valores de T1 e T3.

Estudos recentes têm demonstrado que a comercialização de suplementos nutricionais tem aumentado substancialmente nas últimas décadas, principalmente os de vitamina C (PETRÓCZI *et al.*, 2007; TIRAPEGUI, 2005).

No meio científico há preocupação de que esta vitamina, na forma sintética, em grandes doses possa exercer um efeito pró-oxidante no organismo. Em certas condições, o ascorbato pode agir como um pró oxidante acarretando a produção de um radical livre chamado radical hidroxila (HERBERT, 1993). O radical hidroxila é extremamente reativo e, portanto, reage rapidamente com praticamente qualquer molécula. Assim, pode reagir com o DNA acarretando mutações genéticas e cânceres, bem como com os lipídeos de membrana, resultando em peroxidação lipídica (JOHNSTON, 1999; NRC, 2000).

É consenso na comunidade científica que uma alimentação equilibrada pode fornecer a uma pessoa saudável todos os nutrientes necessários e nas quantidades adequadas. A suplementação vitamínica é recomendada apenas em situações específicas, onde não existe possibilidade de atingir as recomendações vitamínicas via alimentação (SANTOS, 2002). O presente trabalho evidencia que a acerola é uma excelente fonte de vitamina C, podendo ser utilizada em substituição à forma sintética.

Ao comparar os resultados da amostra controle com os resultados das amostras fortificadas percebe-se diferenças ($p < 0,05$) para parâmetros como pH, SST, ferro, antocianinas e ácido ascórbico. Sendo que nesses dois últimos, a diferença foi apenas entre T1 e T3, evidenciando, talvez, que uma fortificação com quantidades intermediárias de ferro, como em T2, ofereceria menores perdas nutricionais de antocianinas e ácido ascórbico, dada a sua semelhança com os resultados da amostra controle (T1).

Quanto à análise de estabilidade do ácido ascórbico para os 3 tratamentos, realizados por 180 dias, com periodicidade quinzenal, os resultados encontram-se apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Variação quinzenal do teor de ácido ascórbico dos tratamentos T1, T2 e T3 durante os 180 dias de armazenamento

Tempo (dias)	Teor de ácido ascórbico (mg. 100g ⁻¹)		
	T1	T2	T3
0	1422,7 ^{a,b} ± 25	1172,1 ^a ± 0,0	1251,5 ^{b,c} ± 14
15	1429,7 ^a ± 14	1217,3 ^a ± 14	1290,8 ^c ± 14
30	1437,9 ^{a,b} ± 14,2	1209,2 ^a ± 14,2	1274,5 ^{b,c} ± 0,0
45	1462,4 ^{a,b,c} ± 14,2	1209,2 ^a ± 14,2	1258,2 ^{b,c} ± 14,2
60	1486,9 ^{b,c,d} ± 14,2	1217,3 ^a ± 14,2	1250,0 ^{b,c} ± 0,0
75	1467,3 ^{a,b,c} ± 13,8	1188,2 ^a ± 13,8	1188,2 ^a ± 27,6
90	1551,4 ^{c,d} ± 14,2	1282,7 ^b ± 14,2	1233,7 ^{a,b} ± 14,2
105	1535,9 ^{d,e} ± 14,2	1331,7 ^b ± 14,2	1290,8 ^c ± 14,2
120	1568,6 ^{e,f} ± 0,0	1388,9 ^c ± 14,2	1348,0 ^d ± 24,5
135	1601,3 ^{g,f} ± 14,2	1421,6 ^c ± 24,5	1397,1 ^e ± 0,0
150	1642,2 ^{g,h} ± 24,5	1495,5 ^d ± 24,5	1446,1 ^f ± 24,5
165	1691,2 ^h ± 24,6	1568,6 ^e ± 24,5	1486,9 ^f ± 14,2
180	1628,6 ^g ± 22,6	1549,3 ^e ± 13,6	1384,5 ^{d,e} ± 0,0

Médias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

Esses resultados encontram-se de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação (BRASIL, 2000) que estabelece para ácido ascórbico valores mínimos 800mg. 100g⁻¹. Para os 3 tratamentos os valores mantiveram-se estáveis até em torno do 75º dia. Após esse período os números começaram a oscilar, sendo constatado aumento significativo ($p < 0,05$) de ácido ascórbico em relação aos conteúdos iniciais. Os valores finais foram 1.628,6 ± 22,6 para T1, 1.549,3 ± 13,6 para T2 e 1.384,5 ± 0,0 para T3. Estes resultados podem ser melhor visualizados na Figura 5.

TEOR DE ÁCIDO ASCÓRBICO EM FUNÇÃO DO TEMPO

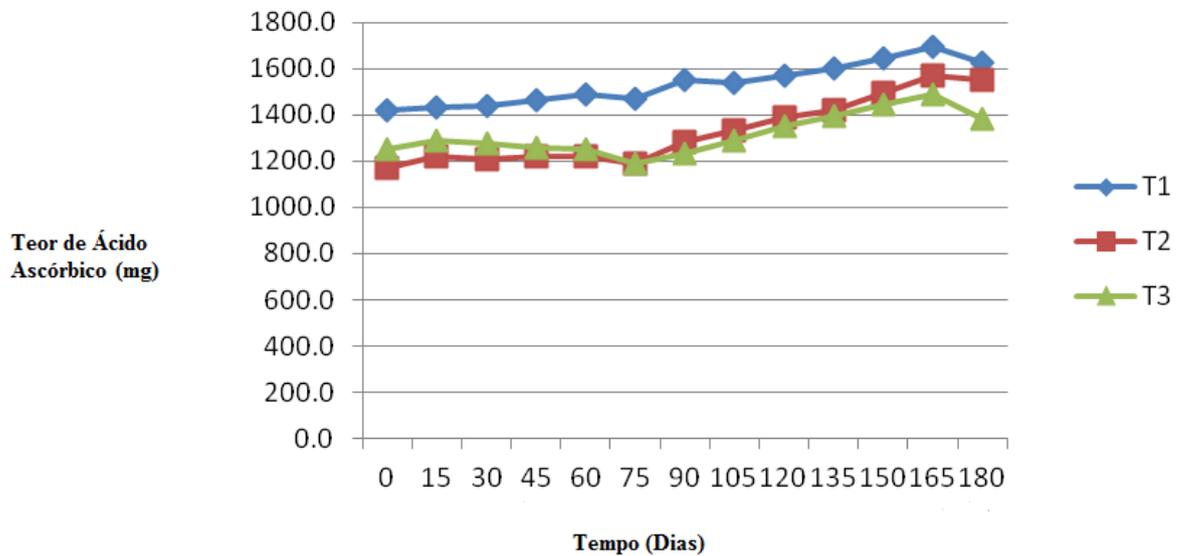


Figura 5. Variação quinzenal do teor de ácido ascórbico dos tratamentos T1, T2 e T3 durante os 180 dias de armazenamento

YAMASHITA *et al.* (2003) fizeram o acompanhamento da estabilidade da vitamina C em polpa de acerola pasteurizada e acerola *in natura* congeladas, ambas armazenadas a -12°C e -18°C , e em suco de acerola pasteurizado engarrafado, mantido a temperatura ambiente, ao longo de 4 meses de armazenagem. Após este período, as acerolas *in natura* apresentaram teores de 869 ± 12 e 1.223 ± 148 mg vit.C/100g, representando uma perda de 43% e 19%, respectivamente, em relação ao teor inicial. As polpas de acerola pasteurizadas apresentaram teores de 1.314 ± 6 e 1.322 ± 2 mg vit.C/ 100g, respectivamente, representando perda de, aproximadamente, 3% e o suco engarrafado apresentou uma perda de 32%, correspondendo a um teor final de 673 ± 17 mg vit.C/100g.

No estudo de PIMENTEL *et al.* (2001), com polpas de acerolas preservadas por congelamento a -20°C , tratamento térmico (*hot pack*, $90^{\circ}\text{C}/15$ minutos) e uso de aditivos (0,08% de benzoato de sódio), foi concluído que, após seis meses de armazenamento, houve perda de vitamina C da ordem de 14,93% no produto congelado, de 28,97% no submetido ao tratamento térmico e de 33,77% no preservado quimicamente.

No entanto, no presente estudo, foi observado aumento no conteúdo de ácido ascórbico no produto *in natura* e nos produtos após a pasteurização e fortificação, fato que difere do encontrado pelos demais autores. Sabe-se que a metodologia titulométrica de Tillmans sofre a ação de substância interferentes que podem superestimar os níveis de ácido ascórbico no produto (GUÇLU *et al.*, 2004). Por este motivo, ao final do período de observação, foi realizada a determinação de ácido ascórbico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), com o intuito de confrontar os dados. Estes resultados podem ser visualizados na Tabela 6.

Tabela 6. Comparação do teor de ácido ascórbico final nos tratamentos T1, T2 e T3, pelo método de Tillmans e Clae

Determinação de Ácido ascórbico	Resultados (mg. 100g ⁻¹)			
	Métodos empregados	T1	T2	T3
Tillmans*		1628,6 ^{aA} ± 22,6	1549,3 ^{bA} ± 13,6	1384,5 ^{cA} ± 0,0
CLAE		1262,1 ^{aB} ± 43,1	1074,6 ^{bB} ± 22,6	1037,3 ^{bB} ± 22,1

Não diferem significativamente entre si (P>0,05) médias nas linhas com mesma letra minúscula e médias nas colunas com mesma letra maiúscula

*: modificado por BENASSI & ANTUNES, 1988

De acordo com a metodologia expressa por Tillmans e CLAE o experimento foi finalizado com 1.628,6 ± 22,6mg. 100⁻¹g e 1.262,1 ± 43,1mg. 100⁻¹g respectivamente, para T1, 1.549,3 ± 13,6mg. 100⁻¹g e 1.074,6 ± 22,6mg. 100⁻¹g para T2 e 1.384,5 ± 0,0mg. 100⁻¹g e 1.037,3 ± 22,1mg. 100⁻¹g para T3. Conforme observado, os valores expressos por Tillmans são significativamente maiores em relação aos valores expressos por CLAE. No entanto, entre os tratamentos, considerando-se a metodologia CLAE, T2 e T3 não diferem estatisticamente, mas diferem de T1 o qual é maior (p < 0,05). Quanto à metodologia de Tillmans, os 3 tratamentos diferem entre si (p < 0,05).

Neste caso, observa-se a possível influência da fortificação com ferro nos diferentes teores de ácido ascórbico, uma vez que, esse parâmetro evidenciou diferenças estatísticas entre a amostra controle e as fortificadas. Possivelmente, a ausência do ferro propiciou maiores conteúdos de ácido ascórbico em T1 e conseqüentemente, menor conteúdo em T3, amostra com maior concentração de ferro. É possível que o ferro contido nas amostras oxide parte do ácido ascórbico.

O método de Tillmans apresenta dificuldades quando são analisadas amostras de intensa coloração, como no caso de frutas, geleias, sucos e outros. A coloração natural da amostra dificulta a visualização do ponto final da titulação (ALDRIGUE, 1998; JAIN; GHOURASIA; VERMA, 1995). ALDRIGUE (1998) avaliou diversos modos de se determinar vitamina C em polpa de acerola: a) método espectrofotométrico, descrito por CONTREAS-GÚZMAN *et al.* (1984); b) método volumétrico do Iodato de Potássio, que se fundamenta na redução do iodo liberado por uma solução de ácido ascórbico; c) método de Tillmans, que utiliza o DCFI; e d) Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Ainda assim, quando comparou em porcentagem a recuperação do ácido ascórbico às amostras de acerola, o autor verificou que o método de Tillmans foi aquele que mais se aproximou dos dados obtidos para CLAE, considerando-o então, o mais eficiente para a determinação de ácido ascórbico nessas amostras. Esta é uma técnica de fácil aplicação e baixo custo, principalmente quando comparada à técnica cromatográfica (ALDRIGUE, 1998).

4.2 Análise microbiológica

Nas Tabelas 7 e 8 estão os resultados das análises microbiológicas realizadas na polpa de acerola *in natura* e na polpa de acerola pasteurizada respectivamente.

Tabela 7. Microbiologia da polpa de acerola *in natura*

Microrganismos	Resultados	Referências*
<i>Salmonella SP</i>	Ausente/25mL	Ausência/25ml
Coliformes Termotolerantes	<1.0 UFC/mL	1 UFC/mL
Bolores e Leveduras	<1,2 x 10 ³ UFC/mL	5 x 10 ³ UFC/mL
<i>Bacillus cereus</i>	<10 ² UFC/mL	-
Coliformes a 35°C	<1.0 UFC/mL	-
Estafilococos coagulase positiva	<10 ² UFC/mL	-
Bactérias mesófilas	<2,2 x 10 ² UFC/mL	-

*: Instrução normativa n° 1, 07/01/2000 - MAPA

Tabela 8. Microbiologia da polpa de acerola pasteurizada

Microrganismos	Resultados	Referências*
<i>Salmonella SP</i>	Ausente/25mL	Ausência/25ml
Coliformes Termotolerantes	<1.0 UFC/mL	1 UFC/mL
Bolores e Leveduras	<10 UFC/mL	2 x 10 ³ UFC/mL
<i>Bacillus cereus</i>	<10 ² UFC/mL	-
Coliformes a 35°C	<1.0 UFC/mL	-
Estafilococos coagulase positiva	<10 ² UFC/mL	-
Bactérias mesófilas	<10 UFC/mL	-

*: Instrução normativa n° 1, 07/01/2000 - MAPA

De acordo com a Instrução Normativa n° 1 de 07/01/2000 do MAPA (BRASIL, 2000), os resultados das análises para *Salmonella SP*, coliformes termotolerantes, bolores e leveduras, encontram-se adequados para ambas as amostras. Quanto às demais análises realizadas, segundo o laboratório Bioqualitas®, valores de <1.0 ou <10² são os mínimos detectados pelas técnicas utilizadas e considera-se nesse caso que os resultados estão dentro da referência. Sendo assim, o laudo mostrou que os produtos estão em condições sanitárias satisfatórias. Isso pode ser creditado aos processos adequados de lavagem e desinfecção que foi submetido a matéria-prima e as Boas Práticas de Fabricação utilizadas para a obtenção dos produtos. Essa condições evidenciaram a adequação microbiológica da matéria-prima para a formulação do produto e sua utilização na análise sensorial.

4.3 Análise sensorial

Os provadores são, em sua maioria, mulheres, com média de idade de 47 anos, ensino médio completo, renda familiar de 1 a 2 salário mínimo (SM), 88,9% gostam de refresco de acerola, porém a maioria (59,3%) consome raramente. Apenas 3,7% dos provadores não gostam do referido nectar. O perfil dos provadores pode ser melhor visualizado na Tabela 9.

Tabela 9. Perfil dos provadores

Variáveis	Resultados
N	75 provadores
Sexo	
Feminino	74,1%
Masculino	25,9%
Idade	
	Média = 47 anos
18 - 25 anos	13,6%
26 - 35 anos	17,3%
36 - 45 anos	24,7%
46 - 55 anos	25,9%
56 - 65 anos	16%
NI	2,5%
Escolaridade	
Fundamental incompleto	6,2%
Fundamental completo	14,8%
Médio completo	49,4%
Superior completo	22,2%
Pós-graduação concluída	7,4%
Renda familiar mensal	
1 - 2 SM	48,1%
3 - 5 SM	28,4%
6 - 10 SM	7,4%
> 10 SM	11,1%
NI	4,9%
Consumo de refresco de acerola	
Gostam	88,9%
Não gostam	3,7%
Não gostam e nem desgostam	7,4%
Frequência de consumo de refresco de acerola	
Nunca consomem	3,7%
Consumem raramente	59,3%
Consumem 1X/mês	17,3%
Consumem 1X/semana	19,8%
Consumem todos os dias	0,0%

NI: não informado

SM: salários mínimos

Na Tabela 10 estão as médias das notas dos provadores para os tratamentos (T1, T2 e T3), mensalmente para cada atributo (sabor, cor, aroma e qualidade geral) e intenção de compra, além da média geral.

Tabela 10. Médias das notas dos provadores para os tratamentos T1, T2 e T3 mensalmente para cada atributo e intenção de compra

Tratamentos	1º mês	2º mês	3º mês	4º mês	5º mês	6º mês	Média geral
Sabor							
T1	7.1	6.7	6.8	7.2	7.1	6.9	6.95
T2	6.6	6.5	6.4	6.6	6.6	6.7	6.58
T3	6.2	6.2	7.0	6.7	6.3	6.3	6.46
Média geral	6,63 ^a	6,47 ^a	6,73 ^a	6,83 ^a	6,67 ^a	6,63 ^a	
Cor							
T1	6.6	6.4	6.6	6.9	6.7	6.5	6.60
T2	6.4	6.3	6.9	6.5	6.5	6.4	6.50
T3	6.2	6.6	6.9	6.6	6.4	6.6	6.56
Média geral	6,4 ^a	6,43 ^a	6,8 ^a	6,67 ^a	6,53 ^a	6,5 ^a	
Aroma							
T1	6.8	6.6	6.7	6.9	6.8	6.7	6.74
T2	6.6	6.5	6.7	6.6	6.6	6.6	6.61
T3	6.2	6.4	6.7	6.8	6.2	6.5	6.48
Média geral	6,53 ^a	6,5 ^a	6,7 ^a	6,77 ^a	6,53 ^a	6,6 ^a	
Qualidade geral							
T1	7.1	6.7	7.0	7.1	7.1	6.9	7.00
T2	6.6	6.5	6.8	6.6	6.6	6.7	6.63
T3	6.2	6.6	7.0	6.9	6.1	6.7	6.59
Média geral	6,63 ^a	6,6 ^a	6,93 ^a	6,93 ^a	6,6 ^a	6,77 ^a	
Intenção de compra							
T1	1,4	1,6	1,6	1,4	1,4	1,5	1,48
T2	1,5	1,8	1,8	1,7	1,5	1,7	1,66
T3	1,7	1,7	1,5	1,7	1,7	1,7	1,66
Média geral	1,53 ^a	1,7 ^a	1,63 ^a	1,6 ^a	1,53 ^a	1,63 ^a	

Médias de tratamentos nas linhas ou de meses de armazenamento nas colunas com mesma letra não diferem significativamente entre si (P>0,05).

Intenção de compra (1: compraria; 2: talvez compraria e 3: não compraria)

As médias das notas (p>0.05) ao longo dos meses estudados para todos os atributos e intenção de compra, evidenciaram que o tempo de armazenamento não provocou mudanças na aceitação do produto. No entanto as médias dos tratamentos (T1, T2 e T3) diferem significativamente entre si, exceto para o atributo cor. As maiores diferenças são observadas entre T1 e T3. Contudo, os tratamentos 1 e 2 não diferem entre si, considerando todos os atributos, assim como os tratamentos 2 e 3, também, não diferem entre si. Isso pode ser

atribuído à semelhança das formulações, ambas com ferro, porém em quantidades diferentes, 4 e 5mg.100g⁻¹ respectivamente. Já o tratamento 1, possivelmente devido à ausência da fortificação, obteve melhores resultados. No entanto, quanto ao índice de aceitabilidade (IA), considerando todo o período de armazenamento, o atributo sabor e qualidade geral apresentou valores de de 77,2% e 77,8% respectivamente, para T1; 73,1% e 73,7% respectivamente, para T2 e 71,8% e 73,2% respectivamente, para T3; sendo assim, o estudo mostrou resultados favoráveis ao consumo dos 3 produtos.

Quanto à intenção de compra (Tabela 11), 63,1% dos provadores comprariam T1, 53,1% comprariam T2 e 55% comprariam T3. Isso mostra que a fortificação com ferro não prejudicou as características sensoriais dos produtos, sendo todos bem aceitos pelos provadores e sensorialmente estáveis ao longo dos 6 meses de armazenamento.

Tabela 11. Intenção de compra dos provadores para cada tratamento

Tratamentos	Intenção de Compra	Provadores (%)
T1	Compraria	63.10
	Talvez compraria	27.20
	Não compraria	9.70
T2	Compraria	53.10
	Talvez compraria	27.50
	Não compraria	19.40
T3	Compraria	55
	Talvez compraria	23.50
	Não compraria	21.50

O uso do ferro quelato para a fortificação de alimentos tem sido cada vez mais empregado como medida de controle da anemia ferropriva. A boa aceitação do alimento fortificado e a ausência de alterações sensoriais e de efeitos adversos são características que depõem a favor da utilização desse composto de ferro, observadas neste e em outros estudos nacionais (TORRES *et al.*, 1996; TUMA *et al.*, 2003; MARCHI *et al.*, 2004; RODRIGUES *et al.*, 2006; ARRAVAL, 2001). Além de ser o fortificante disponível que apresenta maior biodisponibilidade e menor risco de toxicidade (ASHMEAD, 2001).

A fortificação com ferro também obteve resultados sensoriais positivos em alimentos como barras de cereais com NaFeEDTA em quantidades de 6,3mg e 8,4mg de ferro/100g (SAMPAIO, 2009); queijo minas light com citrato férrico amoniacal na quantidade de 55mg de ferro/kg (ZARBIELLI, 2004); pão com ferro reduzido, pirofosfato de ferro e sulfato ferroso monohidratado microencapsulado, na quantidade de 4,2mg/100g de farinha (NABESHIMA, 2005); arroz com pirofosfato de ferro na quantidade de 46,7mg de ferro/100g (BEINNER, et al., 2010) e bebida formulada a partir de soro de leite, polpa de maracujá e polpa de acerola na proporção de 6:2:1, fortificado com 4,5mg de ferro quelato (TROMBETE, 2008).

5. CONCLUSÕES

A polpa de acerola *in natura* e os tratamentos T1, T2 e T3 estiveram dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente, apresentando valores adequados para parâmetros como: pH, sólidos solúveis totais, acidez total expressa em ácido cítrico, glicídios totais e ácido ascórbico. As amostras representaram boas fontes de fibras totais (solúveis e insolúveis), carotenoides, antocianinas e ácido ascórbico. Quanto à estabilidade do ácido ascórbico, na polpa *in natura*, ao longo dos 180 dias de armazenamento, observou-se inicialmente aumento de seu conteúdo, mantendo-se estável por alguns meses, sendo acompanhado por considerável decréscimo nos últimos 2 meses. A perda de ácido ascórbico na polpa de acerola *in natura* foi bastante superior ao observado nos demais estudos, chegando a 57,7% ao final dos 180 dias de estocagem. No entanto, é importante considerar as diferenças com relação ao estágio de maturação, tempo de armazenamento, espécie, e tratamentos aos quais a polpa de acerola foi submetida em cada estudo.

Quanto à estabilidade do ácido ascórbico, nos tratamentos T1, T2 e T3 ao longo dos 180 dias de armazenamento, observou-se conteúdo estável desta vitamina até em torno do 75º dia, com significativo aumento até o final do experimento.

Ao comparar o uso da metodologia de Tillmans com o uso da CLAE, foi observado conteúdo de ácido ascórbico maior através do Tillmans em relação ao CLAE.

A fortificação com 4mg. 100g⁻¹ de ferro, como em T2, foi aquela que mais se assemelhou à amostra controle (T1), apresentando diferenças apenas quanto ao pH e SST, diferentemente da fortificação com 5mg. 100g⁻¹ de ferro, a qual provocou redução significativa de antocianinas e ácido ascórbico em relação à amostra controle (T1).

O processo de pasteurização evidenciou diferenças significativas, para a maioria dos parâmetros, quando comparado ao produto *in natura*, mas ainda assim o produto apresentava conteúdos importantes dos nutrientes avaliados.

A análise microbiológica evidenciou a segurança da matéria-prima para a formulação do produto e sua utilização na análise sensorial.

Quanto à análise sensorial, o índice de aceitabilidade e a intenção de compra evidenciaram resultados favoráveis ao consumo dos 3 produtos testados, indicando que a fortificação com ferro gerou produtos sensorialmente estáveis e bem aceitos ao longo dos 6 meses de armazenamento. Observa-se que a utilização de 4mg. 100g⁻¹ e/ou 5mg. 100g⁻¹ de ferro foram efetivas, podendo o produto ser fortificado de ambas as formas, mostrando que o uso do ferro quelato foi sensorialmente satisfatório.

Essa pesquisa evidencia o desenvolvimento de produto final rico em ferro e ácido ascórbico, de baixo custo, prático consumo e sabor agradável, o qual poderá representar uma alternativa ao tratamento e prevenção da anemia ferropriva em mulheres em idade fértil e até mesmo gestantes e crianças, por tratar-se de um produto natural, isento de aditivos e nutricionalmente adequado, considerando além do ferro e ácido ascórbico, seu conteúdo de antocianinas e carotenoides.

Pesquisas em humanos são necessárias para avaliar a biodisponibilidade de ferro dos produtos formulados a fim de atestar sua eficácia no combate e prevenção de anemia ferropriva.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDINSOFT. 2005. **XLSTAT-Pro Your data analysis solution**. Software. Disponível em: <<http://www.xlstat.com>>. Acesso em: Abr.2005.

AGOSTINI-COSTA, T.S.; ABREU, L.N.; ROSSETTI, A.G. Efeito do congelamento e do tempo de estocagem da polpa de acerola sobre o teor de carotenoides. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.56-58, 2003.

AGUIAR, L.P. **β -Caroteno, vitamina C e outras características de qualidade de acerola, caju e melão em utilização no melhoramento genético**. 2001. 87f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. 2001.

AJIOKA, R.S.; KUSHNER, J.P. Clinical consequences of iron overload in hemochromatosis homozygotes. **Blood**. v. 101, n. 9, p. 3351-3; discussion 3354-8, 2003.

AKMAN, M.; CEBECI, D.; OKUR, V. *et al.* The effects of iron deficiency on infants' developmental test performance. **Acta Paediatr**, v.93, p.1391-1396. 2004

ALAIMO, K. *et al.* Dietary intake of vitamins, minerals and fiber of persons aged 2 and over in the United States: third health and nutrition examination survey, phase 1, 1988 – 1991, advance data from Vital and Health Statistics, **Nacional Center for Health Statistics**, Hyattsville, n. 258, Md, 1994.

ALDRIGUE, M. L. **Desenvolvimento e validação de metodologia analítica, utilizando a CLAE, para determinação de vitamina C em frutas e seus principais produtos**. 1998. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP. Campinas, SP. 1998.

ALLEN, K.J.; GURRIN, L.C.; CONSTANTINE, C.C.; OSBORNE, N.J.; DELATYCKI, M.B.; NICOLL, A.J. *et al.* Iron-overload-related disease in HFE hereditary hemochromatosis. **N Engl J Med**, v.358, n.3, p.221-30, 2008.

ALLEN, L.; DE BENOIST, B.; DARY, O.; HURRELL, R. **Guidelines on food fortification with micronutrients**. Geneva: WHO; 2006.

ALLEYNE, M.; HORNE, MK.; MILLER, J. L. Individualized treatment for iron-deficiency anemia in adults. **Am J Med**, v.121, n.11, p.943-8, 2008.

ALVES, R. E.; CHITARRA, A. B.; FREIRE, D. C.; SOUZA, K. R.; SIQUEIRA, S. M. P. Yellowing of frozen acerola (*Malpighia emarginata*) fruit. **Proceedings of Interamerican Society for Tropical Horticulture**, Guatemala, v.41, p.199-204, 1997.

ANDERSON, L., DIBBLE, M.V., TURKKI, P.R., MITCHELL, H.S. **Nutrição**. 17.ed. Rio de Janeiro : Guanabara, 1988. p.119-123.

ARANHA, F. Q.; BARROS, Z. F.; MOURA, L. S. A.; GONÇALVES, M. C. R.; BARBOS, J. C.; METRI, J. C.; SOUZA, M. S. O papel da vitamina c sobre as alterações orgânicas no idoso. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.3, n.2, p.89-97, 2000.

ARAÚJO, E. L.; SILVA, M. M.; DANTAS, A. P.; MUSSER, R. S. Índice de pegamento em mudas enxertadas de aceroleira (*Malpighia glabra*), em duas épocas e duas idades do porta enxerto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13, 1994, Salvador, BA. Resumos. Salvador, BA: SBF, 1994. v.1, p.66-67.

ARRAVAL, S. R. M. **Consumo de ferro suplementar no controle da anemia.** 2001. (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo; São Paulo, SP. 2001.

ASENJO, C. F.; MOSCOSO, C. G. Ascorbic Acid Content and other characteristics of West Indian Cherry. **Food Research**, Chicago, v.15, p.103-106, 1950.

ASHMEAD, H. D. The absorption and metabolism of iron amino acid chelate. **Arch Latinoam Nutr**, v.51, n.1, p.13-21, 2001.

ASKAR, A.; TREPTOW, H. **Analytical methods.** Askar and H. Treptow (eds.), **Quality assurance in tropical fruit processing**, Springer-Verlag, Berlin, Germany, p.9-10, 19-20, 27- 28, 1993

ASSIS, A.M.O. Estado da arte da anemia na adolescência: distribuição e implicações para a saúde. In: Publicação do Instituto Danone. Obesidade e anemia carencial na adolescência. São Paulo; 2001. p.33-46.

ASSIS, S. A.; LIMA, D. C.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Activity of pectinmethylesterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at various stages of fruit development. **Food Chemistry**, v.74, p.133-137, 2001.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of AOAC international.** 17.ed. Washington: AOAC, 2000.

BAGNI, U. V.; BAIÃO, M. R.; SANTOS, M. M. A. S.; LUIZ, R. R.; VEIGA, G. V. Efeito da fortificação semanal do arroz com ferro quelato sobre a frequência de anemia e concentração de hemoglobina em crianças de creches municipais do Rio de Janeiro, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.25, n.2, p.291-302, 2009.

BARATA-SOARES, A. D.; GOMEZ, M. L. P. A.; MESQUITA, C. H.; LAJOLO, F. M. Ascorbic acid biosynthesis: a precursor study on plants. **Brasilian Journal of Plants Physiology**, Londrina, v.16, n.3, p.147-154, 2004.

BATISTA, F.A.S.; MUGUET, B.R.R.; BELTRÃO, A.E.S. Comportamento da aceroleira na Paraíba. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 10, 1989, Fortaleza, CE. Anais. Fortaleza, CE: SBF/BNB, 1991. p.26-32.

BATISTA, J. L.; COSTA, N. P.; NEGREIROS, J. Teste de preferência do pulgão *Aphis citricidus* Kirk., 1907 (Homoptera: Aphididae) em folhas de citrus e acerola. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13, 1994, Salvador, BA. Resumos. Salvador, BA: SBF, 1994. v. 1, p. 59-60.

BATISTA FILHO, M.; BARBOSA, N. P. **Pró-Memória: alimentação e nutrição no Brasil: 1974-1984**. Brasília: Ministério da Saúde / Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição; 1985.p.87.

BEARD, J. L.; DAWSON, H.; PIÑERO, D. J. Iron metabolism: a comprehensive review. **Nutrition Reviews**, v. 54, n. 0, p. 295-317, 1996.

BEARD, J. L.; Iron biology in immune function, muscle metabolism, and neuronal functioning, **J Nutr**, v.131, p.568, 2001.

BEINNER, M. A.; SOARES, A. D. B.; BARROS, A. L. A.; MONTEIRO, M. A. M. Análise sensorial de arroz fortificado com ferro. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.30, n.2, p.516-519, 2010.

BENASSI, M. T.; ANTUNES, A. J. A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractants solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v.31, n.4, p.507-513, 1988.

BEUTLER, E. Disorders of iron metabolism. In: Williams Hematology. Chapter 40. Seventh Edition. McGraw-Hill, 2006; p.511-553.

BIANCHI, M. L. P. **Biodisponibilidade de ferro em produtos industrializados de soja**. São Paulo, 1988, 187p. Tese (doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade de São Paulo -USP. São Paulo, SP. 1988

BIANCHI, M.L.P.; SILVA, H.C.; DUTRA DE OLIVEIRA, J.E. Considerações sobre a biodisponibilidade do ferro dos alimentos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.42, n.2, p.94-100, 1992.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Introdução à Química de Alimentos**. 2ª ed., São Paulo: Varela, 1995.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do Processamento de Alimentos**. 2ª ed., São Paulo: Varela, 1992.

BORTOLINI, G. A.; VITOLO, M. R. Importância das práticas alimentares no primeiro ano de vida na prevenção da deficiência de ferro. **Rev. Nutr.**, Campinas, v.23, n.6, 2010.

BULAJ, Z. J.; AJIOKA, R. S.; PHILLIPS, J.D.; LASALLE, B.A.; JORDE, L.B.; GRIFFEN, L.M. *et al.* Disease-related conditions in relatives of patients with hemochromatosis. **N Engl J Med**, v.343, n.21, p.1529-35, 2000.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. 2001. **Resolução - RDC nº 12, de 2 de Janeiro de 2001, que aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br>. Acesso em: 03 fev. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Manual operacional do Programa Nacional de Suplementação de Ferro**. Brasília: Ministério da Saúde; 2005.

BRASIL – Ministério da Saúde. Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Oficina de trabalho “**Carências Nutricionais: Desafio para Saúde Pública**”. Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher (PNDS), 2006. **A prevalência de anemia por deficiência de ferro e as medidas de controle implantadas no SUS**. Brasília, 28/05/2009 Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/deficiencia_ferro.pdf. Acesso em: 04 mar. 2012

BRASIL. Ministério da Saúde. **Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher** (PNDS), 2006. Centro Brasileiro de Análise e Planejamento (Cebrap) Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias>. Acesso em: 04 mar. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Centro Brasileiro de Análise e Planejamento (CEBRAP). **Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher** (PNDS): dimensões do processo reprodutivo e da saúde da criança. Micronutrientes, 2006, cap 13. Brasília, 2009. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pnds_crianca_mulher.pdf. Acesso em 04 mar. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Política Nacional de Alimentação e Nutrição (PNAN). **Fortificação de Alimentos**. Disponível em: http://nutricao.saude.gov.br/fortificacao_alimentos.php. Acesso em: 03 mar. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Política Nacional de Alimentação e Nutrição (PNAN). **Fortificação obrigatória das farinhas de trigo e milho com ferro e ácido fólico**. Disponível em: http://nutricao.saude.gov.br/fortificacao_alimentos.php. Acesso em: 03 mar. 2012

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 710, de 10 de junho de 1999. **Aprova a Política Nacional de Alimentação e Nutrição**. Diário Oficial da União, Brasília, 11 de junho de 1999.

BRASIL. Portaria - MS nº 730/GM Em 13 de maio de 2005. **Institui o Programa Nacional de Suplementação de Ferro, destinado a prevenir a anemia ferropriva e dá outras providências**, 2005.

BRASIL. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (SVS/MS). Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998. **Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos Adicionados de Nutrientes Essenciais**. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br>. Acesso em: 03 mar. 2012.

BREMNER, I.; BEATTIE, J. H. Copper and zinc metabolism in health and disease: speciation and interactions. **Proc Nutr Soc**; v.54, p.489-99, 1995.

BRON, I. U.; JACOMINO, A. P. Ripening and quality of “Golden” papaya fruit harvested at different maturity stages. **Brasilian Journal of Plants Physiology**, Londrina, v.18, n.3, p.389-396, 2006.

CAMASCHELLA C. Understanding iron homeostasis through genetic analysis of hemochromatosis and related disorders. **Blood**. v. 106, n.12, p.3710-7, 2005.

CARVALHO, I. T.; GUERRA, N. B. Suco de Acerola -Estabilidade durante o armazenamento. In: SÃO JOSÉ, A. R.; ALVES, R. E. **Cultura da Acerola no Brasil: produção de mercado**. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, p. 102-105, 1995.

CAVALCANTE, M. L. **Composição de carotenóides e valor de vitamina A na pitanga (*Eugênia uniflora*) e acerola (*Malpighia glabra* L.** 1991. 86p. Dissertação (Mestrado em Nutrição), Instituto de Nutrição, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ. 1991.

CHAN, H. T.; YAMAMOTO, H. Y. Kinetics of anthocyanin decomposition in acerola juice. **Asean Food J.** v.9, n.4, p.132-135, 1994.

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

CONCEIÇÃO, M. P. J. **Cinética de degradação térmica de antocianinas em suco de acerola (*Malpighia glabra* L.)**, 1997. 59p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 1997.

CONRAD, M. E. Iron deficiency anemia. **Medical J**, 2002. Disponível em: <http://www.emedecine.com>. Acesso em: 17 jan. 2012.

COOK, J. D.; SKIKNE, B. S.; BAYNES, R. D. Iron deficiency: the global perspective. In: Hershko C, *et al.* Progress in iron research: advances in experimental medicine and biology. New York: **Plenum Press**; p.219-28, 1994.

COOK, J.D. Newer aspects of the diagnosis and treatment of iron deficiency. **Hematology**, p.53-61, 2003.

DAVIDSSON, L.; ZIEGLER, E. E.; KASTENMAYER, P.; HURRELL, R. F. Erythrocyte incorporation of iron by infants: iron bioavailability from a low-iron infant formula and an evaluation of the usefulness of correcting erythrocyte incorporation values, using a reference dose or plasma ferritin concentrations. **Br J Nutr.**, v.84, n.5, p.847-53, 2000.

DE PAULA, R.A.C.; FISBERG, M. The use of sugar fortified with iron tris-glycinate chelate in the prevention of iron deficiency anemia in preschool children. **Arch Latinoam Nutr.**, v. 51, n.1, p.54-9, 2001.

DEL CIAMPO, L. A.; ALMEIDA, C. A. N. Avaliação do estado nutricional de ferro na criança. **Rev Paul Pediatr.**, v.20, n.1, p.37-42, 2002.

DEUGNIER, Y.; BRISSOT, P.; LORÉAL, O. Iron and the liver: update 2008. **J Hepatol.**, v.48, n.1, p.113-23, 2008.

DEVINCENZI UM, RIBEIRO LC, SIGULEM DM. Anemia ferropriva na primeira infância. **Rev Nutr.**, v.11, n.2, p.5-17, 2000.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Ed. DA Champagnat, 1996. 123.p.

EMBRAPAA. **Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura (CNPMPF)**. Perguntas e Resposta: Acerola. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br>. Acesso em: 03 fev. 2012

EMBRAPAb. **Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura (CNPMPF)**. A cultura da acerola. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br>. Acesso em: 03 fev. 2012.

EMBRAPA. **Embrapa lança primeira acerola de mesa, 2004**. Disponível em: <http://www.embrapa.br/imprensa/noticias>. Acesso em 03 fev. 2012.

EMBRAPA. **Projeto pesquisa novas variedades de citros e acerola para o Acre, 2009**. Disponível em: <http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/> Acesso em: 03 fev. 2012.

FACCO, E. M. P.; Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 2006.

FAIRBANKS, V.F. Iron in medicine and nutrition. In: SHILLS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M. Modern nutrition in health and disease, ed 9, vol 1, **Philadelphia**, 1999, Lea & Febiger.

FAO (Food and Agriculture Organization)/ WHO (World Health Organization). Vitamin A. In: FAO/WHO. **Human vitamin and mineral requirements**. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Bangkok; 2001. p. 87-107

FIX, O. K.; KOWDLEY, K. V. Hereditary hemochromatosis. **Minerva Med.**, v.99, n.6, p.605-17, 2008.

FLEMING, DJ. *et al.* Iron status of the free-living, elderly Framingham Heart Study cohort: an iron-replete population with a high prevalence of elevated iron stores, **Am J Clin Nutr** v.73, p.638, 2001.

FOOD AND NUTRITION BOARD. **National Research Council, National Academy of Science: recommended dietary allowances**, ed 10, Washington, DC, 1989, National Academy Press.

FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; CAVALCANTE, M. J. B. Doenças da acerola (*Malpighia glabra* L.) no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13, 1994, Salvador, BA. Resumos. Salvador, BA: SBF, v.1, p.57, 1994.

GARCIA-CASAL, M. N.; LAYRISSE, M.; SOLANO, L. *et al.* Vitamin A and beta-carotene can improve nonheme iron absorption from rice, wheat and corn by humans. **J Nutr**, v.128, n.3, p.646-50, 1998.

GIULLANDD, J. C.; LEQUEU, B. **As vitaminas: do nutriente aos medicamentos**. São Paulo: Ed. Santos, 1995.

GONZAGA NETO, L.; SOARES, J. M. **Acerola para exportação: Aspectos técnicos da produção**. Brasília: EMBRAPA – SPI, 1994. 43p. (Série Publicações Técnicas FRUPEX; 10).

GONZAGA NETO, L.; AMARAL, M.G.; SAURESSING, M.E. Propagação vegetativa em aceroleira. II Produção da muda em telado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13, 1994, Salvador, BA. Resumos. Salvador, BA: SBF, 1994. v. 1, p. 72.

GOULÃO, L. F.; OLIVEIRA, C. M. Cell wall modifications during fruit ripening: when a fruit is not the fruit. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v.19, p.4-25, 2008.

GUÇLU, K.; SOZGEN, K.; TUTEM, E.; OZYUREK, M.; APAK, R. Spectrophotometric determination of ascorbic acid using copper (II) – neocuproine reagent in beverages and pharmaceuticals. **Talanta**, *In press*, 2004.

GURRIN, L.C.; OSBORNE, N.J.; CONSTANTINE, C.C.; MCLAREN, C.E.; ENGLISH, D.R.; GERTIG, D.M. *et al.* The natural history of serum iron indices for HFE C282Y homozygosity associated with hereditary hemochromatosis. **Gastroenterology**, v.135, n.6, p.1945-52, 2008. Comment in: *Gastroenterology*. v.135, n.6, p.1855-7, 2008.

HAAS, J.D.; BROWNLIE, T. Iron deficiency and reduced work capacity: a critical review of the research to determine a causal relationship. **J Nutr.**, v.131, p.676-690, 2001.

HERBERT, C.; Viewpoint: does mega-C do more good than harm, or more harm than good? **Nutrition Today**, v.28, n.1, p.28, 1993.

HERBERT, V. Everyone should be tested for iron disorders, **J Am Diet Assoc.** v.92, p.1502, 1992.

HUNT, J. R. Dietary and physiological factors that effect the absorption and bioavailability of iron. **International Journal for vitamin and Nutrition Research**, v.75, n.6, p.375-384, 2005.

HURRELL, R. F. Bioavailability of iron. **Eur J Clin Nutr.**, v.51, n.1 p.54-8, 1997.

HURRELL, R. F. Fortification: overcoming technical and practical barriers. **J Nutr.**, v.132, n.4, p.806-812, 2002.

ITOO, S.; AIBA, M.; ISHIHATA, K. Comparison of ascorbic acid content in acerola fruit from different production region depend on degree of maturity, and it's stability by processing. **Nipon Shokuhim Kogyo Gakkaishi**, Tóquio, v.37, n.9, p.726-729, 1990.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. Brasília: Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005. 1018p.

IOM (INSTITUTE OF MEDICINE). **Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc**. Washington, DC: National Academy Press, 2001

IOM (INSTITUTE OF MEDICINE). **Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids**. Washington, DC: National Academy Press, 2000b.

JACKSON, G. C.; PENNOCK, N. Fruit and vitamin C production of five and six-year-old acerola trees. **Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, Rio Piedras, v.42, p.196-205, 1958.

JAIN, A.; GHOURASIA, A.; VERMA, K. K. Determination of Ascorbic acid in Soft Drinks, Preserved fruit juices and pharmaceuticals by flow injection spectrophotometry: matrix absorbance correction by treatment with sodium hydroxide. **Talanta**, v.42, n.6, p.779-787, 1995.

JOHNSTON, C. S.; Biomarkers for establishing a tolerable upper intake level for vitamina C. **Nutr Rev**, v.57, p.71-77, 1999.

KRAUSE, M. V.; MAHAN, L. K. **Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. Ed. Roca, 10º ed., 2002.

KRAUSE, M. V.; MAHAN, L. K. **Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. Ed. Roca, 11º ed., 2005.

KUSHNER JP, PORTER JB, OLIVIERI NF. Secondary iron overload. **Hematology Am Soc Hematol Educ Program**. p.47-61, 2001

LADEROZA, M.; DRAETTA, I. S. Enzimas e pigmentos: influências e alterações durante o processamento. In: SOLER, M. P.; BLEINROTH, E. W.; LADEROZA, M. **Industrialização de frutas**. 3. ed. Campinas: ITAL, 1991. cap. 2, p. 17-30. (Manual técnico, 8).

LEDO, A. S.; MEDEIROS, J. A. Propagação vegetativa por estaquia de acerola (*Malpighia glabra*) em Rio Branco-Acre. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13, 1994, Salvador, BA. Resumos. Salvador, BA: SBF, 1994. v. 1, p. 73-74.

LEE, H. S.; COATES, G. A. Vitamin C in frozen, fresh squeezed, unpasteurized, polyethylene-bottled, orange juice: a storage study. **Food Chem.**, v. 65, p. 165-168, 1999.

LEE, S. C.; PROSKY, L.; DEVRIES, J.W. Determination of total, soluble and insoluble dietary fiber in foods. Enzymatic-gravimetric method, Mês-TRIS Buffer: collaborative study. **Journal of Association of Official Analytical Chemistry International**, v.75, p.395-416, 1992.

LIMA, A. S.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; SILVA, F. G. V.; FIGUEIREDO, E. A. T. Desenvolvimento de bebida mista à base de água de coco e suco de acerola. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.28, n.3, p.683-690, 2008.

LIMA, A. C. V. M. S.; LIRA, P. I. C.; ROMANI, S. A. M.; EICKMANN, S. H.; LIMA, M. C. Fatores determinantes dos níveis de hemoglobina em crianças aos 12 meses de vida na Zona da Mata Meridional de Pernambuco. **Rev Bras Saúde Matern Infant** 2004; v.4, p.35-43, 2004.

LIMA, V. L. A.; MÉLO, E. A.; MACIEL, M. I. S. Avaliação do teor de antocianinas em polpa de acerola congelada proveniente de frutos de 12 diferentes aceroleiras (*Malpighia emarginata* D.C.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 101-103, 2003.

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, L. S.; NASCIMENTO, P. P. Flavonóides em seleções de acerola (*Malpighia sp. L.*). 1- Teor de antocianinas e flavonóis totais. **Cienc. Rural**, v.30, n.6, p.1063-1064, 2000.

LIMA, R. M. T. **Avaliação da estabilidade química, físico-química e microbiológica de polpas de acerola orgânica pasteurizadas e não pasteurizadas**. 2010. 72f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2010

LUND, E.K.; WHARF, S.G.; TAIT-F, S.J.; JOHNSON, I.T. Oral ferrous sulfate supplements increase the free radical-generating capacity of feces from healthy volunteers. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.69, p.250-255, 1999.

LYNCH, S.R. Interacion of iron witch other nutrients. **Nutrition Reviews**, v.55, n.4, p.102-110, 1997.

MARCHESE, D. Citrus consumers trend in Europe. New tastes sensation: The blood orange juice case. In: Citrus Processing Short Course Proceedings, University of Florida, Gainesville, FL, p. 19-39, 1995.

MARCHI, R. P.; SZARFARC, S. C.; RODRIGUES, J. E. F. G. Consumo de arroz fortificado com ferro na profilaxia da deficiência do mineral. **Nutrire Rev Soc Bras Aliment Nutr.**, v.28, p.53-64, 2004.

MATSUURA, F. C. A. U. **Processamento e caracterização de suco integral concentrado congelado de acerola**. Campinas, 1994. 141p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. 1994.

MATSUURA, F. C. A. U.; ROLIM, R. B. Avaliação da adição de suco de acerola em suco de abacaxi visando à produção de um “blend” com alto teor de vitamina C. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.1, p.138-141, 2002.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. Sensory evaluation techniques. **Boca Raton: CRC Press**, p.159, 1987.

MORRIS, E.R. An overview of current information on bioavailability of dietary iron to humans. **Fed Proc.**, v.42, n.6, p.1716-20, 1983.

MUSTARD, M. J. The ascorbic acid content of some Malpighian fruit and jellys. **Science**, Washington, v.104, p.230-235, 1946.

NABESHIMA, E. H.; ORMENESE, R. C. S. C.; MONTENEGRO, F. M.; TODA, E.; SADAHIRA, M. S. Propriedades tecnológicas e sensoriais de pães fortificados com ferro. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.25, n.3, p.506-511, 2005.

NICOLI, M. C.; ANESE, M.; PARPINEL, M. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. **Trends Food Sci. Technol.**, v.10, n.3, p.94-100, 1999.

NRC (National Research Council). Dietary Reference Intakes: for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids. Washington, D.C., **National Academy Press**, p.506, 2000.

O'KEEFE, T. **Ascorbic acid and stable ascorbate esters as sources of vitamin C in aquaculture feeds**. 2001. Singapore: American Soybean Association – United Soybean Board, 2001. 8 p. (ASA Technical Bulletin Vol. AQ48-2001). Disponível em: <<http://www.asasea.com/technical/aq48-2001.html>>. Acesso em: 16 abr. 2003.

OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, E. Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis. Campinas: **CETEA/ITA**, cap. 1, p.1-22 2001.

OLIVARES, M. G.; TOMÁS, W. K. Consecuencias de la deficiencia de hierro. **Rev Chil Nutr.**, v.30, p.226-33, 2003.

OMS (Organização Mundial de Saúde). Série Informes Técnicos. **Anemia nutricionales: informe de um grupo de expertos em nutricion de la OMS**. Ginebra: OMS; 1972.

PAIVA, A. A.; RONDÓ, P. H. C.; GUERRA-SHINOHARA, E. M. Parâmetros para avaliação do estado nutricional de ferro. **Rev Saúde Pública**. v.34, n.4, p.421-26, 2000.

PATTERSON, A.J. *et al.* Dietary treatment of iron deficiency in women of child-bearing age, **Am J Clin Nutr.**, v.74, p.650, 2001.

PETRÓCZI, A.; NAUGHTON, D. P.; MAZANOV, J.; HOLLOWAY, A.; BINGHAM, J. Performance enhancement with supplements: incongruence between rationale and practice. **J Int Soc Sports Nutr.**, v.4, p.19, 2007.

PIETRANGELO, A. Hereditary hemochromatosis - a new look at an old disease. **N Engl J Med.**, v.350, n.23, p.2383-9, 2004

PIETRANGELO, A. Inherited metabolic disease of the liver. **Curr Opin Gastroenterol.**, v.25, n.3, p.209-14, 2009.

PIMENTEL, M. L.; MAIA, G. A.; OLIVEIRA, G. S. F. et al. Influência do processamento sobre a vitamina C do suco da acerola (*Malpighia glabra* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.1, p.143-146, 2001.

POLYDERA, A. C.; STOFOROS, N. G.; TAOUKIS, P. S. Quality degradation kinetics of pasteurized and high pressure processed fresh Navel orange juice: nutritional parameters and shelf life. **Innov. Food Sci. Em. Technol.**, v.6, p.1-9, 2005.

PÓVOA, H, **Radicais Livres em Patologia Humana**, Imago Editora, 1995.

POWELL, L. W. Genetic diagnosis of hemochromatosis: implications for prophylaxis and treatment. In: Arroyo V, Bosch J, Bruguera M, editors. Therapy in liver diseases. Barcelona: Masson;. p.391-404, 1997.

RASMUSSEN, K.M. Is there a casual relationship between iron deficiency or iron-deficiency anemia and weight at birth, length of gestation and perinatal mortality? **J Nutr.**, v.131 p.590-603, 2001

ROCHA, I. C. **Suco de Acerola: Efeito da temperatura de pasteurização e armazenamento.** Recife, 1988. 105p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pernambuco.1988.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Aguide to carotenoid analysis in foods.** Washington, DC: International Life Sciences Institute, 1999. 64p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Aguide to carotenoid analysis in foods.** Washington, DC: International Life Sciences Institute, 2001. 64p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos.** Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2008. 49p.

RODRIGUES, J.E.F.G.; PINEDA, O.; NAME, J.J.; SANCHEZ, J.G. Efetividade do ferro bis-glicina quelato em achocolatado no controle da deficiência de ferro em pré-escolares. **Nutrire Rev Soc Bras Aliment Nutr.**, v.31, p.43-52, 2006.

ROJAS, A. M.; GERSCHENSON, L. N. Ascorbic acid destruction in sweet aqueous model systems. **Leb.-Wiss. U-Technol.**, v.30, p.567-572, 1997.

ROSSITER, J. G. A.; MUSSER, R. S.; MARTINS, L. S. S.; PEDROSA, E. M. R.; MEDEIROS, J. E. Seleção de genótipos de aceroleira assistida por marcadores isoenzimáticos visando à resistência a *Meloidogyne incognita* Raça 2. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.4, p.1057-1064, 2008.

SALGADO, S. M.; GUERRA, N. B.; MELO FILHO, A. B. Polpa de fruta congelada: efeito do processamento sobre o conteúdo de fibra alimentar. **Rev. Nutr.**, Campinas, v.12, n.3, p.303-308, 1999.

SALGUERIO, M; ZUBILLAGA, M; LYSIONEK, A; CARO, R; WEILL, R.; BOCCIO, J. Fortification Strategies to combat zinc and iron deficiency. **Nutr Rev.** v.60, p.52-58, 2002.

SAMMÁN, N.; MALDONADO, S.; ALFARO, M. E.; FARFÁN, N.; GUTIERREZ, J. Composition of different bean varieties (*Phaseolus vulgaris*) of northwestern Argentina (region NOA): cultivation zone influence. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.47, n.7, p.2.685-89, 1999.

SAMPAIO, C. R. P.; FERREIRA, S. M. R.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Perfil sensorial e aceitabilidade de barras de cereais fortificadas com ferro. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.20, n.1, p. 95-106, 2009.

SANTOS, KMO, BARROS FILHO AA. Consumo de produtos vitamínicos entre universitários de São Paulo. *Rev Saúde Pública*, v.36, n.2, p.250-253, 2002.

SANTOS, M. N. G.; SANTOS, A. M. P. Caracterização da acerola no Estado de Sergipe. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13, 1994, Salvador, BA. Resumos. Salvador, BA: SBF. v.1, p.93, 1994.

SAS Institute, Inc. - STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. SAS User's Guide: Statistics. Version 5. Cary, NC, 1999.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, É. Alterações de alimentos que resultam em perda de qualidade. In: SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, É. Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis. Campinas: CETEA, 2001. p.1-22.

SEBRAEa (Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresa). Disponível em: <http://www.ceplac.gov.br/radar/acerola.htm>. Acesso em: 03 fev. 2012.

SEBRAEb (Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresa). Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/setor/fruticultura>. Acesso em: 03 fev. 2012

SEMBA, R. D.; BLOEM, M. W. The anemia of vitamin A deficiency: epidemiology and pathogenesis. **Eur J Clin Nutr.**, v.56, p.271-81, 2002.

SEMENSATO, L. R. **Caracterização físico-química de frutos genótipos de acerola (*Malpighia* sp.), cultivados em Anápolis-GO, processamento e estabilidade de seus produtos.** Goiânia, 1997, 74 p. Dissertação (Mestrado em Agronomias), Universidade Federal de Goiânia, Goiânia, GO. 1997.

SILVA, M. F. V.; GUEDES, M. C.; MENEZES, H. C. Caracterização dos pigmentos antocianicos de diferentes cultivares de acerola (*Malpighia glabra*) por CLAE. In: LATIN AMERICAN CONGRESS ON CHROMATOGRAPHY, 7., 1988, Águas de São Pedro. Book of Abstracts... São Carlos: USP, 1988. p.155.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** 2 ed. São Paulo: Editora Varela, 2001. 229p.

SILVA, W.S. **Qualidade e atividade antioxidante em frutos de variedades de aceroleira.** 2008. 134f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. 2008.

STINTZING, F. C.; STINTZING, A. S.; CARLE, R., FREI, B.; WROLSTAD, R. E. Color and antioxidant properties of cyanidin-based anthocyanin pigments. **J. Agric. Food Chem.**, v.50, n.21, p.6172-6181, 2002.

STOLTZFUS, R. J. Iron-deficiency anemia: reexamining the nature and magnitude of the public health problem. Summary: implications for research and programs. **J. Nutr.**, v.131, n.2, p.697-700, 2001.

TANG, L. Comparative study of the bio-availability of ascorbic acid in commercially produced products. Scraton. **Thesis (Faculty of the Department of Chemistry)**, University of Pennsylvania. 1995.

TAVARES, J. et al. Estabilidade do ácido ascórbico em polpa de acerola submetida a diferentes tratamentos. **Magistra on line** da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, v.15, n.2, 2003.

TERCI, D. B. L. **Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas**. 2004. 213f. Tese (Doutorado em Química), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2004.

THIAPÓ, A. P.; SOUZA, L. B.; LIBERA, B. D.; ACCIOLY, E.; SAUNDERS, C.; RAMALHO, A. Vitamina A, ferro e zinco na gestação e lactação **Rev Bras Nutr Clin.**, v.22, n.2, p.155-61, 2007

TIRAPÉGUI J. **Nutrição, metabolismo e suplementação na atividade física**. Ed. Atheneu, São Paulo, 1º Ed., 2005.

TORRES, M.A.A.; SATO, K.; LOBO, N.F.; QUEIROZ, S.S. Efeito do uso de leite fortificado com ferro e vitamina C sobre os níveis de hemoglobina e condição nutricional de crianças menores de 2 anos. **Rev. Saúde Pública.** V.29, p.301-7, 1995.

TORRES, M.A.A.; LOBO, N.F.; SATO, S.; QUEIROZ, S.S. Fortificação do leite fluido na prevenção e tratamento da anemia carencial ferropriva em crianças menores de 4 anos. **Rev Saúde Pública.** v.30, p.350-57, 1996.

TROMBETE, F.; CARVALHO, G.; CARDOSO, M. Sorinho – mistura ternária de frutas e soro de leite fortificada com ferro. I Jornada Científica e VI FIPA do CEFET, Bambuí. Centro Federal de Educação Tecnológica de Bambuí – MG, 2008.

TUMA, R.B.; YUYAMA, L.K.O.; AGUIAR, J.P.L.; MARQUES, H.O. Impacto da farinha de mandioca fortificada com ferro aminoácido quelato no nível de hemoglobina de pré-escolares. **Rev Nutr.**, v.16, p.29-39, 2003.

TUOMAINEN, T. P.; PUNNONEN, K.; NYSSONEN, K; SALONEN, J. T. Association between body iron stores and the risk of acute myocardial infarction in men. **Circulation**, **97**. P.1461-1466, 1998.

UNICAMP. **Tabela Brasileira de Composição dos alimentos** - 4ª edição revisada e ampliada, 2011. Disponível em: www.unicamp.br/nepa/taco. Acesso em: 10 fev. 2012.

VASCONCELOS, I. A. L.; CÔRTEZ, M. H.; COITINHO, D. C. Alimentos Sujeitos a fortificação compulsória com ferro: um estudo com gestantes. **Rev. Nutr. Campinas**, v.21, n.2, 2008.

VIDA, J. B.; BRANDÃO FILHO, J. U. T. Avaliação da sanidade de viveiros para produção de mudas de aceroleira na região noroeste do Estado do Paraná, em relação a *Meloidogyne* spp. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13, 1994. Salvador, BA. Resumos. Salvador, BA: SBF, 1994. v.1, p.58.

VELLOZO, E. P.; FAGIOLI, D.; SILVA, R. Pão enriquecido com ferro na prevenção da anemia de crianças matriculadas em creches da prefeitura do Município de São Paulo. **Nutrição em Pauta.** v.63, p.32-42, 2003.

VIEIRA, S. **Análise de variância (ANOVA)**. São Paulo: Atlas, 2006. 204 p.

WARUMBY, J. F.; LYRA NETO, A. M. C.; ARRUDA, G. P. Pragas que ocorrem na aceroleira (*Malpighia glabra*) no Estado de Pernambuco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13, 1994. Salvador, BA. Resumos. Salvador, BA: SBF, 1994. v.1, p. 61-62.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION) – **Iron deficiency anaemia: assessment, prevention and control: a guide for programme managers**. Geneve, 2001.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Nutritional anemia**. KRAEMER, K.; ZIMMERMANN, M.B. Ed. Sight and Live Press:Basel, 2007. 400p.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Nutritional anemias**. Report of a WHO Scientific Group. Technical Report Series n° 405. Genebra; 1968.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Preventing and controlling iron deficiency anaemia through primary health care – A guide for health administrators and program managers**. WHO, Geneva:1989.58p.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005**. WHO Global database on anaemia. BENOIST, B.; Mc LEAN, E.; EGLI, I.; COGSWELL, M. Ed. WHO: Geneva, 2008. 40p.

WOJCIK, J. P.; SPEECHLEY, M. R.; KERTESZ, A. E.; CHAKRABARTI, S.; ADAMS, P. C, *et al*. Natural history of C282Y homozygotes for hemochromatosis. **Can J Gastroenterol.**, v.16, n.5, p.:297-302, 2002.

WROLSTAD, R. E.; GIUSTI, M. M. Anthocyanins. Characterization and Measurement with UV-Visible Spectroscopy. In: Wrolstad, R. E. (Ed.). **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: John Wiley & Sons. Unit. F1.2.1-13, 2001.

YAMASHITA, F.; BENASSI, M. T.; TONZAR, A. C.; MORIYA, S.; FERNANDES, J. G. Produtos de acerola, estudo da estabilidade de vitamina C. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.23, n.1, p.92-94, 2003.

YIP, R. Iron deficiency: contemporary scientific issues and international programmatic approaches. **J Nutr.**, v.124, n.8, p.1479-90, 1994.

ZARBIELLI, M.; SANTIN, M.; JACQUES, R.; STUART, G.; VALDUGA, E. Formulação e caracterização físico-química e sensorial de queijo minas light enriquecido com fonte de ferro. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.15, n.3, p.251-257, 2004.

ZERDIN, K.; ROONEY, M. L.; VERMUE, J. The vitamin C content of orange juice packed in an oxygen scavenger material. **Food Chem.**, v.82, p.387-389, 2003.

7. ANEXOS

A – Análises Realizadas e Periodicidade

B – Ficha Utilizada para o Teste Afetivo – Escala Hedônica e Intenção de Compra

C – Ficha para coleta de dados demográficos dos provadores no Teste de Aceitação e Intenção de Compra.

D – Anexo D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - Comitê de Ética em Pesquisa.

Anexo A: Análises Realizadas e Periodicidade

Análises químicas e físico-químicas	Na matéria-prima e no produto formulado	No produto formulado Quinzenalmente	No produto formulado Mensalmente
Teor de Sólidos Solúveis Totais (° Brix)	X		X
pH	X		X
Acidez Total	X		X
Glicídios Totais (reduzores e não reduzores)	X		
Fibras Totais (solúvel e insolúvel)	X		
Teor do Mineral Ferro	X		
Teor de Ácido Ascórbico	X	X	
Carotenoides Totais	X		
Antocianinas Totais	X		
Análise microbiológica	No produto formulado		
Coliformes a 35°C	X		
Coliformes a 45°C	X		
Bactérias Aeróbias Mesófilas	X		
<i>Salmonella SP</i>	X		
Bolores e Leveduras	X		
Análise sensorial			
Teste de Aceitação			X
Intenção de Compra			X

Anexo B – Ficha Utilizada para o Teste Afetivo – Escala Hedônica e Intenção de Compra

Nome: _____ Data: _____

Você vai analisar 3 amostras de refresco de acerola. Por favor, avalie cada amostra para cada característica, quanto a sua preferência.

		N ^o DA AMOSTRA		
		_____	_____	_____
SABOR	Desgostei muitíssimo	()	()	()
	Desgostei muito	()	()	()
	Desgostei regularmente	()	()	()
	Desgostei ligeiramente	()	()	()
	Indiferente	()	()	()
	Gostei ligeiramente	()	()	()
	Gostei regularmente	()	()	()
	Gostei muito	()	()	()
	Gostei muitíssimo	()	()	()
COR	Desgostei muitíssimo	()	()	()
	Desgostei muito	()	()	()
	Desgostei regularmente	()	()	()
	Desgostei ligeiramente	()	()	()
	Indiferente	()	()	()
	Gostei ligeiramente	()	()	()
	Gostei regularmente	()	()	()
	Gostei muito	()	()	()
	Gostei muitíssimo	()	()	()
AROMA	Desgostei muitíssimo	()	()	()
	Desgostei muito	()	()	()
	Desgostei regularmente	()	()	()
	Desgostei ligeiramente	()	()	()
	Indiferente	()	()	()
	Gostei ligeiramente	()	()	()
	Gostei regularmente	()	()	()
	Gostei muito	()	()	()
	Gostei muitíssimo	()	()	()
QUALIDADE GERAL	Desgostei muitíssimo	()	()	()
	Desgostei muito	()	()	()
	Desgostei regularmente	()	()	()
	Desgostei ligeiramente	()	()	()
	Indiferente	()	()	()
	Gostei ligeiramente	()	()	()
	Gostei regularmente	()	()	()
	Gostei muito	()	()	()
	Gostei muitíssimo	()	()	()

Você compraria esses produtos? Marque com um X a sua resposta para cada amostra.

		N ^o DA AMOSTRA		
		_____	_____	_____
COMPRARIA	()	()	()	
TALVEZ COMPRARIA	()	()	()	
NÃO COMPRARIA	()	()	()	

Anexo C – Ficha para coleta de dados demográficos dos provadores no Teste de Aceitação e Intenção de Compra.

1. Nome: _____ Data: _____

2. Sexo: feminino masculino

3. Idade: 18-25 26-35 36-45 46-55 56-65

4. Grau de escolaridade:

nenhum fundamental incompleto fundamental médio superior pós-graduado

5. Qual a sua profissão?

6. Renda familiar mensal: (SM: Salário mínimo = R\$ 622,00)

1 a 2 SM 3 a 5 SM 5 a 10 SM > 10 SM

7. Você gosta de Acerola?

Sim Não Não gosto nem desgosto (indiferente)

8. Qual a frequência com que você consome Acerola?

Nunca Raramente 1 vez por mês 1 vez por semana Todos os dias

9. Você gosta de Refresco de Acerola?

Sim Não Não gosto nem desgosto (indiferente)

10. Qual a frequência com que você toma Refresco de Acerola?

Nunca Raramente 1 vez por mês 1 vez por semana Todos os dias

Anexo D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - Comitê de Ética em Pesquisa.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
RESOLUÇÃO CNS Nº 196/96**

Estamos desenvolvendo um estudo que visa a elaboração de um produto fonte de ferro e vitamina C, de baixo custo e sabor agradável que possa, futuramente, ser utilizado na prevenção e combate da anemia, doença a qual atinge, principalmente, mulheres e crianças. O título do trabalho registrado no comitê de ética é “DESENVOLVIMENTO E ESTABILIDADE DE POLPA DE ACEROLA PASTEURIZADA E FORTIFICADA COM FERRO QUELATO”. O produto deverá ser avaliado quanto ao seu sabor, cor, aparência, odor, qualidade geral e intenção de compra. Por isso, você está sendo convidado (a) a participar deste estudo. Além disso, será necessário responder algumas perguntas importantes para a realização da pesquisa.

Esclareço que durante o trabalho não haverá riscos ou desconfortos, nem tampouco custos ou forma de pagamento pela sua participação no estudo. A fim de garantir a sua privacidade, seu nome não será revelado, porém os dados da pesquisa podem vir a ser publicados e divulgados.

É importante que você saiba que a sua participação neste estudo é completamente voluntária e que você pode recusar-se a participar ou interromper sua participação a qualquer momento sem penalidades ou perda de benefícios aos quais você tem direito.

Estaremos sempre a disposição para qualquer esclarecimento acerca dos assuntos relacionados ao estudo, no momento em que desejar, através do (s) telefone (s) 27968954 e 94895320 e no Laboratório de Processamento de Alimentos do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), onde você poderá procurar por Fabiana Rocha Reis de Jesus e/ou Armando Ubirajara Oliveira Sabaa Srur (pesquisadores responsáveis). A presente pesquisa foi submetida à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFRJ, tendo sido aprovada do ponto de vista ético.

Pedimos a sua assinatura neste consentimento, para confirmar a sua compreensão em relação a este convite, e sua disposição a contribuir na realização do trabalho, em concordância com a resolução CNS nº 196/96 que regulamenta a realização de pesquisas envolvendo seres humanos.

Desde já, agradecemos a sua atenção.

Pesquisador responsável

Eu, _____,
após a leitura deste consentimento declaro que compreendi o objetivo deste estudo e confirmo meu interesse em participar desta pesquisa.

Assinatura do participante

Rio de Janeiro, ____/____/____
dia mês ano