INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS, LETRAS E CIÊNCIAS EXATAS – IBILCE
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

DÉBORA MARIA MORENO LUZIA

PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE ÓLEOS EXTRAÍDOS DE SEMENTES DE FRUTOS DO CERRADO BRASILEIRO

São José do Rio Preto-SP
2012

DÉBORA MARIA MORENO LUZIA

PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE ÓLEOS EXTRAÍDOS DE SEMENTES DE FRUTOS DO CERRADO BRASILEIRO

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto, para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos (Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos).

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Neuza Jorge
UNESP - São José do Rio Preto
Orientadora

Prof. Dr. Odair Zenebon
IAL - Instituto Adolfo Lutz

Profa. Dra. Roseli Aparecida Ferrari
ITAL - Instituto de Tecnologia de Alimentos

Profa. Dra. Agdamar Affini Suffredini
UNIRP - Centro Universitário de Rio Preto

Profa. Dra. Mieko Kimura
UNESP - São José do Rio Preto

São José do Rio Preto, 20 de julho de 2012.

Luzia, Débora Maria Moreno.
Propriedades funcionais de óleos extraídos de sementes de frutos do cerrado brasileiro / Débora Maria Moreno Luzia. - São José do Rio Preto: [s.n.], 2012.
234 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Neuza Jorge
Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Tecnologia de alimentos. 2. Óleos e gorduras. 3. Óleos vegetais. 4. Antioxidantes. 5. Compostos bioativos. 6. Cerrado - Brasil. I. Jorge, Neuza. II. Universidade Estadual Paulista. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 664.34

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
Campus de São José do Rio Preto - UNESP

“APRENDI...

Que se aprende errando.
Que crescer não significa fazer aniversário.
Que o silêncio é a melhor resposta quando se ouve uma bobagem.
Que trabalhar significa não só ganhar dinheiro.
Que amigos a gente conquista mostrando o que somos.
Que os verdadeiros amigos sempre ficam com você até o fim.
Que a maldade se esconde atrás de uma bela face.
Que não se espera a felicidade chegar, mas se procura por ela.
Que quando penso saber de tudo ainda não aprendi nada.
Que a Natureza é a coisa mais bela na vida.
Que amar significa se dar por inteiro.
Que um só dia pode ser mais importante que muitos anos.
Que se pode conversar com as estrelas.
Que se pode confessar com a Lua.
Que se pode viajar além do infinito.
Que ouvir uma palavra de carinho faz bem à saúde.
Que sonhar é preciso.
Que nosso ser é livre.
Que o julgamento alheio não é importante.
Que o que realmente importa é a paz interior.
E finalmente, aprendi que não se pode morrer para aprender a viver...”

(Prof. Dr. Felipe Aquino)

Ao meu esposo Fábio, amor de minha vida

OFEREÇO

Aos meus pais, Eugênio e Margarete, por serem meus exemplos de amor, luta e dedicação

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo agradeço a Deus e à Nossa Senhora das Graças pelo dom da vida e oportunidade de crescimento moral, espiritual e intelectual;

À minha querida orientadora, Profa. Dra. Neuza Jorge, pela oportunidade de realização deste trabalho, meu agradecimento e admiração pelo exemplo de orientação e, principalmente, pela sua contribuição na minha formação científica;

Aos colegas da Pós-Graduação e às companheiras das jornadas no laboratório, Tainara, Carolina, Ana Carolina, Aline, Danusa e Liara, pelos momentos de amizade, carinho, tristezas e alegrias. Bons momentos passamos juntas e mais uma vez não tenho palavras para expressar tamanho agradecimento, vocês são muito especiais;

Aos professores e funcionários do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, com quem convivi durante o doutorado, pela constante demonstração de amizade;

Ao Técnico do Laboratório de Óleos e Gorduras, Luiz, pelo apoio, carinho e dedicação;

À FAPESP, pela concessão da bolsa de estudo (processo n°. 2009/02307-0) e auxílio à pesquisa (processo n°. 2009/53661-9);

Ao meu tio Francisco Maria de Toledo Júnior e ao Dr. Valdomiro Aurélio (*in memorian*) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, pela ajuda na aquisição e coletas dos frutos do cerrado;

Ao Prof. Dr. Emanuel Gomes de Moura da Universidade Estadual do Maranhão, pela acolhida e, principalmente, pela realização das análises de minerais no Laboratório de Química do Solo e Nutrição de Plantas;

Ao Fábio, meu querido, pela presença ativa com muito amor, incentivo, atenção e carinho e pela compreensão nos meus longos períodos de ausência;

Ao meu pai Eugênio a quem tanto amo e me orgulho muito, e à minha mãe Margarete, que sempre me deu muito amor, carinho, estímulo e dedicação e, especialmente, por estarem ao meu lado em todos os momentos;

Ao meu irmão Deivid, pela infinita cumplicidade e apoio incondicional;

À toda minha família, por acreditar em mim sempre, e;

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho e para que eu me tornasse uma pessoa melhor tanto profissional como ser humano. A todos vocês, minha eterna gratidão.

SUMÁRIO

RESUMO **17**
ABSTRACT **19**
TRABALHOS DESENVOLVIDOS NO ÂMBITO DO PROJETO DE DOUTORADO **21**
LISTA DE FIGURAS **25**
LISTA DE TABELAS **29**
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS **31**

I. PARTE TEÓRICA **33**
Introdução geral **35**
Objetivos **37**
Organização e estrutura da tese **38**

CAPÍTULO 1. Frutos do cerrado brasileiro **39**
RESUMO 41
ABSTRACT 42
1. Introdução 43
2. Alternativas de sustentabilidade 44
2.1. Araticum (*Annona crassiflora* Mart.) 45
2.2. Baru (*Dipteryx alata* Vog.) 47
2.3. Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) 48
2.4. Jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) 50
2.5. Jenipapo (*Genipa americana* L.) 51
2.6. Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) 52
2.7. Sapoti (*Achras sapota* L.) 55
3. Considerações finais 56
4. Referências bibliográficas 56

CAPÍTULO 2. Capacidade antioxidante de fontes vegetais **61**
RESUMO 63
ABSTRACT 64

1. Introdução 65
2. Oxidação lipídica 65
3. Antioxidantes..... 67
3.1. Classificação e mecanismo de ação 68
3.2. Tipos de antioxidantes 69
3.3. Funções dos antioxidantes naturais 71
3.4. Medidas analíticas 71
3.4.1. β-caroteno/ácido linoleico 72
3.4.2. $DPPH^{\bullet}$ 72
3.4.3. FRAP 73
3.4.4. $ABTS^{\bullet+}$ 73
3.4.5. ORAC 74
3.5. Fontes vegetais 74
4. Considerações finais 75
5. Referências bibliográficas 77

CAPÍTULO 3. Compostos bioativos em fontes vegetais 83
RESUMO 85
ABSTRACT 86
1. Introdução 87
1.1. Fitosteróis 88
1.2. Tocoferóis 90
1.3. Compostos fenólicos 92
1.4. Carotenoides 93
1.5. Ácidos graxos essenciais 95
2. Mecanismo de ação dos compostos bioativos 96
3. Funções dos compostos bioativos 101
4. Medidas analíticas para a determinação dos compostos bioativos 107
5. Considerações finais 119
6. Referências bibliográficas 120

II. PARTE EXPERIMENTAL 137
CAPÍTULO 1. Composição química centesimal e nutricional de sementes de frutos do cerrado brasileiro 139

RESUMO 141
ABSTRACT 142
1. Introdução 143
2. Material e métodos 145
2.1. Material 145
2.1.1. Coleta dos frutos 145
2.1.2. Preparo das amostras 146
2.2. Métodos 147
2.2.1. Composição química centesimal 147
2.2.2. Vitamina C 147
2.2.3. Minerais 148
2.3. Análise estatística 148
3. Resultados e discussão 148
3.1. Composição química nutricional e teor de vitamina C 148
3.2. Minerais 152
4. Considerações finais 155
5. Referências bibliográficas 155
APÊNDICES 159

CAPÍTULO 2. Propriedades físico-químicas de óleos extraídos a frio de sementes de frutos do cerrado brasileiro 161
RESUMO 163
ABSTRACT 164
1. Introdução 165
2. Material e métodos 165
2.1. Material 165
2.1.1. Coleta dos frutos 165
2.1.2. Preparo das amostras 167
2.1.3. Obtenção dos óleos 167
2.2. Métodos 168
2.3. Análise estatística 169
3. Resultados e discussão 169
4. Considerações finais 173
5. Referências bibliográficas 174

APÊNDICE 176

CAPÍTULO 3. Estabilidade oxidativa e capacidade antioxidante de óleos extraídos a frio de sementes de frutos do cerrado brasileiro 177

RESUMO 179

ABSTRACT 180

1. Introdução 181

2. Material e métodos 183

2.1. Material 183

2.1.1. Coleta dos frutos 183

2.1.2. Preparo das amostras 184

2.1.3. Obtenção dos óleos 185

2.2. Métodos 185

2.2.1. Índice de estabilidade oxidativa 185

2.2.2. Capacidade antioxidante 185

2.3. Análise estatística 186

3. Resultados e discussão 187

3.1. Índice de estabilidade oxidativa 187

3.2. Capacidade antioxidante 188

3.3. Correlação de Pearson 191

4. Considerações finais 192

5. Referências bibliográficas 193

APÊNDICES 196

CAPÍTULO 4. Constituintes bioativos de óleos extraídos a frio de sementes de frutos do cerrado brasileiro 199

RESUMO 201

ABSTRACT 202

1. Introdução 203

2. Material e métodos 205

2.1. Material 205

2.1.1. Coleta dos frutos 205

2.1.2. Preparo das amostras 205

2.1.3. Obtenção dos óleos 206
2.2. Métodos 207
2.2.1. Fitosteróis 207
2.2.2. Tocoferóis 207
2.2.3. Compostos fenólicos totais 208
2.2.4. Carotenoides totais 208
2.2.5. Ácidos graxos 209
2.3. Análise estatística 209
3. Resultados e discussão 210
3.1. Fitosteróis e tocoferóis 210
3.2. Compostos fenólicos e carotenoides totais 215
3.3. Ácidos graxos 217
3.4. Correlação de Pearson 222
4. Considerações finais 223
5. Referências bibliográficas 223
APÊNDICES 228

CONCLUSÕES GERAIS 233

RESUMO

A demanda de óleos vegetais com constituintes bioativos vem aumentando nos últimos anos devido à presença de componentes especiais, os quais os caracterizam como alimentos funcionais. Por ser um campo de estudo relativamente recente, há necessidade de um maior número de pesquisas sobre os óleos vegetais que contêm substâncias biologicamente ativas. Este trabalho teve como principal objetivo caracterizar os óleos extraídos de sementes de frutos do cerrado brasileiro a fim de identificar compostos bioativos para avaliar a possível aplicação em alimentos. Nas sementes de araticum, baru, buriti, jatobá, jenipapo, pequi e sapoti foram realizadas a determinação da composição química centesimal (umidade, lipídios, proteínas, cinzas, fibras e carboidratos totais, por diferença) e nutricional, e nos óleos extraídos das sementes foram analisadas as características físico-químicas (ácidos graxos livres, acidez, índices de peróxidos, de refração, de iodo e de saponificação e matéria insaponificável), a determinação do índice de estabilidade oxidativa, a capacidade antioxidante, por meio dos sistemas β-caroteno/ácido linoleico, $DPPH^{\bullet}$, FRAP e $ABTS^{\bullet+}$, bem como a composição em fitosteróis, tocoferóis, compostos fenólicos totais, carotenoides totais e ácidos graxos. Os resultados foram submetidos às análises de variância e testes de Tukey para as médias a 5% empregando o programa ESTAT, versão 2.0. As sementes de araticum, baru e pequi foram as que apresentaram maiores porcentagens de lipídios, 28,24, 38,47 e 51,58%, respectivamente, possibilitando a extração de óleo das mesmas como alternativa para o aproveitamento comercial, e ainda, as sementes do cerrado brasileiro apresentaram elevadas porcentagens de fibras insolúveis, assim como quantidades consideráveis de proteínas, carboidratos totais e boas fontes calóricas. Além de teores significativos de minerais como Ca, K, Mg, Na e P, podendo, assim, serem utilizadas na alimentação humana e animal. Com relação às propriedades físico-químicas, os óleos apresentaram características semelhantes a dos óleos convencionais comestíveis, como soja, girassol, canola, milho, entre outros. Para os índices de estabilidade oxidativa, os valores variaram entre 4,96 a 96,70 horas, observando-se influência da composição de ácidos graxos sobre a resistência dos óleos à oxidação. Quanto à capacidade antioxidante dos óleos, estes mostraram ter capacidade para inibir os radicais livres que são gerados durante a peroxidação do ácido linoleico, além de sequestrar radicais livres, pela interação com o radical

DPPH$^{\bullet}$, e ainda, capacidade de redução do complexo férrico ao ferroso e do radical ABTS$^{\bullet+}$ ao ABTS. Tais fatos levam a crer que os óleos das sementes destes frutos podem apresentar benefícios quando ingeridos, combatendo radicais livres *in vivo*. As quantidades de esterois totais e tocoferóis totais encontradas nas frações lipídicas das sementes foram significativas e decresceram na ordem: buriti > jatobá > jenipapo > baru > araticum > sapoti > pequi. Os óleos também apresentaram relevantes teores de compostos fenólicos totais e carotenoides totais, podendo ser considerados como uma boa fonte destes compostos. Quanto ao perfil de ácidos graxos, os óleos dos frutos do cerrado revelaram um elevado grau de insaturação, destacando-se como ácidos graxos principais, o oleico e o linoleico. Analisando a caracterização química centesimal e nutricional, bem como a composição dos óleos obtidos das sementes de frutos do cerrado brasileiro, pode-se verificar importantes fontes de compostos bioativos a serem empregados como aditivos alimentares, a fim de desempenhar função preventiva na saúde humana e nas indústrias farmacêuticas e cosméticas.

Palavras-chave: antioxidantes, bioativos, cerrado brasileiro, composição química centesimal, métodos analíticos, óleos vegetais.

ABSTRACT

The demand for vegetable oils with bioactive constituents has increased in recent years due to the presence of special components, which characterize them as functional foods. Since it is a relatively new field of study, there is a need for more research on the vegetable oils that contain biologically active substances. This study aimed to characterize the oil extracted from seeds of fruits from the Brazilian cerrado in order to identify bioactive compounds to evaluate possible application in food. The determinations of the proximate (moisture, lipids, protein, ash, fibers and total carbohydrates, by difference) and nutritional compositions were conducted in the seeds, and in oils extracted from the seeds, physicochemical characteristics were analyzed (free fatty acids, acidity, peroxides values, refraction, iodine and saponification and unsaponifiable matter), determining the rate of oxidative stability, the antioxidant capacity, by means of the β-carotene/linoleic acid, $DPPH^{\bullet}$, FRAP and $ABTS^{\bullet+}$ systems, as well as the composition in phytosterols, tocopherols, total phenolic compounds, total carotenoids and fatty acids. The results were submitted to analysis of variance and Tukey test for 5% average, using the ESTAT program, version 2.0. The araticum, baru and pequi seeds showed the highest percentage of lipids, 28.24, 38.47 and 51.58%, respectively, enabling the extraction of oil from them as an alternative to commercial use. Also, the seeds of the Brazilian cerrado fruits showed high percentages of insoluble fibers, as well as considerable amounts of protein, total carbohydrates and good caloric sources, besides significant levels of minerals such as Ca, K, Mg, Na and P, which enable them to be used in food and feed. Regarding physicochemical properties, oils presented characteristics that are similar to those of conventional edible oils, such as soybean, sunflower, canola, corn, among others. For the oxidative stability index, the values ranged from 4.96 to 96.70 hours, observing the influence of fatty acid composition on the oils resistance to oxidation. As to the antioxidant capacity of oils, these proved to have the ability to inhibit free radicals that are generated during the peroxidation of linoleic acid, and to scavenge free radicals, by interacting with the $DPPH^{\bullet}$. They are also able to reduce the ferric complex to ferrous and the radical ABTS to $ABTS^{\bullet+}$. These facts suggest that the oils of these fruits can bring benefits when ingested, by fighting free radicals in vivo. The total amounts of sterols and tocopherols found in the total lipid fractions of the seeds were significant and decreased in the following order: buriti > jatoba >

genipap > baru > araticum > sapodilla > pequi. The oils also showed significant levels of total phenolics and total carotenoids, and can be considered good source of these compounds. As the profile of fatty acids, oils of the fruits from the cerrado showed high degree of unsaturation: oleic and linoleic stand out as the major fatty acids. Analyzing the proximate and nutritional chemical characterization, as well as the composition of oils obtained from seeds of fruits from the Brazilian cerrado, one can notice important sources of bioactives to be used as food additives, in order to perform preventive role in human health and for the pharmaceutical and cosmetic industries.

Keywords: antioxidants, bioactives, Brazilian cerrado, approximate composition, analytical methods, vegetable oils.

TRABALHOS DESENVOLVIDOS NO ÂMBITO DO PROJETO DE DOUTORADO

Resumos expandidos publicados em anais de eventos

(Trabalhos apresentados em conferências internacionais)

1. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos e teor de tocoferóis de óleo extraído das sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.). In: V Simpósio Internacional Tendências e Inovações em Tecnologia de Óleos e Gorduras, 2010, Campinas-SP. CD Rom V Simpósio Internacional Tendências e Inovações em Tecnologia de Óleos e Gorduras, 2010.
2. JORGE, N.; LUZIA, D. M. M. Estabilidade oxidativa de óleos extraídos das sementes de frutos do cerrado brasileiro. In: VIII Congreso Iberoamericano de Ingenieria de Alimentos – VIII CIBIA, 2011, Lima-Peru. Livro de Resumos VIII Congreso Iberoamericano de Ingenieria de Alimentos, VIII CIBIA, 2011.
3. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Teores de fitosteróis presentes nas frações lipídicas das sementes de frutos do cerrado brasileiro. In: VIII Congreso Iberoamericano de Ingenieria de Alimentos – VIII CIBIA, 2011, Lima-Peru. Livro de Resumos VIII Congreso Iberoamericano de Ingenieria de Alimentos, VIII CIBIA, 2011.

Resumos publicados em anais de eventos

(Trabalhos apresentados em conferências nacionais e internacionais)

1. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Óleo de sementes de araticum (*Annona crassiflora*): compostos fenólicos totais e teor de tocoferóis. In: XXII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2010, Salvador-BA. CD Rom XXII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2010.
2. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Tocopherols contents of the oils extracted of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb). In: VIII Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages, 2010, São Carlos-SP. Book Abstracts VIII Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages, 2010.
3. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Perfil de ácidos grasos del aceite extraído de las semillas de buriti (*Mauritia flexuosa* L.). In: 14th AOCS Latin American Congress and Exhibition on Fats and Oils – 14th AOCS, Cartagena-Colômbia, 2011.

4. JORGE, N.; LUZIA, D. M. M. Composição de ácidos graxos presentes na fração lipídica das sementes de sapoti (*Achras sapota* L.). In: 9º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos – 9º SLACA, 2011, Campinas-SP. CD Rom 9º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos – 9º SLACA, 2011.
5. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Propriedades físico-químicas do óleo extraído das sementes de jenipapo (*Genipa americana* L.). In: 9º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos – 9º SLACA, 2011, Campinas-SP. CD Rom 9º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos – 9º SLACA, 2011.
6. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Avaliação da capacidade antioxidante de óleos de frutos do cerrado brasileiro pelos sistemas DPPH$^{\bullet}$ e β-caroteno/ácido linoleico. In: XXIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos – XXIII CBCTA, 2012, Campinas-SP. CD Rom XXIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos – XXIII CBCTA, 2012.
7. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Substâncias bioativas (fitosteróis, tocoferóis e ácidos graxos) de óleos de frutos do cerrado brasileiro. In: XXIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos – XXIII CBCTA, 2012, Campinas-SP. CD Rom XXIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos – XXIII CBCTA, 2012.

Resumos submetidos em eventos científicos

(Trabalhos a serem apresentados em conferência internacional)

1. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Genipap (*Genipa americana* L.): content of bioactive substances (phytosterols, tocopherols, fatty acids) and antioxidant capacity. In: 16th World Congress of Food Science and Technology, 2012, Foz do Iguaçu-PR.
2. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Nutritional and bioactive characteristics of Brazilian Cerrado fruits seeds. In: 16th World Congress of Food Science and Technology, 2012, Foz do Iguaçu-PR.

Artigo publicado em revista internacional

1. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Bioactive substance contents and antioxidant capacity of the lipid fraction of *Annona crassiflora* Mart. seeds. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 231-235, 2013.

Artigos submetidos a revistas internacionais

1. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Physicochemical properties and bioactive compounds the lipid fraction of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) almonds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2012.
2. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Bioactives (phytosterols, tocopherols, fatty acids, polyphenols, carotenoids) of oils cold extracted from seeds of Brazilian cerrado fruits. **Food Chemistry**, 2012.

Artigos em fase de preparação

1. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Nutritional quality of exotic seeds of some Brazilian cerrado fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, 2012.
2. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Oxidative stability of oils cold extracted from seeds of Brazilian cerrado fruits. **Talanta**, 2012.
3. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Characterization profile of oils seeds from Brazilian cerrado fruits. **Industrial Crops and Products**, 2012.
4. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Antioxidant activity of exotic seeds oils from Brazilian cerrado fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2012.

Capítulos de livro em fase de preparação

1. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Frutos do cerrado brasileiro, 2012.
2. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Capacidade antioxidante de fontes vegetais, 2012.
3. LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Compostos bioativos em fontes vegetais, 2012.

LISTA DE FIGURAS

I. PARTE TEÓRICA 33

CAPÍTULO 1. Frutos do cerrado brasileiro 39

Figura 1 - Aspectos gerais do *Annona crassiflora Mart*. 46

Figura 2 - Aspectos gerais do *Dipteryx alata* Vog. 47

Figura 3 - Aspectos gerais do *Mauritia flexuosa* L. 49

Figura 4 - Aspectos gerais do *Hymenaea stigonocarpa* Mart. 50

Figura 5 - Aspectos gerais do *Genipa americana* L. 51

Figura 6 - Aspectos gerais do *Caryocar brasiliense* Camb. 53

Figura 7 - Aspectos gerais do *Achras sapota* L. 55

CAPÍTULO 2. Capacidade antioxidante de fontes vegetais 61

Figura 1 - Mecanismo de reação da oxidação lipídica 67

Figura 2 - Estrutura fenólica dos antioxidantes primários 69

Figura 3 - Mecanismo de ação dos antioxidantes primários 69

CAPÍTULO 3. Compostos bioativos em fontes vegetais 83

Figura 1 - Estrutura química dos fitosteróis 89

Figura 2 - Estrutura química do tocoferol e tocotrienol 91

Figura 3 - Estruturas químicas dos principais fenólicos derivados do ácido benzoico (a) e ácido cinâmico (b) 92

Figura 4 - Estrutura química de um caroteno (β-caroteno) e de uma xantofila (zeaxantina) 94

Figura 5 - Estruturas químicas dos ácidos graxos cis-linoleico (n-6) e linolênico (n-3) 96

II. PARTE EXPERIMENTAL 137

CAPÍTULO 1. Composição química centesimal e nutricional de sementes de frutos do cerrado brasileiro 139

Figura 1 - Frutos do cerrado brasileiro. A: Araticum (*Annona crassiflora Mart*.); A.1: Árvore com o fruto maduro; A.2: Mesocarpo (polpa); A.3: Sementes. B: Baru *(Dipteryx alata* Vog.); B.1: Árvore com fruto maduro; B.2: Endocarpo; B.3: Sementes. C: Buriti *(Mauritia flexuosa* L.*)*; C.1: Palmeira com fruto maduro; C.2: Fruto inteiro; C.3: Sementes. D: Jatobá *(Hymenaea stigonocarpa* Mart.*)*; D.1: Árvore; D.2: Fruto inteiro;

D.3: Sementes. E: Jenipapo *(Genipa americana* L.*)*; E.1: Árvore; E.2: Fruto inteiro; E.3: Sementes. F: Pequi *(Caryocar brasiliense* Camb.*)*; F.1: Árvore; F.2: Exocarpo (polpa esbranquiçada) e mesocarpo (polpa amarela); F.3: Mesocarpo (polpa amarela) e amêndoas (parte branca). G. Sapoti *(Achras sapota* L.*)*; G.1: Árvore com fruto maduro; G.2: Fruto inteiro; G.3: Sementes 146

CAPÍTULO 2. Propriedades físico-químicas de óleos extraídos a frio de sementes de frutos do cerrado brasileiro 161

Figura 1 - Frutos do cerrado brasileiro. A: Araticum (*Annona crassiflora Mart*.); A.1: Árvore com o fruto maduro; A.2: Mesocarpo (polpa); A.3: Sementes. B: Baru *(Dipteryx alata* Vog.); B.1: Árvore com fruto maduro; B.2: Endocarpo; B.3: Sementes. C: Buriti *(Mauritia flexuosa* L.*)*; C.1: Palmeira com fruto maduro; C.2: Fruto inteiro; C.3: Sementes. D: Jatobá *(Hymenaea stigonocarpa* Mart.*)*; D.1: Árvore; D.2: Fruto inteiro; D.3: Sementes. E: Jenipapo *(Genipa americana* L.*)*; E.1: Árvore; E.2: Fruto inteiro; E.3: Sementes. F: Pequi *(Caryocar brasiliense* Camb.*)*; F.1: Árvore; F.2: Exocarpo (polpa esbranquiçada) e mesocarpo (polpa amarela); F.3: Mesocarpo (polpa amarela) e amêndoas (parte branca). G. Sapoti *(Achras sapota* L.*)*; G.1: Árvore com fruto maduro; G.2: Fruto inteiro; G.3: Sementes 168

CAPÍTULO 3. Estabilidade oxidativa e capacidade antioxidante de óleos extraídos a frio de sementes de frutos do cerrado brasileiro 177

Figura 1 - Frutos do cerrado brasileiro. A: Araticum (*Annona crassiflora Mart*.); A.1: Árvore com o fruto maduro; A.2: Mesocarpo (polpa); A.3: Sementes. B: Baru *(Dipteryx alata* Vog.); B.1: Árvore com fruto maduro; B.2: Endocarpo; B.3: Sementes. C: Buriti *(Mauritia flexuosa* L.*)*; C.1: Palmeira com fruto maduro; C.2: Fruto inteiro; C.3: Sementes. D: Jatobá *(Hymenaea stigonocarpa* Mart.*)*; D.1: Árvore; D.2: Fruto inteiro; D.3: Sementes. E: Jenipapo *(Genipa americana* L.*)*; E.1: Árvore; E.2: Fruto inteiro; E.3: Sementes. F: Pequi *(Caryocar brasiliense* Camb.*)*; F.1: Árvore; F.2: Exocarpo (polpa esbranquiçada) e mesocarpo (polpa amarela); F.3: Mesocarpo (polpa amarela) e amêndoas (parte branca). G. Sapoti *(Achras sapota* L.*)*; G.1: Árvore com fruto maduro; G.2: Fruto inteiro; G.3: Sementes 184

Figura 2 - Índice de estabilidade oxidativa (horas) a 100°C dos óleos

extraídos das sementes de frutos do cerrado brasileiro. Médias ± desvios padrões das análises realizadas em triplicata seguidas pelas mesmas letras nas barras não diferem pelo teste de Tukey (p > 0,05) 187

Figura 3 - Curvas cinéticas da capacidade antioxidante dos óleos extraídos das sementes de frutos do cerrado brasileiro no sistema β-caroteno/ácido linoleico 190

CAPÍTULO 4. Constituintes bioativos de óleos extraídos a frio de sementes de frutos do cerrado brasileiro 199

Figura 1 - Frutos do cerrado brasileiro. A: Araticum (*Annona crassiflora Mart*.); A.1: Árvore com o fruto maduro; A.2: Mesocarpo (polpa); A.3: Sementes. B: Baru *(Dipteryx alata* Vog.); B.1: Árvore com fruto maduro; B.2: Endocarpo; B.3: Sementes. C: Buriti *(Mauritia flexuosa* L.*)*; C.1: Palmeira com fruto maduro; C.2: Fruto inteiro; C.3: Sementes. D: Jatobá *(Hymenaea stigonocarpa* Mart.*)*; D.1: Árvore; D.2: Fruto inteiro; D.3: Sementes. E: Jenipapo *(Genipa americana* L.*)*; E.1: Árvore; E.2: Fruto inteiro; E.3: Sementes. F: Pequi *(Caryocar brasiliense* Camb.*)*; F.1: Árvore; F.2: Exocarpo (polpa esbranquiçada) e mesocarpo (polpa amarela); F.3: Mesocarpo (polpa amarela) e amêndoas (parte branca). G. Sapoti *(Achras sapota* L.*)*; G.1: Árvore com fruto maduro; G.2: Fruto inteiro; G.3: Sementes 206

Figura 2 - Cromatogramas da composição de fitosteróis dos óleos extraídos das sementes de buriti (a), jatobá (b) e jenipapo (c) 212

Figura 3 - Cromatogramas da composição de tocoferóis dos óleos extraídos das sementes de buriti (a), jatobá (b), jenipapo (c) e baru (d) 214

Figura 4 - Conteúdo de compostos fenólicos totais de óleos extraídos de diferentes frutos do cerrado brasileiro 216

Figura 5 - Conteúdo de carotenoides totais de óleos extraídos de diferentes frutos do cerrado brasileiro 217

Figura 6 - Cromatogramas da composição de ácidos graxos dos óleos extraídos das sementes de buriti (a), jatobá (b), jenipapo (c) e baru (d) 220

LISTA DE TABELAS

I. PARTE TEÓRICA 33

CAPÍTULO 2. Capacidade antioxidante de fontes vegetais 61

Tabela 1 - Métodos de extração e capacidade antioxidante de várias espécies de fontes vegetais 76

CAPÍTULO 3. Compostos bioativos em fontes vegetais 83

Tabela 1 - Teores de fitosteróis totais das frações lipídicas de algumas espécies naturais 90

Tabela 2 - Teores de tocoferóis e tocotrienóis totais da fração lipídica de fontes vegetais 91

Tabela 3 - Teores de compostos fenólicos totais extraídos das frações lipídicas de algumas sementes 93

Tabela 4 - Teores de carotenoides totais presentes nas frações lipídicas de algumas frutas 95

Tabela 5 - Perfil de ácidos graxos presentes nas frações lipídicas de alguns tipos de sementes e grãos não convencionais 97

II. PARTE EXPERIMENTAL 137

CAPÍTULO 1. Composição química centesimal e nutricional de sementes de frutos do cerrado brasileiro 139

Tabela 1 - Características gerais de algumas espécies de frutos do cerrado brasileiro 144

Tabela 2 - Composição química centesimal, valor calórico e teor de vitamina C das sementes secas de fruto do cerrado brasileiro 149

Tabela 3 - Conteúdo de minerais das sementes secas de frutos do cerrado brasileiro 153

CAPÍTULO 2. Propriedades físico-químicas de óleos extraídos a frio de sementes de frutos do cerrado brasileiro 161

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas* dos óleos extraídos das

sementes de frutos do cerrado brasileiro 170

CAPÍTULO 3. Estabilidade oxidativa e capacidade antioxidante de óleos extraídos a frio de sementes de frutos do cerrado brasileiro 177

Tabela 1 - Capacidade antioxidante dos óleos extraídos das sementes de frutos do cerrado brasileiro 189

Tabela 2 - Coeficientes de correlação de Pearson entre os sistemas de capacidade antioxidante (β-caroteno/ácido linoleico, $DPPH^{\bullet}$, FRAP e $ABTS^{\bullet+}$) e índice de estabilidade oxidativa (IEO) 192

CAPÍTULO 4. Constituintes bioativos de óleos extraídos a frio de sementes de frutos do cerrado brasileiro 199

Tabela 1 - Conteúdo de óleo e concentrações de esteróis e tocoferóis de óleos extraídos de diferentes frutos do cerrado brasileiro . 211

Tabela 2 - Perfil de ácidos graxos de óleos extraídos de diferentes frutos do cerrado brasileiro 218

Tabela 3 - Coeficientes de correlação de Pearson entre os constituintes bioativos (β-sitosterol, β-s, fitosteróis totais, FT, α-tocoferol, α-t, γ-tocoferol, γ-t, tocoferóis totais, TT, compostos fenólicos totais, CFT, e carotenoides totais, CT) e ácidos graxos (saturados, monoinsaturados, poli-insaturados e linoleico) 222

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

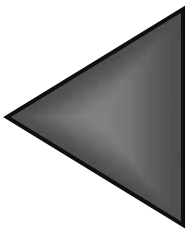
$^1O_2$	Oxigênio singlete
$^3O_2$	Oxigênio triplete
A	Absorvância
$A^{\bullet}$	Radical inerte
AA	Atividade antioxidante
AAPH	*2,2-azino-bis-(3- methylpropianamidine dihydrochloride)*
$ABTS^{\bullet+}$	2,2- *azino-bis-(3- ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid*) cátion radical
AGI	Ácidos graxos insaturados
AGL	Ácidos graxos livres
AGM	Ácidos graxos monoinsaturados
AGP	Ácidos graxos poli-insaturados
AGS	Ácidos graxos saturados
AH	Antioxidante com um átomo de hidrogênio
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	*Association of Official Analytical Chemists*
AOCS	*American Oil Chemists' Society*
AOM	*Active oxygen method*
BHA	Buti-hidroxianisol
BHT	Butil-hidroxitolueno
CASLC	Cromatografia por adsorção sólido-líquido em coluna
CCD	Cromatografia em camada delgada
CG	Cromatografia gasosa
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CP	Cromatografia em papel
DAD	Detector de arranjo de diodos
DHA	Ácido docosahexaenoico
$DPPH^{\bullet}$	*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* free radical
EC_{50}	Eficiência de concentração
EDTA	Ácido etileno diamina tetra acético
EPA	Ácido eicosapentaenóico
FDA	*Food and drug administration*
FID	*Flame ionization detection*
FRAP	*Ferric-reducing antioxidant power*
GP	Galato de propila
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HDLc	Fração de colesterol de lipoproteína de alta densidade
IA	Índice de acidez
IEO	Índice de estabilidade oxidativa
II	Índice de iodo

IP	Índice de peróxidos
IR	Índice de refração
IS	Índice de saponificação
ITAL	Instituto de Tecnologia de Alimentos
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDLc	Fração de colesterol de lipoproteína de baixa densidade
MI	Matéria insaponificável
Nd	Não detectado
ODPVA	Octadecil polivinil álcool
ORAC	*Oxygen radical absorbanc capacity*
PFPS	Pentafluorofenil
PIQ	Padrão de identidade e qualidade
$R^{\bullet}$	Radical livre
RH	Ácido graxo insaturado
$ROO^{\bullet}$	Radical peróxido
ROOH	Hidroperóxido
RTX	Restek
TBHQ	Terc-butil-hidroquinona
TEAC	*Trolox equivalent antioxidant activity*
TPTZ	*2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine*
UV	Ultravioleta
UV/Vis	Ultravioleta/visível
v/v	Volume/volume

Nota: Na lista constam termos em inglês uma vez que a abreviatura usada habitualmente corresponde à designação por extenso em inglês.

I.

PARTE TEÓRICA



Introdução geral

O Brasil e a América Latina apresentam um grande potencial a ser explorado com relação aos alimentos funcionais e seus compostos bioativos. A biodiversidade existente no Brasil oferece perspectivas a longo prazo no desenvolvimento de alimentos funcionais, dependendo este de questões econômicas, de informação do consumidor, da legislação e dos investimentos em pesquisa.

Essas informações são de grande valia, uma vez que esses alimentos desempenham funções importantes no organismo humano e animal. Por outro lado, o conhecimento do conteúdo de alguns constituintes, como os minerais e as vitaminas, também tem se tornado uma importante preocupação dos profissionais da área de saúde e da ciência de alimentos, estendendo-se até ao consumidor, que cada vez mais se interessa em consumir alimentos que promovam a melhoria da qualidade de vida.

Entre esses compostos bioativos, os fitosteróis, os tocoferóis, os compostos fenólicos, os carotenoides e os ácidos graxos essenciais possuem elevada atividade antioxidante, atuando como substâncias que retardam ou impedem a ação de radicais livres no organismo, como também atuam no controle do colesterol sanguíneo e previnem doenças cardiovasculares.

Com isso, os compostos bioativos apresentam um grande interesse na área de alimentos, fármacos e cosméticos, devido às suas propriedades funcionais. A identificação destes compostos é, além de desejável, de importância fundamental no sentido de novas fontes alternativas e que possam incorporar características desejáveis quando utilizadas no preparo de novos produtos, ou mesmo quando consumidas *in natura*.

Os alimentos de origem vegetal constituem uma das principais fontes de compostos biologicamente ativos, o que tem dado suporte para muitos estudos na tentativa de encontrar espécies vegetais ricas em tais compostos. Dentre essas espécies, os frutos do cerrado brasileiro merecem destaque, pois são utilizados e aproveitados pela população, podendo ser consumidos *in natura* ou na fabricação de doces, geleias, licores, sucos, sorvetes, bolos, pães e biscoitos.

Desta forma, o estudo da biodiversidade da vegetação do cerrado tem despertado interesse dos pesquisadores, visando o manejo adequado e o melhor

aproveitamento das espécies frutíferas na alimentação humana. Além disso, existe o interesse dos pesquisadores na produção de novas fontes de matéria-prima de baixo custo, com disponibilidade de óleo e proteína e com elevado potencial industrial.

Estudos já têm reportado que determinadas sementes de frutos do cerrado contêm relevantes quantidades de óleo, entretanto, maiores investigações sobre a composição química e de outras propriedades dos óleos destas sementes são necessárias para avaliar o seu potencial como fontes de matéria-prima de boa qualidade para o consumo humano.

O aumento no interesse pelos óleos vegetais e seus derivados também está relacionado à gradual tendência de substituição na dieta humana das gorduras de origem animal, inclusive em países tradicionais no consumo destas gorduras. Além disso, o uso de óleos vegetais para fins não alimentícios como, por exemplo, pelas indústrias química, farmacêutica e cosmética, também tem contribuído para o aumento no consumo destes óleos.

A fim de explorar e utilizar estes recursos naturais presentes no país, em especial os frutos do cerrado, fez-se necessário realizar um estudo da composição de óleos, provenientes de sementes, com a finalidade de identificar compostos bioativos para o desenvolvimento de alimentos funcionais.

Objetivos

Objetivo geral

O objetivo principal deste trabalho foi de caracterizar a composição química de óleos extraídos de sementes de frutos do cerrado brasileiro.

Objetivos específicos

- Caracterizar as sementes dos seguintes frutos do cerrado brasileiro: araticum, baru, buriti, jatobá, jenipapo, pequi e sapoti quanto à composição química centesimal e potencial nutricional;
- Estudar, nos óleos extraídos das sementes, as características físico-químicas (ácidos graxos livres, acidez, índices de peróxidos, de refração, de iodo e de saponificação, e matéria insaponificável);
- Determinar o índice de estabilidade oxidativa e a capacidade antioxidante *in vitro* dos óleos das sementes de frutos, por meio dos sistemas β-caroteno/ácido linoleico, $DPPH^{\bullet}$, FRAP e $ABTS^{\bullet+}$;
- Avaliar os óleos das sementes de frutos quanto à composição em fitosteróis, tocoferóis, compostos fenólicos totais, carotenoides totais e ácidos graxos, com o intuito de avaliar a possível aplicação desses óleos como ingredientes funcionais na alimentação humana.

Organização e estrutura da tese

A presente tese encontra-se organizada em duas partes principais: I. Parte teórica e II. Parte experimental.

Na Parte teórica, fez-se inicialmente uma introdução geral ao trabalho realizado. A esta breve introdução, seguiu-se a descrição dos objetivos gerais e específicos que foram delineados para a investigação desenvolvida ao longo desses anos.

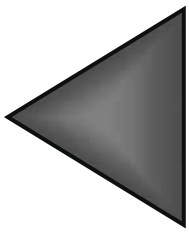
Ainda na Parte teórica são apresentados três capítulos relacionados com os temas abordados na Parte experimental. O Capítulo 1 é constituído por uma revisão sobre os “frutos do cerrado brasileiro” apresentando as principais características de cada fruto. O Capítulo 2 é constituído por uma revisão onde pretendeu-se abordar os principais tópicos relacionados com o tema “capacidade antioxidante de fontes vegetais” com base em estudos químicos descritos na literatura. O Capítulo 3 também trata-se de uma revisão sobre os “compostos bioativos em fontes vegetais”, onde desejou-se agrupar os tópicos relacionados ao tema baseando em estudos já publicados sobre os mecanismos de ação, funções na saúde e medidas analíticas de cada grupo de compostos.

Toda a bibliografia é apresentada no final da respectiva seção, de acordo com o estilo das normas de formatação das dissertações de mestrado e teses de doutorado do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista.

Segue-se a Parte experimental da tese que é constituída por quatro capítulos, correspondendo à parte química centesimal e nutricional (Capítulo 1), propriedades físico-químicas dos óleos (Capítulo 2), estabilidade oxidativa e capacidade antioxidante dos óleos (Capítulo 3) e constituintes bioativos (Capítulo 4). Cada capítulo é compostos por resumo, introdução, material e métodos, resultados e discussão, considerações finais, referências bibliográficas e apêndices.

CAPÍTULO 1.

Frutos do cerrado brasileiro



RESUMO

O cerrado é um dos principais biomas do Brasil, constituído por inúmeras espécies vegetais, como o araticum (*Annona crassiflora* Mart.), o baru (*Dipteryx alata* Vog.), o buriti (*Mauritia flexuosa* L.), o jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.), o jenipapo (*Genipa americana* L.), o pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) e o sapoti (*Achras sapota* L.), que exibem várias vantagens conhecidas e exploradas pela fauna e pela população da região onde se encontram distribuídas. Neste contexto, o objetivo desta revisão foi apresentar as características gerais e nutricionais destes frutos do cerrado brasileiro.

Palavras-chave: frutos do cerrado, vegetação, sustentabilidade, composição nutricional.

ABSTRACT

The cerrado is one of the major biomes of Brazil, consisting of numerous plant species, such as araticum (*Annona crassiflora* Mart.), baru (*Dipteryx alata* Vog.), buriti (*Mauritia flexuosa* L.), jatoba (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.), genipap (*Genipa americana* L.), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) and sapodilla (*Achras sapota* L.), which present several advantages that are known and exploited by the fauna and the population of the region where they are distributed. In this context, the aim of this review was to present the general and nutritional characteristics of the fruits from the Brazilian cerrado.

Keywords: cerrado fruits, vegetation, sustainability, nutritional composition.

1. Introdução

Nos últimos anos, tem sido gerado um considerável interesse sobre a composição química de frutos e sementes silvestres. Os resultados têm demonstrado que algumas plantas são ricas em óleos e em ácido ascórbico, com a possibilidade de fontes alternativas de matéria-prima e quantidades viáveis para o processo industrial. Além de que, esses óleos extraídos de sementes podem ser fontes de nutrientes e de compostos bioativos (HOLSER; BOST; VAN BOVEN, 2004) e, ainda, agregar valor aos alimentos processados (GARCÍA; POLO; IHA, 2003).

O cerrado, bioma típico da zona tropical, é uma formação savânica que ocupa, aproximadamente, 2,0 milhões de km^2 e corresponde a 23,1% do território brasileiro, compreendendo o sul do Mato Grosso, os estados de Goiás, Tocantins, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais, o oeste da Bahia e o Distrito Federal. Estende-se ainda para fora do Brasil Central, em ilhas, como no sul do Maranhão, norte do Piauí, Rondônia e em um quinto do estado de São Paulo. Em Minas Gerais, ocupa mais de 50% do território (SILVEIRA, 1989).

O clima do cerrado é estacional, apresentando duas estações bem definidas, uma no período chuvoso, entre os meses de outubro a março, seguido por um período seco, de abril a setembro. A precipitação varia de 600 a 2.200 mm anuais, sendo a média anual de 1.500 mm (FERREIRA, 2009). As temperaturas são geralmente amenas ao longo do ano, entre 22 e 27°C, em média, sendo a temperatura máxima 40°C. Neste bioma encontra-se o divisor de águas das três grandes bacias hidrográficas do Brasil: a Amazônica, a do Paraná e a do São Francisco (GOMES, 2008).

O cerrado típico é constituído por árvores relativamente baixas (até 20 m), esparsas, disseminadas em meio a arbustos, subarbustos e uma vegetação baixa constituída, em geral, por gramíneas. A típica vegetação do cerrado possui seus troncos tortuosos, de baixo porte, ramos retorcidos, cascas espessas e folhas grossas. Os estudos efetuados consideram que a vegetação nativa não apresenta essa característica pela falta de água, mas devido a outros fatores de solo, como o desequilíbrio no teor de micronutrientes, como o alumínio (GOMES, 2008).

Contudo, o cerrado não é um grupo fisionômico homogêneo. Em função da densidade da vegetação, segundo Ribeiro e Walter (1998), o cerrado pode ser

dividido em:

- ✓ campo limpo – com vegetação de gramíneas;
- ✓ campo sujo – possui cerca de 15% de árvores e arbustos, os quais concentram-se geralmente em "ilhas" de vegetação chamados de campos de murundus;
- ✓ campo cerrado – caracteriza-se por vegetação predominante rasteira com ocorrência de árvores e arbustos bastante espaçados entre si;
- ✓ cerrado (típico) – apresenta vegetação retorcida de até 5 m, revestida de casca espessa, galhos baixos e copas assimétricas;
- ✓ cerradão – é uma formação florestal constituída por três estratos distintos: superior, com árvores esparsas que podem atingir de 6 a 12 m, predominando as de madeira dura; intermediário, com árvores e arbustos retorcidos; e inferior, constituído por vegetação rasteira;
- ✓ veredas – são áreas onde o solo está alagado durante a maior parte do ano. O buritizeiro (*Mauritia vinifera* L.) e certas gramíneas são as espécies principais nas veredas. Em áreas onde o solo é mais fértil ou mais úmido, embora não excessivamente, o cerrado dá lugar a matas ciliares ou florestas.

Apesar das limitações impostas ao crescimento e ao desenvolvimento das plantas pelo regime de chuvas e pelas características do solo, o cerrado é considerado a mais rica dentre as savanas do mundo, estimando-se um número entre 4 e 10 mil espécies de plantas. Segundo Barbosa (1996), algumas destas espécies podem constituir potenciais fontes de exploração econômica, desde que a pesquisa e o desenvolvimento de tecnologias viabilizem seu aproveitamento.

2. Alternativas de sustentabilidade

De acordo com o Programa Cerrado Sustentável, o cerrado apresenta expressiva biodiversidade que pode ser explorada através do uso sustentável como alternativa viável para conservação de áreas significativas e como meio de geração de renda, segurança alimentar e qualidade de vida para comunidades tradicionais e agricultores (BRASIL, 2006). Esse uso pode-se dar pela utilização de plantas medicinais, criação de abelhas silvestres, manejo de animais silvestres, ecoturismo, turismo rural, condimentos, artesanato e piscicultura.

Os frutos das espécies nativas do cerrado oferecem um alto valor nutricional, além de atrativos sensoriais como cor, sabor, aroma peculiares e intensos, ainda

poucos explorados comercialmente (VIEIRA; COSTA, 2007).

Ultimamente, é possível encontrar grande quantidade desses frutos nativos do cerrado sendo comercializados em feiras regionais e nas margens das rodovias a preços competitivos, alcançando grande aceitação popular. Observa-se, ainda, a existência de um mercado emergente, a ser melhor explorado pelos agricultores, pois o aproveitamento desses frutos tem sido feito de forma extrativista e predatória. Além disso, há o grande potencial para a exportação, já que possuem sabor diferenciado e não são encontrados em outros países. O licor de pequi, por exemplo, é exportado para o Japão, e a amêndoa do baru, para a Alemanha, mas existem ainda muitas possibilidades de exportação de outras espécies nativas (SILVA; MELO; FERNANDES, 2001).

Dentre as espécies economicamente viáveis para o cerrado e que servem como fonte alimentícia, os frutos descritos abaixo, são os que apresentam grande potencial.

2.1. Araticum (*Annona crassiflora* Mart.)

O araticum é um fruto típico do cerrado brasileiro, pertencente à ordem Magnoliales e à família Annonaceae. Na região central do Brasil, é popularmente conhecido como araticum-do-cerrado, araticum-do-campo, pinha-do-cerrado ou marolo.

Sua distribuição é bastante ampla, ocorrendo nos cerrados dos estados de Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Distrito Federal, Mato Grosso, Maranhão, Goiás, Tocantins, Pará, Bahia e Piauí (RIBEIRO et al., 2000), sendo encontrado principalmente em terrenos elevados e de solos arenosos.

É uma árvore de porte médio, possuindo de 4 a 8 m de altura, com diâmetro de copa de aproximadamente 4 m (Figura 1). Seu tronco é geralmente tortuoso, variando de 20 a 30 cm de diâmetro, revestido por uma casca áspera e corticosa, resistente à ação do fogo. Suas folhas são crasso-membranosas, coriáceas quando maduras e ferrugíneo-hirsutas quando jovens (LORENZI, 1998).

As flores são, geralmente, solitárias, axilares, dotadas de pétalas carnosas de coloração verde-amarelada (LORENZI, 1998). São hermafroditas e apresentam protoginia com o gineceu, órgão feminino, amadurecendo primeiro que o androceu, órgão masculino (CARVALHO, 2002) e termogênese. Segundo Gottsberger (1989),

o início do aquecimento no interior da flor ocorre ao anoitecer, podendo chegar até 10°C acima da temperatura do ar, o que contribui para a atração, principalmente, de besouros.

Figura 1 - Aspectos gerais do *Annona crassiflora* Mart.

O fruto, do tipo baga, é sub-globuloso, de cor verde quando em desenvolvimento e marrom, quando maduro. A polpa, cuja coloração varia do branco ao amarelo, é levemente adocicada.

Suas sementes são relativamente grandes (100 sementes pesam em média entre 150 e 200 g), formadas basicamente de endosperma; a testa é espessa e rígida, mas o hilo é bem aberto e permeável ao ar e à água. A dispersão das sementes é realizada por animais (RIZZINI, 1971), durante a estação chuvosa, entre novembro e março. Sua floração ocorre predominantemente durante os meses de outubro e novembro (LORENZI, 1998). Já a frutificação se inicia em novembro, com a maturação dos frutos concentrada entre os meses de janeiro e abril (CARVALHO, 2002).

Seus frutos são consumidos *in natura* ou na forma de sucos, sorvetes ou geleias. Já o óleo das sementes é usado contra infecções da pele e, na medicina popular, as folhas e as sementes são usadas contra diarreia e como antitumorais (ROESLER et al., 2007).

O araticum é uma fruta rica em diversos elementos e, em sua composição, encontram-se vitaminas, além de Fe, P e Ca. Cada 100 g de sua polpa apresenta valor energético de 52 calorias, 0,4 g de proteína, 52 mg de Ca, 24 mg de P, 2,3 mg de Fe, 21 mg de vitamina C, 50 mg de vitamina A, 0,04 mg de vitamina B1 e 0,07 mg de vitamina B2. Apesar de apresentar um conteúdo de vitamina C baixo em relação

a outras frutas nativas do cerrado, este é superior ao de algumas frutíferas cultivadas, como a banana (6,4 mg) e a maçã (5,9 mg) (ALMEIDA, 1998).

Estudo realizado por Roesler et al. (2006) demonstrou que os extratos etanólicos de sementes e cascas do araticum apresentaram uma excelente atividade antioxidante quando comparado com outros vegetais.

2.2. Baru *(Dipteryx alata* Vog.)

O barueiro pertence à família Fabaceae, sendo a única espécie *Dipteryx* encontrada no cerrado (SOARES et al., 2008). Apresenta ampla distribuição no Brasil, sendo encontrado nos estados de Goiás, Minas Gerais, Distrito Federal, São Paulo, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (SANO; RIBEIRO; BRITO, 2004).

A planta é hermafrodita, com até 15 m de altura, tronco podendo atingir 70 cm de diâmetro e copa medindo de 6 a 8 m de diâmetro, densa e arredondada (Figura 2). O fruto do barueiro tem de 5 a 7 cm de comprimento por 3 a 5 cm de diâmetro, de cor marrom-claro, e é uma drupa que apresenta epicarpo lenhoso coriáceo, mesocarpo de polpa escura e esponjosa e endocarpo lenhoso envolvendo uma amêndoa.

Figura 2 - Aspectos gerais do *Dipteryx alata* Vog.

Cada fruto contém uma única amêndoa, de cor marrom-clara ou marrom-escura, com cerca de 2,0 a 2,5 cm de comprimento e pesando cerca de 1,5 g (SILVA et al., 1994; SILVA; MELO; FERNANDES, 2001). A floração deste fruto ocorre de novembro a maio, excepcionalmente em outras épocas, a frutificação de outubro a março e a maturação de julho a outubro, porém varia dependendo da localidade.

O nome popular do fruto varia de acordo com o local, sendo que nos estados de Goiás, Tocantins, Minas Gerais e no Distrito Federal é conhecido como baru. Já em São Paulo, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul é denominado de cumaru ou cumbaru. É chamado também por outros nomes como barujó, castanha-de-burro, castanha-de-ferro, coco-feijão, cumaru-da-folha-grande, cumarurana, cumaru-roxo, cumaru-verdadeiro, cumbary, emburena-brava, feijão-coco, fruta-de-macaco, meriparagé ou pau-cumaru (SANO; RIBEIRO; BRITO, 2004).

O fruto é descrito como sendo uma drupa, com polpa rica em proteína, aromática, muito consumido pelo gado, animais silvestres e pelo homem, na forma de doces. Sua amêndoa também é comestível, nutritiva e contém óleo com propriedades medicinais.

Togashi e Sgarbieri (1995) avaliaram a composição química de amêndoas de baru, provenientes da região Leste do estado de Goiás. Estas apresentaram como componentes mais abundantes, em base seca, lipídios (40,3 g/100 g), proteínas (29,6 g/100 g) e fibras alimentares (19,0 g/100 g). Quanto à composição em ácidos graxos do óleo da amêndoa, predominaram os ácidos oleico (44,5 g/100 g) e linoleico (31,7 g/100 g) com 78,5 g/100 g de ácidos graxos insaturados, o que torna o óleo da amêndoa de baru qualitativamente semelhante ao óleo de amendoim.

Resultados similares foram encontrados em estudo realizado por Takemoto et al. (2001), com as amêndoas de baru, provenientes da região Leste do estado de Goiás. As amêndoas continham teores relativamente elevados de lipídios (38,2 g/100 g) e proteínas (23,9 g/100 g), além de valores significativos de fibras alimentares (13,4 g/100 g) e de minerais, como K (827 mg/10 g), P (358 mg/100 g) e Mg (178 mg/100 g), sugerindo seu emprego na alimentação humana e animal. O óleo das sementes revelou elevado grau de insaturação (81,2%), destacando-se os ácidos oleico (50,4%) e linoleico (28,0%), o que favorece seu uso para fins alimentícios e como matéria-prima para as indústrias farmacêutica e oleoquímica.

2.3. Buriti *(Mauritia flexuosa* L.*)*

O buriti é uma palmeira da família Arecaceae, nativa do Brasil, com grande potencial sócio-econômico. Normalmente, sua ocorrência está associada a áreas periódica ou permanentemente inundadas ou com drenagem deficiente, às vezes, próximas a rios, ao longo de florestas de galerias e savanas (Brasil Central e

Venezuela) (FERREIRA, 2009). Conhecido popularmente como carandá-guaçu, coqueiro-buriti, palmeira-do-brejo, miriti.

No bioma cerrado é a espécie que caracteriza as veredas, marcante fitofisionomia da região, ocorrendo também em matas de galeria e ciliares, podendo formar densos buritizais. Para além dos domínios do cerrado, ocorre em toda a Amazônia e Pantanal, e é considerada a palmeira mais abundante no país, com mais de 15 m de altura, o diâmetro do caule é de cerca de 0,50 m e quando adulta possui 20 a 30 folhas palmadas eretas, dispostas quase sempre em leque (CALBO; MORAES, 1997).

Seu fruto possui uma casca dura, vermelha e escamosa, que recobre a polpa macia e oleosa, cuja coloração varia entre o amarelo escuro e o avermelhado, quando completamente maduro (Figura 3). Os frutos são ovóides e pesam em média 50 g (MARIATH; LIMA; SANTOS, 1989).

Figura 3 - Aspectos gerais do *Mauritia flexuosa* L.

Embora pouco se saiba sobre a composição nutricional do buriti, o seu caráter oleaginoso gerou a possibilidade de pesquisadores estudarem mais sobre técnicas de extração desse óleo e sua composição. Segundo Albuquerque et al. (2003), em estudo realizado por espectro de absorção infravermelho, o óleo do buriti é basicamente composto de tocoferóis, carotenoides e em maiores quantidades de ácidos graxos de cadeia longa, sendo 18% de ácido palmítico e 75% de ácidos insaturados.

Pesquisas sobre a caracterização da composição de carotenoides do buriti revelam que o óleo obtido de sua polpa tem altíssimo teor de β-caroteno e faz desse fruto a maior fonte já estudada desse pigmento (GODOY; RODRIGUEZ-AMAYA,

1994). Sua concentração corresponde a 90% dos carotenoides presentes no óleo extraído do fruto e seu teor supera em dez vezes a quantidade apresentada pelo óleo de palma.

2.4. Jatobá *(Hymenaea stigonocarpa* Mart.)

A espécie *Hymenaea stigonocarpa* Mart. pertence à família Fabaceae e é originária do Brasil. Ocorre do Piauí ao norte do Paraná na floresta semidecídua. É pouco exigente em fertilidade e umidade do solo, geralmente ocorrendo em terrenos bem drenados, não podendo faltar na composição de reflorestamentos heterogêneos e na arborização de parques e grandes jardins (MELO; MENDES, 2005).

Hymenaea stigonocarpa Mart. é conhecida popularmente como jatobá, jataí, jataí-amarelo, jataí-peba, jataí-vermelho, jitaí, farinheira, jataíba, burandã, imbiúva, jatobá-miúdo, jatobá-da-caatinga ou jatobá-do-cerrado (LORENZI, 1992).

A planta tem de 4 a 6 m de altura com frutos entre 6 e 18 cm de comprimento e de 3 a 6 cm de diâmetro (Figura 4). Seus frutos farináceos são comestíveis e muito apreciados pela população regional e podem ser consumidos *in natura* ou como ingrediente na elaboração de bolos, pães e mingaus, *cookies* e *snacks* com alto teor de fibras, sendo utilizadas na formulação de produtos dietéticos ou terapêuticos (SILVA et al., 2001; SILVA; SILVA; CHANG, 1998).

Figura 4 - Aspectos gerais do *Hymenaea stigonocarpa* Mart.

A semente apresenta em sua composição xiloglucanas e galactomananas, principais hemiceluloses encontradas na parede celular de plantas dicotiledôneas,

utilizadas na fabricação de papéis, assim como a goma guar e o amido (LIMA; OLIVEIRA; BUCKERIDGE, 2003).

Em estudo realizado por Matuda e Maria Netto (2005) foi demonstrado que a fração lipídica da semente contém 75% de ácidos graxos insaturados, sendo o ácido linoleico predominante (46,9%).

2.5. Jenipapo *(Genipa americana* L.*)*

O jenipapo pertence à família Rubiaceae e é considerado uma espécie de importância econômica, tanto pela sua essência florestal, quanto pela produção de alimentos. Sua distribuição geográfica no Brasil abrange desde a Guiana e Marajó até São Paulo e Mato Grosso.

Genipa americana L. é conhecido popularmente como jenipa, jenipapinho-do-Pará, janipaba, janapabeiro ou janipapo. Apresenta uma árvore elegante de caule reto de 10 a 12 m de altura e 60 cm de diâmetro, possui copa grande e arredondada com ramos numerosos e fortes, sempre glabros, de casca lisa, espessa, cinzento esverdeado e com manchas cinza mais claras (CORREA, 1969; ESTRELLA, 1995). Folhas simples, opostas, pecioladas, de 20 a 42 cm de comprimento por 9 a 16 cm de largura, glabras em ambas as faces (Figura 5). Inflorescências em rácemos axilares ou terminais, com flores hermafroditas brancas ou amareladas contendo cinco pétalas (PRANCE, 1975).

Figura 5 - Aspectos gerais do *Genipa americana* L.

Os frutos são do tipo baga sub-globosa, de 8 a 10 cm de comprimento e 6 a 7 cm de diâmetro, casca mole, parda ou pardacento-amarelada, membranosa, fina e

enrugada (CORREA, 1969). De acordo com Figueiredo et al. (1986), o diâmetro do fruto pode chegar até 8,5 cm. Polpa adocicada, contendo numerosas sementes compridas, cinzento-escuras (PRANCE, 1975).

A casca e os frutos verdes contêm substâncias corantes violeta ou azul-escuro, denominada, genipina, isolada pela primeira vez em 1960 (ESTRELLA, 1995; PRANCE, 1975). Essa matéria corante é solúvel na água e no álcool, mas torna-se preta em contato com o ar. Antigamente era usada pelos índios para se pintarem de negro e, ainda pode ser empregada na marcação de peças de roupas, pintura de tecidos de palha e outros utensílios domésticos (ALMEIDA, 1993).

O fruto raramente é consumido de forma *in natura*, é servido passado na frigideira com manteiga e depois adicionado de açúcar e canela em pó. O fruto maduro também é utilizado para produção de doces em compotas, cristalizados, sorvetes e refrescos, além de saborosos vinhos e licores.

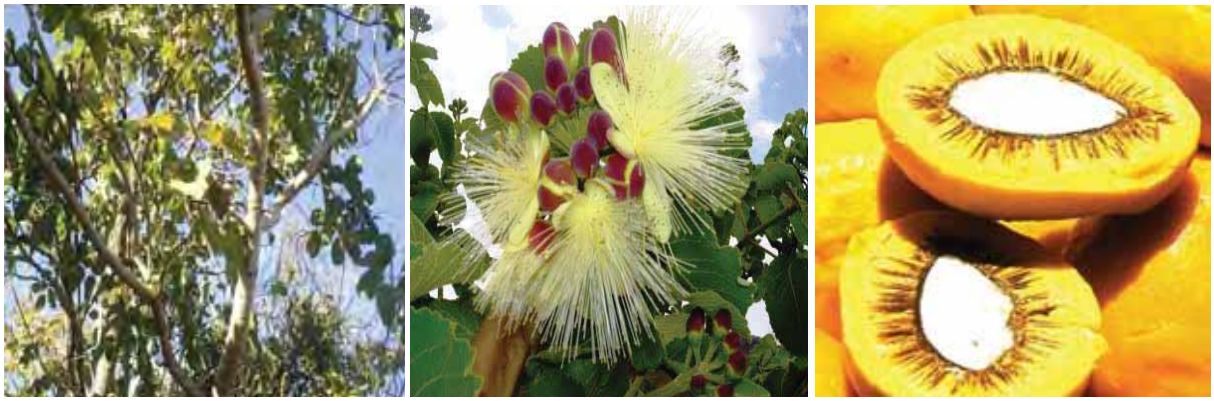
As sementes são fibrosas, albuminadas, castanho-escuras de 6-12 mm de comprimento e achatadas, com teor de lipídios de 10,90%. Em estudo realizado por Figueiredo et al. (1991), o óleo das sementes de jenipapo apresentou 20,03% de ácidos graxos saturados (palmítico e esteárico) e 79,97% de insaturados, com predominância do ácido linoleico.

2.6. Pequi *(Caryocar brasiliense* Camb.*)*

O pequi é um fruto pertencente à família Magnoliopdida. Sua ocorrência abrange todo o cerrado brasileiro, sendo encontrado principalmente em regiões de cerradão, cerrado denso, cerrado e cerrado ralo, com distribuição nos estados da Bahia, Ceará, Distrito Federal, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Piauí, Rio de Janeiro, São Paulo e Tocantins (ALMEIDA, 1998). Conhecido popularmente como piqui, piquiá, piqui-do-cerrado, piquiá bravo, pequerim, amêndoa-de-espinho, grão-de-cavalo ou suarí. A palavra pequi, na língua indígena, significa “casca espinhosa” (SOUZA; SALVIANO, 2002). É uma frutífera, conhecida como “ouro do cerrado”, por seu alto valor econômico (ARAÚJO, 1995; RIBEIRO, 2000) e nutricional (ALMEIDA; SILVA, 1994; SILVA et al., 1994).

O pequizeiro é uma planta arbórea com tronco, de casca áspera, rugosa, cinza escura e fendida, que pode atingir cerca de 10 m de altura, com folhas verdes e flores branco-amareladas (Figura 6).

Figura 6 - Aspectos gerais do *Caryocar brasiliense* Camb.



A floração ocorre nos períodos chuvosos, com pico em setembro e a frutificação entre novembro a fevereiro (ALMEIDA, 1998). A sua produção não é estável, decorrente das diferenças climáticas, sobretudo, no período pós-floração. Em anos de muita chuva produz pouco, nos tempos de seca a produção é maior, porque a chuva derruba as flores antes da fecundação, o que reduz a produção (DAMIANI, 2006).

Do pequizeiro utilizam-se todas as suas partes (madeira, casca, folhas, raiz, fruto e amêndoa) com emprego específico (móveis, tintas, ornamentação, uso medicinal, na indústria cosmética e na alimentação) (MARQUES, 2001; SANTOS, 2004). Devido a sua ampla utilização, é considerada uma espécie de grande interesse econômico. O pequizeiro apresenta raízes profundas e pivotantes, mas com marcante capacidade para desenvolver-se horizontalmente em solos rasos. Desenvolve-se sobre ambientes pobres em nutrientes minerais e com elevado teor de alumínio.

Segundo Medeiros e Haridasan (1985), a espécie *Caryocar* não é uma acumuladora de alumínio, mantendo níveis entre 0,01 a 0,06% e nunca acima de 0,08% - contra teores de 1,0 a 1,8% e nunca abaixo de 0,9%, característico de plantas acumuladoras. Ao contrário de nutrientes como N, P, K, Ca ou Mg, que possuem variação sazonal de concentração nas folhas, o alumínio se apresenta em baixos níveis independente dessa variação, mesmo se na sua área de localização ocorreram queimadas ou não na estação anterior.

Segundo Almeida (1998), o pequi é um fruto drupóide verde com 4,2-6,4 x 6,5-7,8 cm, possui epicarpo coriáceo carnoso, envolvido pelo mesocarpo amarelo claro e algumas sementes. O fruto está maduro quando sua casca, que permanece

sempre da mesma cor verde-amarelada, amolece. Partida a casca, encontra-se em cada fruto, uma, duas, três ou quatro amêndoas tenras envoltas por uma polpa amarela, branca ou rósea, o verdadeiro atrativo da planta. O invólucro é revestido por uma polpa amarelada, pastosa, farinácea e oleaginosa.

Vera et al. (2005) avaliaram e caracterizaram fisicamente os frutos de pequizeiro no estado de Goiás e observaram que o período de safra ocorre geralmente nos meses de setembro a fevereiro. A altura média dos frutos foi de 5,8 cm, as médias dos diâmetros menores e maiores foram, respectivamente, 5,54 e 6,48 cm, o que confere certa conformação esférica dos frutos. O peso médio do fruto foi em torno de 120 g, sendo que a casca representa 82% do fruto, o endocarpo 4,6%, a polpa 7% e a amêndoa cerca de 1%. O peso unitário dos frutos encontrados variou de 50 g a 250 g, a casca de 20 g a 117 g, a polpa com valor médio de 8,14 g e a amêndoa de 2 g a 4 g.

O pequi é considerado uma espécie de interesse econômico, principalmente devido ao uso de seus frutos na culinária, como fonte de vitaminas e na extração de óleos para a fabricação de cosméticos (ALMEIDA; SILVA, 1994).

Os frutos apresentam boa quantidade de óleo comestível, vitamina A e proteínas. São utilizados na alimentação humana e na indústria caseira para extração de óleo e produção de licores. A amêndoa com a polpa (mesocarpo) são empregadas na culinária no preparo de arroz, feijão, galinha; batido com leite e/ou usadas para a extração de manteiga (ALMEIDA, 1998; LORENZI, 2000).

Quanto aos minerais, a polpa do pequi apresenta Na (20,9 mg/g), Fe (15,57 mg/g), Mn (5,69 mg/g), Zn (65,32 mg/g), Cu (4,0 mg/g), Mg (0,05 mg/g), P (0,06 mg/g e K (0,18 mg/g), sendo que a amêndoa apresenta Na (2,96 mg/g), Fe (26,82 mg/g), Mn (14,37 mg/g), Zn (53,63 mg/g) e Cu (15,93 mg/g), mostrando, portanto, que o consumo associado de polpa e amêndoa constitui enriquecimento importante da dieta regional em zinco e manganês. Deve-se ressaltar que o teor dos principais macro e micronutrientes dessa espécie varia sazonalmente, sobretudo de N, P e K (ALMEIDA, 1998).

Em estudo realizado por Roesler et al. (2008), o pequi também demonstrou importante fonte natural de antioxidantes podendo ser aplicados nas indústrias alimentícia, farmacêutica ou cosmética.

2.7. Sapoti *(Achras sapota* L.*)*

O sapoti (*Achras sapota* L.) é um fruto cultivado em várias partes do mundo e originário da América Central. No Brasil, pode ser encontrado na zona da mata e em serras nordestinas, é conhecido popularmente como sapota ou sapotilha.

O sapotizeiro é uma árvore frondosa pertencente à família Sapotaceae, introduzida das Antilhas. Aclimatada no Brasil, atualmente é de ocorrência espontânea. Seus frutos de sabor adocicado são apreciados entre a população do meio rural paulista, que a conhece bem. O vegetal atinge 15 m de altura, com ramos quase verticais e copa abundante de formato oval (Figura 7) (PIO CORREA, 1931).

O fruto é uma baga globosa ovoide, elipsoide com 6 a 10 cm de comprimento e de 3 a 6 cm de diâmetro, pesa cerca de 100 a 500 g. Tem casca fina e frágil, áspera ao tato e cor pardo-amarelada; a polpa do fruto maduro é carnuda, suculenta, creme-amarelada de sabor adocicado, sem acidez, que envolve as sementes. As sementes são de cor pardo-escura a preta brilhante, de forma achatada, com 2 cm de comprimento por 1 cm de largura, cada fruto possui de 4 a 12 unidades de sementes. O período da safra ocorre geralmente nos meses de dezembro a março e julho a setembro.

Figura 7 - Aspectos gerais do *Achras sapota* L.

O fruto pode ser utilizado na forma de sucos, sorvetes e principalmente *in natura*, uma vez que sua polpa é considerada suculenta e bastante doce, não apresentando conteúdos significativos de fibras (MATOS et al., 2003).

O sapoti tem sido usado também na medicina popular, onde os componentes das sementes e da casca apresentam propriedades diuréticas e

antipiréticas, sendo empregados para dissolver cálculos hepáticos, nefríticos e combater a anorexia (CORDEIRO; NUNES; ALMEIDA, 1996).

Atribui-se à casca do fruto propriedades tônicas e febrífugas; as sementes são utilizadas como matéria-prima para obtenção de glicose e pectina. Pelo aroma e sabor do fruto tem sido comercializado nos mercados regionais a preços relativamente altos. A composição do fruto por 100 g é: energia (96 kcal), proteínas (0,7 g), Ca (29 g), Fe (1,2 mg), vitamina B1 (0,01 mg), vitamina B2 (0,01 mg) e vitamina C (13 mg) (SEAGRI, 2010).

3. Considerações finais

Os frutos do cerrado possuem composição química variada, tanto em termos calóricos quanto em concentração de macro e micronutrientes, e a escolha correta dos frutos pode contribuir para uma alimentação balanceada e rica em nutrientes, de apresentação gastronômica diversificada e agradável ao paladar do consumidor.

Desta maneira, os frutos do cerrado são um importante segmento, crescente, rentável e de boa aceitação, o que os tornam uma excelente alternativa para muitos agricultores, além de outros setores como a indústria e o comércio. Com isso, a conservação do ambiente e o plantio de árvores frutíferas nativas em áreas de preservação permanente e de reserva legal são de fundamental importância para promover o desenvolvimento socioeconômico e ambiental da região, de maneira sustentável.

4. Referências bibliográficas

ALBUQUERQUE, M. L. S. et al. Infrared absorption spectra of Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) oil. **Vibrational Spectroscopy**, Amsterdam, v. 33, p. 127-131, 2003.

ALMEIDA, E. R. **Plantas medicinais brasileiras**: conhecimentos populares e científicos. São Paulo: Hemus, 1993. p. 215-216.

ALMEIDA, S. P. Frutas nativas do Cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Eds.). **Cerrado**: ambiente e flora. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998. p. 247-285.

ALMEIDA, S. P; SILVA, J. A. **Piqui e buriti:** importância alimentar para a população dos cerrados. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1994. 38 p.

ARAÚJO, F. D. A review of caryocar brasiliense (*Caryocaraceae)*: an economically

valuable species of the central Brazilian Cerrados. **Economic Botany**, Bronx, v. 49, n. 1, p. 40-48, 1995.

BARBOSA, A. S. **Sistema biogeográfico do cerrado**: alguns elementos para sua caracterização. Goiânia: UCG, 1996. 44 p.

BRASIL. Ministério Meio Ambiente. **Programa nacional de conservação e uso sustentável do bioma cerrado**. Brasília: DF, 2006.

CALBO, M. E. R.; MORAES, J. A. P. V. Fotossíntese, condutância estomática, transpiração e ajustamento osmótico de planta de buriti submetidas a estresse hídrico. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 9, n. 2, p. 117-123, 1997.

CARVALHO, J. A. **Marolo**: o doce sabor do cerrado: sugestões de cultivo. [S.l.]: Folha Machadense, 2002.

CORDEIRO, R., NUNES, V. A.; ALMEIDA, C. R. **Plantas que curam**. São Paulo: Grupo de Comunicação Três, 1996. 390 p.

CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, 1969. v. 4. p. 515-519.

DAMIANI, C. **Qualidade e perfil volátil de pequi (Caryocar brasiliense camb.) minimamente processado, armazenado e sob diferentes temperaturas.** 2006. 136 f. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

ESTRELLA, E. **Plantas medicinales amazonicas:** realidad y perspectivas. Manaus: TCA, 1995. 268 p.

FERREIRA, E. L. **Manual das palmeiras do Acre, Brasil**. Referência Bibliográfica de documento eletrônico. Disponível em: http://www.nybg.org/bsci/acre/www1/manual_palmeiras.html. Acesso em março de 2009.

FIGUEIREDO, R. W. et al. Características físicas e químicas do jenipapo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 4, p. 421-428, 1986.

FIGUEIREDO, R. W. et al. Composição de ácidos graxos na fração lipídica da polpa e sementes de jenipapo (*Genipa americana* L.). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 9, n. 2, p. 149-154, 1991.

GARCÍA, C. G.; POLO, A. S.; IHA, N. Y. M. Photoelectrochemical solar cell using extract of *Eugenia jambolana* Lam as a natural sensitizer. **Annals of the Brazilian Academic of Sciences**, Rio de Janeiro, v. 75, n. 2, p. 163-165, 2003.

GODOY, H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Ocurrence of cis-isomers of provitamin A in Brasilian Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 42, n. 6, p. 1306-1313, 1994.

GOMES, H. Cerrado: extinção ou patrimônio nacional? In: GOMES, H. (Ed.). **Universo do cerrado**. Goiânia: UCG, 2008. 278 p.

GOTTSBERGER, G. Beetle pollination and flowering rhythm of *Annona* spp. (Annonaceae) in Brazil. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 167, n. 3-4, p. 165-187, 1989.

HOLSER, R. A.; BOST, G.; VAN BOVEN, M. Phytosterol composition of hybrid Hibiscus seed oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 9, p. 2546-2548, 2004.

LIMA, D. U.; OLIVEIRA, R. C.; BUCKERIDGE, M. S. Seed storage hemicelluloses as wet-end additives in papermaking. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 52, n. 4, p. 367-373, 2003.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2000. 312 p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 2. ed. São Paulo: Plantarum, 1992. 382 p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 3. ed. Nova Odessa: Plantarum, 1998. 368 p.

MARIATH, J. G. R.; LIMA, M. C. C.; SANTOS, L. M. P. Vitamin A activity of buriti (*Mauritia vinifera* Mart) and its effectiveness in the treatment and prevention of xerophthalmia. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 49, n. 5, p. 849-853, 1989.

MARQUES, M. C. S. **Estudo fitoquímico e biológico dos extratos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. 2001. 91 f. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

MATOS, V. P. et al. Sementes de sapoti (*Achras sapota* L.): dormência e emergência. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiania, v. 33, n. 2, p. 79-82, 2003.

MATUDA, T. G.; MARIA NETTO, F. Caracterização química parcial da semente de jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 353-357, 2005.

MEDEIROS, R. A.; HARIDASAN, M. Seasonal variations in the foliar concentrations of nutrients in some aluminium accumulate and non-accumulate species of the cerrado region of central Brazil. **Plant and Soil**, The Hague, v. 88, n. 3, p. 433-436, 1985.

MELO, M. G. G.; MENDES, A. M. S. **Jatobá (*Hymenaea courbaril* L)**. Informativo Técnico: Rede de Sementes da Amazônia, n. 9, 2005.

PIO CORREA, M. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1931. v. 2. 33 p.

PRANCE, G. T. **Árvores de Manaus**. 17. ed. Manaus: INPA, 1975. p. 223-225.

RIBEIRO, J. F. et al. **Araticum (*Annona crassiflora* Mart.)**. Jaboticabal: Embrapa Cerrados, 2000. 52 p.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P (Eds.). **Cerrado:** ambiente e flora. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998. p. 89-152.

RIBEIRO, R. F. **Pequi**: o rei do cerrado. Belo Horizonte: Rede Cerrado, 2000. 62 p.

RIZZINI, C. T. Aspectos ecológicos da regeneração em algumas plantas do cerrado. In: Simpósio sobre o cerrado, 1971, São Paulo. **Anais**... São Paulo: Blucher Edusp,

1971. p. 61-64.

ROESLER, R. et al. Antioxidant activity of *Caryocar brasiliense* (pequi) and characterization of components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, London, v. 110, n. 3, p. 711-717, 2008.

ROESLER, R. et al. Antioxidant activity of *Annona crassiflora*: characterization of major components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, London, v. 104, n. 3, p. 1048-1054, 2007.

ROESLER, R. et al. Evaluation of the antioxidant properties of the Brazilian Cerrado fruit *Annona crassiflora* (Araticum). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 71, n. 2, p. 102-107, 2006.

SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F.; BRITO, M. A. **Baru**: biologia e uso. Planaltina: Embrapa. Cerrados, 2004. 5 p.

SANTOS, B. R. **Micropropagação de pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. 2004. 239 f. Tese de Doutorado – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

SEAGRI. Secretária de Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária do Estado da Bahia. **Cultura - Sapotizeiro**. Salvador-BA, 2010. Disponível em: http://www.seagri.ba.gov.br/Sapoti.htm#Colheita. Acesso em janeiro de 2011.

SILVA, A. P. P.; MELO, B.; FERNANDES, N. **Fruteiras do cerrado**. Colaborador do Fundo Nacional do Meio Ambiente para a Rede Brasileira de Fundos Socioambientais. SIRTOLI, L. F. Superação de Dormência em sementes de araticum-cagão (Anona cacan Wern.). 2001. Disponível em: http://www.ppg.uem.br/Docs/pes/eaic/XI_EAIC/trabalhos/arquivos/11-1873-0.pdf. Acesso em dezembro de 2010.

SILVA, J. A. et al. **Frutos nativos dos cerrados.** Brasília: Embrapa-CPAC, 1994. 16 p.

SILVA, M. R. et al. Utilização tecnológica dos frutos de jatobá-do-cerrado e de jatobá-da-mata na elaboração de biscoitos fontes de fibra alimentar e isentos de açúcares. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 176-182, 2001.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P.; CHANG, Y. K. Utilização da farinha de jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) na elaboração de biscoitos tipo cookie e avaliação de aceitação por testes sensoriais afetivos univariados e multivariados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 25-34, 1998.

SILVEIRA, F. A. **Abelhas silvestres (*Hymenoptera*: *Apoidea*) e suas fontes de alimento no cerrado na Estação de experimentação de Paraopeba, Minas Gerais**. 1989. 50 f. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1989.

SOARES, T. N. et al. Landscape conservation genetics of *Dipteryx alata* (“baru” tree: Fabaceae) from Cerrado region of central Brazil. **Genética**, Dordrecht, v. 132, n. 1, p. 9-19, 2008.

SOUZA, I.; SALVIANO, A. Fruticultura: **A cultura do pequi (*Caryocar brasiliense*)**. Disponível em: http://www.emater.mg.gov.br/site_emater/Serv_Prod/Livraria/Fruticultura. Acesso em

janeiro de 2011.

TAKEMOTO, E. et al. Composição química da semente e do óleo de baru (*Dipteryx alata* Vog.) nativo do Município de Pirenópolis, Estado de Goiás. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 60, n. 2, p. 113-117, 2001.

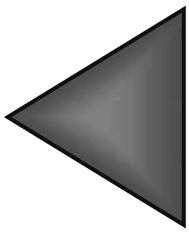
TOGASHI, M.; SGARBIERI, V. C. Avaliação nutricional da proteína e do óleo de sementes de baru *(Dipteryx alata* Vog*.)***. Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 66-69, 1995.

VERA, R. et al. Caracterização física de frutos do pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) no estado de Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 35, n. 2, p. 71-79, 2005.

VIEIRA, R. F.; COSTA T. A. **Frutas nativas do cerrado: qualidade nutricional e sabor peculiar**. Brasil: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007.

CAPÍTULO 2.

Capacidade antioxidante de fontes vegetais



RESUMO

Antioxidantes naturais são importantes na prevenção de doenças, tanto para plantas como para animais, inibindo ou retardando a oxidação das biomoléculas por meio da prevenção da iniciação ou da propagação da cadeia de reações da oxidação. Com isso, dietas acrescidas de frutas, vegetais, tubérculos, cascas, castanhas, sementes oleaginosas, entre outras fontes vegetais, estão associadas à menor incidência de doenças coronarianas e inflamatórias, e certos tipos de câncer. Neste contexto, o objetivo desta revisão foi apresentar a classificação, os mecanismos de ação, os tipos e funções dos antioxidantes naturais, e suas medidas analíticas de avaliação da capacidade antioxidante de fontes vegetais, visando verificar o seu potencial antioxidante para possível aplicação na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética.

Palavras-chave: deterioração oxidativa, β-caroteno/ácido linoleico, $DPPH^{\bullet}$, FRAP, $ABTS^{\bullet+}$.

ABSTRACT

Natural antioxidants are important in the prevention of diseases, both for plants and animals, inhibiting or retarding the oxidation of biomolecules, by preventing the initiation or propagation of oxidation reaction chains. With this, diets containing fruits, vegetables, tubers, bark, nuts, oilseeds, and other plant sources are associated with lower incidence of coronary heart disease, inflammatory diseases, and certain types of cancer. In this context, the aim of this review was to present the classification, mechanisms of action, types and functions of natural antioxidants, and their analytical measurements to assess the antioxidant capacity of plant sources, to verify their antioxidant potential for possible application in food, pharmaceutical and cosmetic industries.

Keywords: oxidative deterioration, β-carotene/linoleic acid, $DPPH^{\bullet}$, FRAP, $ABTS^{\bullet+}$.

1. Introdução

Os óleos e gorduras estão sujeitos a diversas reações que resultam em modificações de suas características originais. Estas envolvem alterações biológicas, físicas e químicas, dentro das quais se enquadra o processo de oxidação lipídica (NAMIKI, 1990; NAWAR, 1985).

O retardo ou a prevenção da oxidação lipídica, uma das principais causas da deterioração de alimentos, pode ser realizado pela adição de antioxidantes, que mantêm a qualidade e prolongam a vida de prateleira do alimento (MONFERRER; VILLALTA, 1993; MUKAI et al., 1993).

A estabilidade oxidativa é um dos mais importantes indicadores utilizados para avaliação da qualidade dos óleos comestíveis. A diferença da estabilidade entre os diversos tipos de óleos vegetais é decorrente principalmente da presença de ácidos graxos poli-insaturados e da quantidade de antioxidantes naturais, além da adição de antioxidantes sintéticos.

Nos últimos anos, pesquisas vêm sendo realizadas a fim de divulgar à comunidade científica e ao consumidor a capacidade antioxidante encontrada em fontes vegetais, isoladas ou combinadas, para prevenir doenças, além de melhorar a qualidade de vida do ser humano. Por outro lado, os antioxidantes não se limitam somente aos gêneros alimentícios, ou seja, eles também podem ser empregados nas indústrias farmacêuticas e cosméticas.

2. Oxidação lipídica

A oxidação lipídica é responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis, tornando os alimentos impróprios para consumo, além de provocar outras alterações que irão afetar não só a qualidade nutricional, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, mas também a integridade e segurança dos alimentos, pela formação de compostos potencialmente tóxicos (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999). O mecanismo da oxidação lipídica é tradicionalmente descrito por diferentes caminhos.

- Reações hidrolíticas

As reações hidrolíticas são catalisadas pelas enzimas lipases, presentes nas

sementes oleaginosas, ou pela ação de calor e umidade, com formação de ácidos graxos livres, que aumentam a acidez do óleo e, em menor quantidade, a formação de metilcetonas e lactonas, podendo produzir aromas desagradáveis (O´BRIEN, 1998).

- Oxidação enzimática

A oxidação por via enzimática ocorre pela ação das enzimas lipoxigenases que atuam sobre os ácidos graxos poli-insaturados, catalisando a adição de oxigênio à cadeia hidrocarbonada poli-insaturada. O resultado é a formação de peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas que podem envolver-se em diferentes reações degradativas (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

- Fotoxidação

O mecanismo da fotoxidacão de gorduras insaturadas é promovido essencialmente pela radiação ultravioleta (UV) em presença de fotossensibilizadores (clorofila, mioglobina, riboflavina e outros), que absorvem a energia luminosa de comprimento de onda na faixa do visível e a transferem para o oxigênio triplete ($^3O_2$), gerando o estado singlete ($^1O_2$) (BERGER; HAMILTON, 1995).

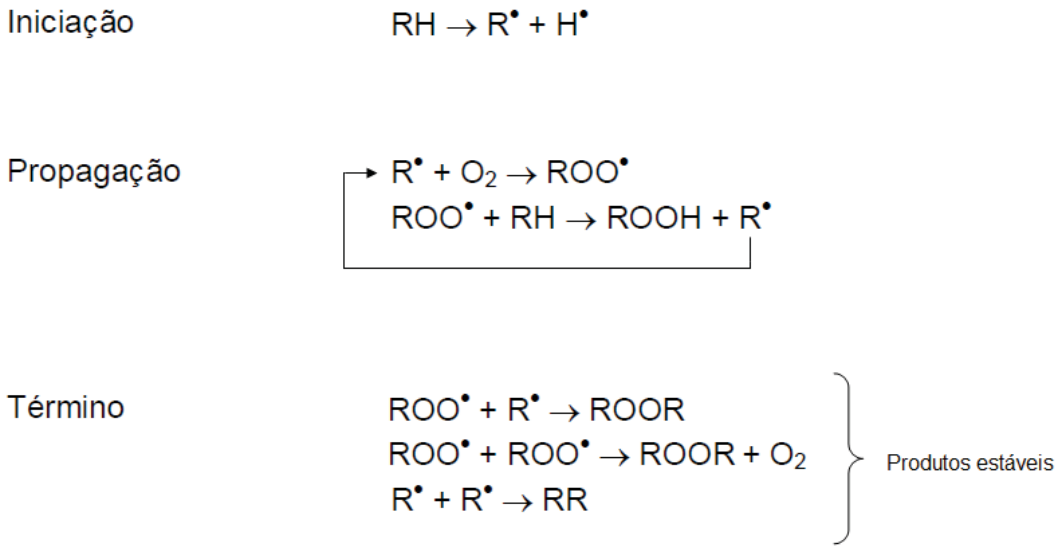
O $^1O_2$ reage diretamente com as ligações duplas por adição, formando hidroperóxidos diferentes dos que se observam na ausência de luz e de sensibilizadores, e que por degradação posterior originam aldeídos, alcoóis e hidrocarbonetos (SÁ; OLIVEIRA; REGITANO D`ARCE, 2004).

- Autoxidação

A autoxidação é o principal mecanismo de oxidação dos óleos e gorduras (WENG; WANG, 2000). Segundo Ordóñez et al. (2005), o mecanismo de oxidação é uma das principais reações de deterioração dos alimentos, implicando no aparecimento de sabores e odores desagradáveis. Essa reação de deterioração provoca redução no valor nutritivo do alimento, como consequência da perda de ácidos graxos essenciais, sendo alguns produtos, resultantes da reação, potencialmente tóxicos.

De acordo com Jadhav et al. (1996), a oxidação dos óleos e gorduras está associada à reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados e ocorre conforme as etapas ilustradas na Figura 1.

Figura 1 - Mecanismo de reação da oxidação lipídica.



RH - Ácido graxo insaturado; R• - Radical livre; ROO• - Radical peróxido; ROOH - Hidroperóxido

Na etapa da iniciação, ocorre a formação de radicais livres devido à retirada de um hidrogênio do carbono alílico na molécula do ácido graxo, em condições favorecidas por luz e calor. Na propagação, os radicais livres (moléculas susceptíveis ao ataque do oxigênio atmosférico) são convertidos em (outros radicais) produtos primários da oxidação lipídica (peróxidos e hidroperóxidos). Os radicais livres formados atuam como propagadores da reação, resultando num processo autocatalítico. No término, os radicais combinam-se formando produtos estáveis (produtos secundários de oxidação), obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (epóxidos, compostos voláteis e não-voláteis) (MELO; GUERRA, 2002).

Para prevenir a autoxidação de óleos/gorduras, há a necessidade de diminuir a incidência de todos os fatores que a favorecem, mantendo ao mínimo os níveis de energia, temperatura e luz, que são responsáveis pelo desencadeamento do processo de formação de radicais livres, evitando a presença de traços de metais no óleo, impedindo o contato com o oxigênio e bloqueando a formação de radicais livres por meio de antioxidantes, os quais, em pequenas quantidades, atuam interferindo nos processos de oxidação de lipídios (JORGE; GONÇALVES, 1998).

3. Antioxidantes

O uso de antioxidantes na indústria de alimentos e seus mecanismos

funcionais tem sido amplamente estudado. Uma preocupação atual das indústrias é estabelecer um controle da alteração de óleos e gorduras durante seu uso, devido a relação com a qualidade e vida de prateleira do produto. Portanto, nas últimas décadas, alguns aditivos vêm adquirindo importância significativa, devido à sua contribuição, tanto na diminuição da deterioração de óleos e gorduras, como no aumento da vida útil do produto no mercado. Dentro deste contexto, os antioxidantes têm lugar de destaque, cuja efetividade como inibidor das reações autoxidativas durante armazenamento, processamento e utilização de óleos e gorduras é indiscutível e conduz sua utilização como aditivos usados em quantidades limitadas (MOURE et al., 2001).

3.1. Classificação e mecanismo de ação

Biologicamente, os antioxidantes podem ser denominados como substâncias sintéticas ou naturais, adicionadas aos produtos para prevenir ou retardar sua deterioração pela ação do oxigênio do ar. E bioquimicamente, os antioxidantes são designados de enzimas ou outras substâncias orgânicas, como vitamina E, capazes de amenizar os efeitos nocivos da oxidação em tecidos (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

Estruturalmente, os antioxidantes são compostos aromáticos que possuem pelo menos uma hidroxila, podendo ser sintéticos, largamente utilizados pela indústria de alimentos, ou naturais, que fazem parte da constituição de diversos alimentos (PODSEDEK, 2007).

Os antioxidantes, segundo o mecanismo de ação, são classificados em antioxidantes primários e secundários. Os primários são compostos de estrutura fenólica (Figura 2): butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), galato de propila (GP) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ), que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, pela doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia (DUBINSKY, 2000; SIMIC; JAVANOVIC, 1994). Madhavi e Salunkhe (1995) apresentaram o mecanismo de ação para os antioxidantes primários, representado na Figura 3.

Figura 2 - Estrutura fenólica dos antioxidantes primários.

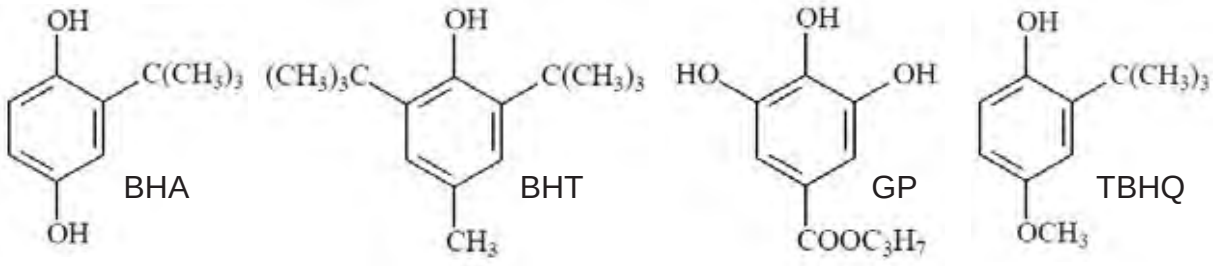


Figura 3 - Mecanismo de ação dos antioxidantes primários.

$$ROO^{\bullet} + AH \longrightarrow ROOH + A^{\bullet}$$

$$R^{\bullet} + AH \longrightarrow RH + A^{\bullet}$$

$ROO^{\bullet}$ e $R^{\bullet}$ - Radical peróxido e radical livre
AH - Antioxidante com um átomo de hidrogênio
$A^{\bullet}$ - Radical inerte

Os antioxidantes secundários contribuem para retardar a autoxidação por mecanismos diferentes aos dos antioxidantes primários (CHOE; MIN, 2006). Nesta categoria encontram-se:

- ✓ Agentes quelantes – complexam íons metálicos, principalmente cobre e ferro, que catalisam a oxidação lipídica. Um par de elétrons não compartilhado na sua estrutura molecular promove ação de complexação. Os mais comuns são ácido cítrico e seus sais, fosfatos e sais do ácido etileno diamina tetra acético (EDTA);
- ✓ Removedores de oxigênio – atuam capturando o oxigênio presente no meio, por reações químicas estáveis, tornando-os, consequentemente, indisponíveis para atuar como propagadores da autoxidação. Ácido ascórbico e palmitato de ascorbila são os melhores exemplos deste grupo;
- ✓ Compostos que decompõem os hidroperóxidos – formam produtos finais estáveis, como os fosfolipídios em determinadas condições;
- ✓ Compostos que regeneram os antioxidantes primários – como o ácido ascórbico, que regenera o α-tocoferol.

3.2. Tipos de antioxidantes

Os antioxidantes sintéticos como BHA, BHT, GP e TBHQ são os mais utilizados na indústria de alimentos para diminuir a fase de propagação da reação de

oxidação.

Estudos toxicológicos têm demonstrado a possibilidade desses antioxidantes apresentarem efeito carcinogênico em experimentos com animais (BOTTERWECK et al., 2000). Por esse motivo, o uso de antioxidantes sintéticos é restringido em vários países, visto que existe a possibilidade de terem efeitos indesejáveis para a saúde humana (ALMEIDA-DORIA; REGITANO-D'ARCE, 2000; CUVELIER; RICHARD; BERSET, 1996).

O TBHQ não é permitido no Canadá e na Comunidade Econômica Europeia (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2002). Segundo o *Codex Alimentarium Commission* (2009), o limite máximo permitido para BHA, TBHQ, BHT, GP, e combinações de dois ou mais antioxidantes é de 175, 120, 75, 100 e 200 mg/kg, respectivamente. No Brasil, o uso de antioxidantes é controlado pelo Ministério da Saúde que limita em 200 mg/kg tanto para BHA como para TBHQ e 100 mg/kg para BHT e GP como concentrações máximas permitidas (BRASIL, 2005).

Tendo em vista os indícios de problemas que podem ser provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos, há grande interesse na obtenção e utilização de antioxidantes provenientes de fontes naturais porque são presumidamente seguros, visto que ocorrem em plantas e frutas. Nesse sentido, muitas pesquisas têm sido dirigidas com a finalidade de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, os quais permitirão substituir os sintéticos ou fazer associações entre eles, com o intuito de diminuir sua quantidade nos alimentos (COIMBRA; DEL RÉ; JORGE, 2009; JORGE; MALACRIDA, 2008; LUZIA; JORGE, 2011; SOARES, 2002).

As substâncias presentes em fontes naturais, que são capazes de agir como antioxidantes são minerais, vitaminas e compostos fenólicos. Dentre os mais importantes, sob o ponto de vista tecnológico, podem-se citar os tocoferóis, os carotenoides, alguns ácidos orgânicos como cítrico e ascórbico, e os flavonoides. Esses compostos podem agir como redutores de radicais livres, inibidores ou supressores de $^1O_2$ e ainda como inativadores de metais pró-oxidantes.

O potencial antioxidante de um composto é determinado pela reatividade do mesmo como doador de elétrons ou hidrogênio, sua capacidade de deslocar ou estabilizar elétrons desemparelhados e suas reatividades com outro antioxidante ou com o oxigênio molecular (MOURE et al., 2001).

Okonogi et al. (2007) avaliaram a capacidade antioxidante e a citotoxicidade de resíduos de cascas de diferentes frutas: romã (*Punica granatum)*, rambutam

(*Nephelium lappaceum)* e mangostão (*Garcinia mangostana)*, e constataram que poderiam ser aproveitados devido ao grande potencial antioxidante.

Segundo estudo realizado por Leong e Shui (2002), a capacidade antioxidante de frutas como goiaba, uva, manga, kiwi, melão, mamão, abacate, coco, melancia, laranja, sapoti e rambutam variou de acordo com a espécie, de 0,06% para sapoti até 70,2% para rambutam.

3.3. Funções dos antioxidantes naturais

Além de prevenir a deterioração oxidativa dos lipídios, os antioxidantes atuam beneficamente na saúde prevenindo o surgimento de doenças relacionadas ao envelhecimento, câncer e doenças cardíacas. A formação de radicais livres está associada com o metabolismo normal das células aeróbicas. O consumo de oxigênio inerente à multiplicação celular leva à geração de uma série desses radicais. A interação destas espécies com moléculas de natureza lipídica em excesso produz novos radicais hidroperóxidos e diferentes peróxidos. A produção de radicais livres é controlada nos seres vivos por diversos compostos antioxidantes, os quais podem ter origem endógena ou serem obtidos pela dieta. Quando há limitação na disponibilidade de antioxidantes, podem ocorrer lesões oxidativas de caráter cumulativo e os grupos de radicais podem interagir com os sistemas biológicos de formas citotóxicas (SOUZA et al., 2007).

Segundo Krishnaiah, Sarbatly e Nithyanandam (2011), os antioxidantes extraídos de plantas medicinais e ervas reduzem o estresse oxidativo nas células e, portanto, são úteis no tratamento de várias doenças, como câncer, doenças inflamatórias e cardiovasculares.

3.4. Medidas analíticas

Vários são os métodos para avaliar a capacidade antioxidante, podendo ser usados para compostos isolados, extratos de vegetais e óleos. Estes métodos podem ser testados *in vitro* e *in vivo*.

Dentre esses, podem ser citados os métodos tradicionais de extração utilizando solventes orgânicos (como água, etanol, éter e metanol) e a extração supercrítica com o dióxido de carbono (CO_2). Sob o ponto de vista químico, não há

como selecionar a metodologia mais eficiente para a extração desses compostos que podem sofrer a influência de diversos fatores, por exemplo, a natureza do vegetal, o solvente empregado na extração, o tamanho das partículas, o tempo e a temperatura de extração (ANDREO; JORGE, 2006; SUHAJ, 2006). E também, por outro lado, não existe um método satisfatório que consiga averiguar a capacidade antioxidante total de uma amostra, pois existem vários mecanismos antioxidantes que podem ocorrer (OU et al., 2002), sendo sequestro de radicais, habilidade redutora, complexação de íons metálicos e outros.

Desta forma, os métodos mais comumente utilizados para avaliar a capacidade antioxidante em vegetais são os realizados por meio de espectrofotometria, tais como β-caroteno/ácido linoleico (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006; SUN; POWERS; TANG, 2007); *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* ($DPPH^{\bullet}$) (JAYAPRAKASHA et al., 2007; STRATIL; KLEJDUS; KUBAN, 2006); *ferric-reducing antioxidant power* (FRAP) (HUANG; OU; PRIOR, 2005; STRATIL; KLEJDUS; KUBAN, 2006); 2,2- *azino-bis-(3- ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid*) ($ABTS^{\bullet+}$) (KUSKOSKI et al. 2005; ZHOU; YU, 2006); *oxygen radical absorbanc capacity* (ORAC).

Essas metodologias vêm sendo bastante utilizadas na determinação da capacidade antioxidante de alimentos e produtos naturais devido à sua relativa simplicidade, rapidez e sensibilidade (ARNAO, 2000).

3.4.1. β-caroteno/ácido linoleico

O método do β-caroteno/ácido linoleico utiliza Tween 40 como emulsificante, e avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico. O método está fundamentado em medidas espectrofotométricas da descoloração (oxidação) do β-caroteno induzida pelos produtos de degradação oxidativa do ácido linoleico (MARCO, 1968; MILLER, 1971). A determinação é medida a 470 nm, na presença e na ausência de um antioxidante. É um método simples, sensível, mas não específico, pois, substâncias oxidantes ou redutoras interferem no ensaio (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

3.4.2. $DPPH^{\bullet}$

No método de sequestro do radical $DPPH^{\bullet}$, a atividade antioxidante de um

composto é determinada pela medida do decréscimo na absorvância do radical estável a 515 nm (MATTHAUS, 2002). Quando o radical $DPPH^{\bullet}$ reage com um composto antioxidante (AH) que pode doar um átomo de hidrogênio, ele é reduzido à molécula estável DPPH-H. Esta redução é acompanhada pela mudança de coloração do radical roxo para o amarelo claro, levando a um decréscimo na absorvância. Quanto maior a rapidez com que a absorvância diminui, maior a capacidade do antioxidante para doar hidrogênio (MILIAUSKAS; VENSKUTONIS; VAN BEEK, 2004).

A atividade antirradical de um composto determinada pelo método do $DPPH^{\bullet}$ pode ser expressa como porcentagem de atividade antioxidante ou em termos da eficiência de concentração (EC_{50}). A eficiência de concentração consiste na quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de $DPPH^{\bullet}$ em 50%. Assim, quanto menor o valor de EC_{50}, maior o poder antioxidante do composto.

O método de DPPH é usado rotineiramente para avaliar as propriedades antioxidantes de grãos de trigo e farelo, vegetais, ervas, especiarias, castanhas, além de óleos de sementes comestíveis, em diferentes sistemas de solventes, incluindo etanol, acetona aquosa, metanol e benzeno (CHENG; MOORE; YU, 2006).

3.4.3. FRAP

Dentre os métodos para a avaliação da atividade antioxidante, o FRAP é o único que não se baseia na capacidade de captura do radical livre e sim na capacidade de redução do complexo férrico em ferroso, quando isso ocorre na presença de *2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine* (TPTZ) e em condições ácidas a redução é acompanhada pela formação de um complexo corado, azul intenso, com uma absorção máxima a 593 nm (BENZIE; STRAIN, 1996).

3.4.4. $ABTS^{\bullet+}$

Segundo Re et al. (1999), o método $ABTS^{\bullet+}$ ou *trolox equivalent antioxidant activity* (TEAC) a 734 nm, baseia-se na cor azul-esverdeada, do produto obtido da reação do $ABTS^{\bullet+}$ com perssulfato de potássio, que possui absorção máxima em 645, 734 e 815 nm. Com a adição de um antioxidante ocorre a redução do $ABTS^{\bullet+}$ a ABTS promovendo a perda da coloração do meio reacional. Com a extensão da

perda de cor, a porcentagem de inibição do $ABTS^{\bullet+}$ é determinada em função do Trolox, que é um antioxidante sintético análogo à vitamina E, submetido às mesmas condições de análise do antioxidante.

O método $ABTS^{\bullet+}$ pode ser usado para soluções com diferentes valores de pH, bem como para o estudo da influência do pH nos mecanismos antioxidantes. É solúvel em solventes aquosos e orgânicos e não é afetado por força iônica, assim pode ser usado também para determinar a capacidade antioxidante de extratos e fluídos corpóreos, hidrofílicos e lipofílicos (AWIKA et al., 2003).

3.4.5. ORAC

O método ORAC baseia-se na capacidade de captura de um radical específico, o peroxila, gerado a partir de uma molécula orgânica *2,2-azino-bis-(2-methylpropianamidine dihydrochloride)* (AAPH). Os radicais atacam a molécula de fluoresceína oxidada que já não emite fluorescência, produzindo, portanto, um decréscimo na mesma (excitação a 493 nm e emissão a 515 nm). Na presença dos antioxidantes, a reação do radical peroxila com a fluoresceína faz com que esta mantenha a mesma emissão de fluorescência. Dessa forma, pode-se comparar o decréscimo da fluorescência produzida na presença e na ausência de um antioxidante (OU; HAMPCH-WOODILL; PRIOR, 2001).

O método ORAC tem sido amplamente utilizado em estudos recentes de plantas, frutas e vegetais (KRISHNAIAH; SARBATLY; NITHYANANDAM, 2011).

3.5. Fontes vegetais

Durante o processamento, antioxidantes naturais presentes nas sementes oleaginosas são separados em frações lipofílicas e hidrofílicas. A maioria dos antioxidantes lipofílicos é extraída com o óleo durante a prensagem e extração com solvente. Antioxidantes mais polares, no entanto, são parcialmente removidos durante a etapa de refino (SCHMIDT; POKORNÝ, 2005). Óleos extraídos a frio retêm elevados níveis de antioxidantes naturais e, desta forma, apresentam elevada vida de prateleira sem a adição de antioxidantes sintéticos, promovendo, ainda, benefícios à saúde (PARKER et al., 2003).

Os antioxidantes naturais podem ser encontrados e isolados de uma variedade de alimentos de fontes vegetais. Entre as fontes de antioxidantes naturais

estão incluídos frutas e legumes (LUZIA, JORGE, 2011; STANGELAND; REMBERG; LYE, 2009; TENORE; NOVELLINO; BASILE, 2012), café e cacau (BREZOVA; ŠLEBODOVA; STAŠKO, 2009; DELGADO-ANDRADE; MORALES, 2005; OTHMAN et al., 2007), cereais (OKARTER et al., 2010; PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2005), cogumelos (ELMASTAS et al., 2007; HELENO et al., 2010; SILVA; JORGE, 2011), ervas e especiarias (BANDYOPADHYAY; CHAKRABORTY; RAYCHAUDHURI, 2008; DEL RÉ; JORGE, 2011; WANG et al., 2012), castanhas (YANG, 2009; WALL, 2010), hortaliças (ISABELLE et al., 2010) e plantas medicinais (KRISHNAIAH; SARBATLY; NITHYANANDAM, 2011; SOUSA et al., 2007).

Dietas ricas nessas fontes vegetais estão associadas com menor incidência de doenças degenerativas, coronarianas, certos tipos de câncer, doenças inflamatórias, úlceras gástricas, além de proteger o sistema imune. Com isso, diferentes tipos de extração têm sido empregados para avaliar *in vitro* a capacidade antioxidante de produtos naturais. A Tabela 1 apresenta alguns métodos de extração e a capacidade antioxidante de várias espécies de fontes vegetais. Segundo Anwar et al. (2010), sementes de cevada *(Hordeum vulgare* L.) extraídas com 100% de metanol obtiveram maior atividade antioxidante quando comparada com a mistura de metanol:água (80:20 v/v). Porém, outros autores encontraram relevante atividade antioxidante para métodos de extração que utilizam dois tipos de solventes.

A atividade antioxidante (EC_{50}) da castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*) apresentou maior capacidade quando extraída com a mistura clorofórmio:metanol (295 µg/mL), enquanto que na extração com o hexano obteve 65,5 µg/mL (MIRALIAKBARI; SHAHIDI, 2008).

4. Considerações finais

A oxidação lipídica é uma das principais alterações que afeta tanto óleos ou gorduras e também os alimentos que os contêm. As reações químicas envolvidas nesse processo são complexas e geram, em estágios mais avançados, produtos sensorialmente inaceitáveis. A aplicação de antioxidantes, em termos técnicos, é um dos caminhos mais simples para reduzir a oxidação de óleos e gorduras. Desta maneira, nesta revisão, enfatizou-se a possibilidade dos vegetais *in natura* como frutas, tubérculos, cascas, sementes, óleos, entre outros componentes vegetais, serem fontes de antioxidantes.

Tabela 1 - Métodos de extração e capacidade antioxidante de várias espécies de fontes vegetais.

Espécies	Métodos de Extração	Potencial Antioxidante	Referências
Araticum *(Annona crassiflora)*	Água:Etanol (5:95 v/v)	EC_{50} (31,14 µg/mL)	Roesler et al. (2007)
Abóbora (*Cucurbita sp*.) Uva (*Vitis vinifera* L.)	Prensagem a Frio	$DPPH^{\bullet}$ (0,95 e 1,43 mmol/L)	Tuberoso et al. (2007)
Alecrim (*Rosmarinus officinalis)* Gengibre *(Zingiber officinalis)*	Fluído Supercrítico	$ABTS^{+}$ (200 e 350 e mmol Trolox/g) e $DPPH^{\bullet}$ (80 e 145 mmol Trolox/g)	Justo et al. (2008)
Castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*)	Hexano Clorofórmio:Metanol	EC_{50} (65,5 µg/mL); EC_{50} (295 µg/mL)	Miraliakbari e Shahidi (2008)
Planta medicinal *(Teucrium polium)*	Metanol	EC_{50} (20,1 µg/mL)	Sharififar, Dehghn-Nudeh e Mirtajaldini (2009)
Pitangas roxa, vermelha e laranja (*Eugenia uniflora* L.)	Clorofórmio:Metanol:Água	$DPPH^{\bullet}$ (14,6, 16,7 e 17,4 mmol Trolox/100 g)	Bagetti et al. (2009)
Cevada *(Hordeum vulgare* L.)	Metanol:Água (80:20 v/v); Metanol (100%)	EC_{50} (90,7 µg/mL); EC_{50} (144,1 µg/mL)	Anwar et al. (2010)
Cajá (*Spondias mombin*) Mangaba (*Hancornia speciosa*)	Metanol:Água (50:50 v/v)	EC_{50} (9.397 e 3.385 g/g) e $ABTS^{+}$ (7,8 e 14,6 µmol Trolox/g)	Rufino et al. (2010a)
Açaí (*Euterpe oleraceae)*	Soxhlet 60°C Éter de Petróleo	EC_{50} (646,3 g/g)	Rufino et al. (2010b)

Em termos experimentais, o processo de extração é uma etapa chave na obtenção de antioxidantes com rendimento aceitável. Para selecionar um solvente, estudos comparativos são necessários para cada substrato. Além das extrações convencionais com metanol, etanol e acetato de etila, outros métodos, como extrações em fase supercrítica são úteis, uma vez que fornecem bons rendimentos e preservam as propriedades antioxidantes.

Quanto à avaliação da capacidade antioxidante, existem muitos métodos, com fundamentos, mecanismos de reação e maneiras de expressar resultados muito diferentes. Além do mais, em vista das diversas aplicações alimentícias, farmacológicas, cosméticas, entre outras, torna-se difícil escolher os métodos mais apropriados. Nesse sentido, esta linha de investigação desponta como área de interesse imediato para os mais diversos setores do conhecimento no sentido de encontrar respostas para a promoção da saúde dos consumidores e do meio ambiente, bem como para a melhoria da qualidade de vida.

Porém, é necessário um estudo detalhado, com atenção cuidadosa em relação ao potencial de toxicidade. Estudos nessa linha devem ser realizados antes da possível aplicação dos antioxidantes naturais em larga escala. A discussão de testes toxicológicos e antimicrobianos foge do escopo do presente trabalho, porém os mesmos são fundamentais para o uso industrial ou artesanal dos vários produtos, em alimentação humana ou animal.

5. Referências bibliográficas

ALMEIDA-DORIA, R. F.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Antioxidant activity of rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 1-14, 2000.

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.

ANWAR, F. et al. Antioxidant activity of 100% and 80% methanol extracts from barley seeds (*Hordeum vulgare* L.): stabilization of sunflower oil. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 61, n. 3, p. 237-243, 2010.

ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 11, n. 11, p. 419-421, 2000.

AWIKA, J. M. et al. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum

(*Sorghum bicolor*) and sorghum products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 23, p. 6657-6662, 2003.

BAGETTI, M. et al. Antioxidant capacity and composition of pitanga seeds. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 8, p. 2504-2510, 2009.

BANDYOPADHYAY, M.; CHAKRABORTY, R.; RAYCHAUDHURI, U. Antioxidant activity of natural plant sources in dairy dessert (Sandesh) under thermal treatment. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 41, n. 5, p. 816-825, 2008.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.

BERGER, K. G.; HAMILTON, R. J. **Developments in oils and fats**. London: Chapman & Hall, 1995. cap. 7.

BOTTERWECK, A. A. et al. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the netherlands cohort study. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 38, n. 1, p. 599-605, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n°. 23, de 15 de fevereiro de 2005. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 15 de fevereiro de 2005. Aprova o **Regulamento técnico do uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos óleos e gorduras – subcategoria creme vegetal e margarinas**. Brasília, 2005.

BREZOVA, V.; ŠLEBODOVA, A.; STAŠKO, A. Coffee as a source of antioxidants: an EPR study. **Food Chemistry**, London, v. 114, n. 3, p. 859-868, 2009.

CHENG, Z.; MOORE, J.; YU, L. High-throughput relative DPPH radical scavenging capacity assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 20, p. 7429-7436, 2006.

CHOE, E.; MIN, D. B. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 5, n. 4, p. 169-186, 2006.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Codex-Stan 210**: codex standard for named vegetable oils. Rome, 2009.

COIMBRA, M. C.; DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Influência do extrato de alho na estabilidade oxidativa do óleo de soja refinado. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 56, n.5, p. 547-550, 2009.

CUVELIER, M. L.; RICHARD, H.; BERSET, C. Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extract of sage and rosemary. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Chicago, v. 73, n. 5, p. 645-652, 1996.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Antioxidant potential of oregano (*Oreganum vulgare* L.), basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.): application of oleoresins in vegetable oil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 4, p. 955-959, 2011.

DELGADO-ANDRADE, C.; MORALES, F. J. Unraveling the contribution of

melanoidins to the antioxidant activity of coffee brews. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 5, p. 1403-1407, 2005.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando o sistema -caroteno/ácido linoléico e métod de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

DUBINSKY, E. Utilización de antioxidantes en aceites y grasas. **Aceites y Grasas**, Sevilla, v. 12, n. 1, p. 191-199, 2000.

ELMASTAS, M. et al. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 20, n. 3, p. 337-345, 2007.

HELENO, S. A. et al. Tocopherols composition of Portuguese wild mushrooms with antioxidant capacity. **Food Chemistry**, London, v. 119, n. 4, p. 1443-1450, 2010.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays**.** **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.

ISABELLE, M. et al. Antioxidant activity and profiles of common vegetables in Singapore. **Food Chemistry**, London, v. 120, n. 4, p. 993-1003, 2010.

JADHAV, S. J. et al. Lipid oxidation in biological and food systems. In: MADHAVI, D. L.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K (Eds.). **Food antioxidants**: technological, toxicological and health perspectives. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 5-63.

JAYAPRAKASHA, G.K. et al. Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 20, n. 3-4, p.330-336, 2007.

JORGE, N.; GONÇALVES, L. A. G. Aditivos utilizados em óleos e gorduras de frituras. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n. 1, p. 40-47, 1998.

JORGE, N.; MALACRIDA, C. R. Extratos de sementes de mamão (*Carica papaya* L.) como fonte de antioxidantes naturais. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 3, p. 337-340, 2008.

JUSTO, O. R. et al. Avaliação do potencial antioxidante de extratos ativos de plantas obtidos por extração com fluido supercrítico. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 7, p. 1699-1705, 2008.

KRISHNAIAH, D.; SARBATLY, R.; NITHYANANDAM, R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. **Food and Bioproducts**, Rugby, v. 89, n. 3, p. 217-233, 2011.

KUSKOSKI, E. M. et al. Aplicación de diversos método químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

LEONG, L. P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food Chemistry**, London, v. 76, n. 1, p. 69-75, 2002.

LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Fatty acids profile and alteration of lemon seeds extract (*Citrus limon*) added to soybean oil under thermoxidation. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, 2011. DOI 10.1007/s13197-011-0411-3.

MADHAVI , D. L.; SALUNKHE, D. K. Antioxidants. In: MAGA, J.; TU, A. T. (Eds.). **Food additive toxicology***.* New York: Marcel Dekker, 1995. p. 89-178.

MARCO, G. J. A rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 45, n. 9, p. 594-598, 1968.

MATTHAUS, B. Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 12, p. 3444-3452, 2002.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P. R.; VAN BEEK, T. A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**, London, v. 85, n. 2, p. 231-237, 2004.

MILLER, H. E. A simplified method for the evaluation of antioxidant. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 48, n. 2, p. 91, 1971.

MIRALIAKBARI, H.; SHAHIDI, F. Antioxidant activity of minor components of tree nut oils. **Food Chemistry**, London, v. 111, n. 2, p. 421-427, 2008.

MONFERRER, A.; VILLALTA, J. La fritura desde un punto de vista práctico (I). **Alimentación, Equipos y Tecnología**, [S.I.], v. 21, n. 3, p. 85-90, 1993.

MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, London, v. 72, n. 2, p. 145-171, 2001.

MUKAI, K. et al. Kinetic study of reactions between tocopheroxyl radicals and fatty acids. **Lipids**, Champaign, v. 28, n. 8, p. 753-756, 1993.

NAMIKI, M. Antioxidants/antimutagenics in food. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 29, n. 4, p. 273-300, 1990.

NAWAR, W. W. Lipids. In: FENNEMA, O. R. (Ed.). **Food chemistry**. 2th ed. New York: Marcel Dekker, 1985. p. 139-244.

O´BRIEN, R. D. **Fats and oils:** formulating and processing for applications. Lancaster: Technomic Publishing, 1998. p. 204-211.

OKARTER, N. et al. Phytochemical content and antioxidant activity of six diverse varieties of whole wheat. **Food Chemistry**, London, v. 119, n. 1, p. 249-257, 2010.

OKONOGI, S. et al. Comparison of antioxidant capacities and cytotoxicities of certain fruit peels. **Food Chemistry**, London, v. 103, n. 33, p. 839-846, 2007.

ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de alimentos**: componentes dos alimentos e processos. Porto Alegre: Artmed, 2005. v. I. p. 33-49.

OTHMAN , A. et al. Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. **Food Chemistry**, London, v. 100, n. 4, p. 1523-1530, 2007.

OU, B.; HAMPCH-WOODILL, M.; PRIOR, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the flourescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 10, p. 4619-4626, 2001.

PARKER, T. D. et al. Fatty acid composition and oxidative stability of cold-pressed edible seed oils. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, n. 4, p. 1240-1243, 2003.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Literature data may underestimate the actual activity of cereals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 13, p. 5036-5040, 2005.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of *Brassica* vegetables. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 40, n. 1, p. 1-11, 2007.

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

REISCHE; D. W.; LILLARD, D. A.; EITENMILLER, R. R. Antioxidants. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B (Eds.). **Food lipids:** chemistry, nutrition and biotechnology. 2th ed. New York: Marcel Dekker, 2002. p. 489-516.

ROESLER, R. et al. Antioxidant activity of *Annona crassiflora*: characterization of major components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, London, v. 104, n. 3, p. 1048-1054, 2007.

RUFINO, M. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, London, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010a.

RUFINO, M. S. M. et al. Açaí (*Euterpe oleraceae)* 'BRS Pará': a tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. **Food Research International***,* Barking, v. 44, n. 7, p. 2100-2106, 2010b.

SÁ, J. T. G.; OLIVEIRA, B.; REGITANO D´ARCE, M. A. B. Determining economical TBHQ doses for corn oil stability. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 413-418, 2004.

SCHMIDT, S.; POKORNÝ, J. Potential application of oilseeds as sources of antioxidants for food lipids – a review. **Czech Journal of Food Science**, Prague, v. 23, n. 3, p. 93-102, 2005.

SHARIFIFAR, F.; DEHGHN-NUDEH, G.; MIRTAJALDINI, M. Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. **Food Chemistry**, London, v. 112, n. 4, p. 885-888, 2009.

SILVA, A. C.; JORGE, N. Antioxidant properties of Lentinus edodes and Agaricus blazei extracts. **Journal of Food Quality**, Wastport, v. 34, n. 6, p. 386-394, 2011.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SIMIC, M. G.; JAVANOVIC, S. V. Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis. In: HO, C. T.; OSAWA, T.; HUANG, T. M.;

ROSEN, R. T. (Eds.). **Food phytochemicals for cancer prevention**. Washington: American Chemical Society, 1994. p. 20-33.

SOARES, S. E. Ácidos fenolicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOUSA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, D. F. S. et al. Estabilidade oxidativa dos óleos de macadâmia e de pistache. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 25, n. 1, p. 141-156, 2007.

STANGELAND, T.; REMBERG, S. F.; LYE, K. A. Total antioxidant activity in 35 Ugandan fruits and vegetables. **Food Chemistry**, London, v. 113, n. 1, p. 85-91, 2009.

STRATIL, P.; KLEJDUS, B.; KUBAN, V. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables evaluation of spectrophotometric methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 3, p.607-616, 2006.

SUHAJ, M. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 19, n. 6-7, p. 531-537, 2006.

SUN, T.; POWERS, J.R.; TANG, J. Evaluation of the antioxidant activity of asparagus, broccoli and their juices. **Food Chemistry**, London, v. 105, n. 1, p. 101-106, 2007.

TENORE, G. C.; NOVELLINO, E.; BASILE, A. Nutraceutical potential and antioxidant benefits of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) extracts. **Journal of Functional Foods**, Maryland, v. 4, n. 1, p. 129-136, 2012.

TUBEROSO, C. I. G. et al. Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. **Food Chemistry**, London, v. 103, n. 4, p. 1494-1501, 2007.

WALL, M. M. Functional lipid characteristics, oxidative stability, and antioxidant activity of macadamia nut (Macadamia integrifolia) cultivars. **Food Chemistry**, London, v. 121, n. 4, p. 1103-1108, 2010.

WANG, Y. et al. Studies on bioactivities of tea (*Camellia sinensis* L.) fruit peel extracts: antioxidant activity and inhibitory potential against α-glucosidase and α-amylase *in vitro*. **Industrial Crops and Products**, [S.I.], v. 37, n. 1, p. 520-526, 2012.

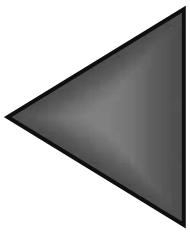
WENG, X. C.; WANG, W. Antioxidant activity of compounds isolated from *Salvia plebeia.* **Food Chemistry**, London, v. 71, n. 4, p. 489-493, 2000.

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: a review. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 42, n. 10, p. 1573-1580, 2009.

ZHOU, K.; YU, L. Total phenolic contents and antioxidant properties of commonly consumed vegetables grown in Colorado. **Food Science and Technology**, Maryland, v. 39, n.10, p.1155-1162, 2006.

CAPÍTULO 3.

Compostos bioativos em fontes vegetais



RESUMO

Dietas que incluem compostos bioativos provindos de fontes como frutas, vegetais, castanhas, sementes oleaginosas, grãos, entre outras, estão associadas à redução de riscos de doenças cardiovasculares, artrites, doenças crônico-degenerativas e, ainda, a uma melhor qualidade e expectativa de vida. Neste contexto, o objetivo desta revisão foi apresentar as fontes, mecanismos de ação, funções, e medidas analíticas de compostos como os fitosteróis, os tocoferóis, os compostos fenólicos, os carotenoides e os ácidos graxos essenciais, enfatizando a possibilidade de muitos vegetais *in natura* serem fontes desses compostos. De fato, o consumidor interessa-se cada vez mais por conhecer os alimentos que utiliza e há uma crescente demanda por produtos que contenham em sua composição constituintes considerados potencialmente benéficos para a saúde. Desta forma, tem-se um campo com enorme potencial econômico que as indústrias alimentares tentam explorar cada vez mais. Este fenômeno evidencia-se pelo aumento do investimento de indústrias e grupos econômicos no desenvolvimento de novos produtos apoiados em estudos científicos.

Palavras-chave: alimentos funcionais, medidas analíticas, vegetais, antioxidantes.

ABSTRACT

Diets that include bioactive compounds coming from sources such as fruits, vegetables, nuts, oilseeds, grains, among others, are associated with reduced risk of cardiovascular disease, arthritis, chronic degenerative diseases and also to the improvement of quality and expectation of life. In this context, the aim of this review was to present the sources, mechanisms of action, functions, and analytical measures of compounds such as plant sterols, tocopherols, phenolic compounds, the carotenoids and essential fatty acids, emphasizing the possibility of several fresh vegetables being sources of these compounds. In fact, consumers are more and more interested in knowing about foods they use and there is a growing demand for products containing constituents considered potentially beneficial for health in their composition. Thus, there is a field with great economic potential that the food industries try to explore more and more. This phenomenon is evidenced by the increased investment of industries and economic groups in developing new products backed by scientific studies.

Keywords: functional foods, analytical measurements, vegetables, antioxidants.

1. Introdução

Compostos bioativos são constituintes não nutricionais e ocorrem tipicamente em pequenas quantidades nos alimentos. O estudo desses compostos bioativos inspirou o conceito de alimentos funcionais.

O termo “alimentos funcionais” foi usado pela primeira vez no Japão, em meados de 80, para produtos alimentares enriquecidos com componentes especiais que possuíam vantajosos efeitos fisiológicos (KWAK; JUKES, 2001; STANTON et al., 2005).

Segundo Day et al. (2009), alimento funcional é qualquer alimento, natural ou processado, que além de seus nutrientes, possua componentes adicionais que atuam no metabolismo e fisiologia humana, promovendo efeitos benéficos à saúde, além de retardar o aparecimento de doenças crônico-degenerativas e melhorar a qualidade e a expectativa de vida das pessoas.

No Brasil, o Ministério da Saúde, por intermédio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), regulamentou os alimentos funcionais com as seguintes resoluções: ANVISA/MS 16/99; ANVISA/MS 17/99; ANVISA/MS 18/99; ANVISA/MS 19/99, cuja essência é:

- ✓ Resolução da ANVISA/MS 16/99 – trata de Procedimentos para Registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes, cuja característica é de não necessitar de um Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) para registrar um alimento, além de permitir o registro de novos produtos sem histórico de consumo no país e também novas formas de comercialização para produtos já consumidos (BRASIL, 1999a);
- ✓ Resolução da ANVISA/MS 17/99 – aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para Avaliação de Risco e Segurança de Alimentos que prova, baseado em estudos e evidências científicas, se o produto é seguro sob o ponto de risco à saúde ou não (BRASIL, 1999b);
- ✓ Resolução ANVISA/MS 18/99 – aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para a Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e/ou de Saúde, alegadas em rotulagem de alimentos (BRASIL, 1999c);
- ✓ Resolução ANVISA/MS 19/99 – aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem (BRASIL, 1999d).

Os compostos bioativos, provindos de uma alimentação equilibrada, fortalecem o sistema endógeno, o que reduz o estresse oxidativo e o risco de patologias, principalmente câncer e aterosclerose, já que estes podem neutralizar radicais livres resultantes de processos oxidativos intracelulares (VOLP; RENHE; STRINGUETA, 2009).

Segundo Cicerale et al. (2009), acredita-se que a alimentação possui destaque nas doenças mais comuns da sociedade – doenças cardiovasculares, câncer, hipertensão e obesidade. Não é conhecido ainda o grau em que a dieta previne essas doenças, mas uma estimativa comumente aceita pelos especialistas é que pelo menos um terço dos casos de câncer e em torno de metade das patologias de coração, artérias e hipertensão podem ser atribuídas à dieta.

Como compostos bioativos presentes nos alimentos com ação funcional, podem ser citados os grupos de compostos tais como fitosteróis, tocoferóis, compostos fenólicos, carotenoides, ácidos graxos essenciais, entre outros (ETTINGER, 2005; POKORNÝ, 2007).

1.1. Fitosteróis

Esteróis são substâncias presentes e essenciais nas membranas celulares dos animais e nas paredes celulares dos vegetais. Os esteróis de origem vegetal, chamados de fitosteróis, são considerados compostos fitoquímicos, ou seja, substâncias químicas biologicamente ativas encontradas em plantas. No entanto, o esterol mais conhecido é o colesterol, encontrado principalmente nos produtos de origem animal.

A denominação de fitosteróis para todos os esteróis de origem vegetal foi proposta em 1897 por H. Thoms (JOHNSSON, 2004). Os fitosteróis mais comuns são os insaturados que correspondem aos esteróis e os saturados aos estanóis. Os fitosteróis podem ser convertidos em fitostanóis por hidrogenação química (MOREAU; WHITAKER; HICKS, 2002).

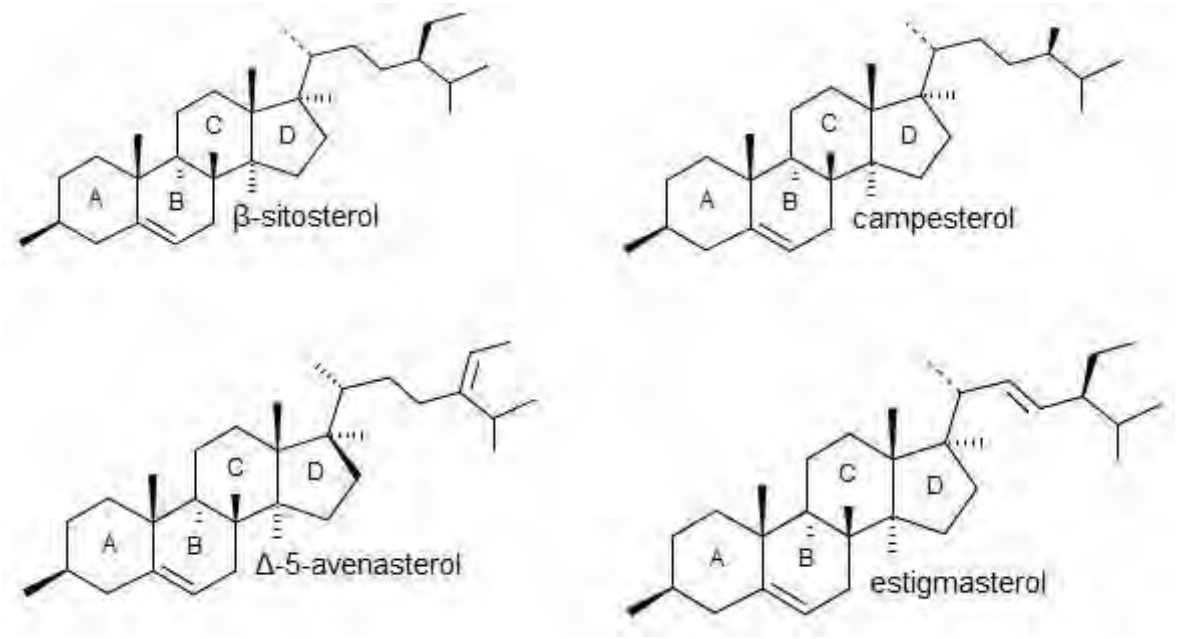
A estrutura básica dos fitosteróis e de todos os esteróides é conhecida como ciclopentanoperidrofenantreno, sendo muito semelhante à estrutura do colesterol, diferenciando-se apenas na cadeia lateral (CLAYTON; WHITFIELD; IYER, 1998). A maior parte dos fitosteróis possui cadeias longas com 28 ou 29 carbonos com uma ou duas ligações duplas (MOREAU; WHITAKER; HICKS, 2002). O anel A está

ligado a um grupo hidroxila pelo carbono 3 e o D, a uma cauda de hidrocarbonetos pelo carbono 17. Os anéis B e C estão ligados a um grupo metila nos carbonos 10 e 13, respectivamente.

Em óleos vegetais, os fitosteróis ocorrem principalmente como esterol livre ou esterificado com ácidos graxos ou com monossacarídeos (VERLEYEN et al., 2002). A forma glicosilada é encontrada mais comumente em cereais. Quando na forma livre, são ligeiramente solúveis no óleo, em torno de 2%, e insolúveis em água. Quando na forma de ésteres de fitosteróis, a solubilidade em óleo aumenta em torno de 20%. A redução do colesterol sanguíneo não é alterada pelo fitosteróis esterificados com ácidos graxos, uma vez que no intestino delgado serão hidrolisados pela enzima colesterol esterase em ácidos graxos e esteróis livres (NTANIOS, 2001).

Em plantas, mais de 200 diferentes tipos de fitosteróis têm sido reportados sendo os mais abundantes o β-sitosterol, o campesterol e o estigmasterol. A Figura 1 mostra a estrutura química de alguns fitosteróis encontrados em alimentos.

Figura 1 - Estrutura química dos fitosteróis.



A média da ingestão de fitosteróis em dietas ocidentais é de 200 a 400 mg/dia e estão naturalmente presentes em vegetais, particularmente em sementes, óleos vegetais comestíveis, cereais, castanhas, legumes e frutas, sendo os óleos

vegetais uma das maiores fontes (PIIRONEN et al., 2000).

A Tabela 1 apresenta os teores de fitosteróis das frações lipídicas de algumas espécies como frutas, legumes e cereais. As frações lipídicas de algumas espécies naturais apresentaram significante fonte de fitosteróis, sobretudo para jenipapo (*Genipa americana* L.), enquanto que nas demais espécies observou-se quantidades inferiores a 100 mg/100 g.

Tabela 1 - Teores de fitosteróis totais das frações lipídicas de algumas espécies naturais.

Espécies	**Fitosteróis Totais* (mg/100 g)**	**Referências**
Batata (*Solanum tuberosum*)	3,6	Han, Yang e Feng (2008)
Brócolis (*Brassica oleracea* var.)	40,9	Han, Yang e Feng (2008)
Coco de palma chileno *(J. chilensis)*	100,5	Masson, Camilo e Torija (2008)
Buriti (*Mauritia flexuosa* L.)	25	Costa et al. (2010)
Jenipapo (*Genipa americana* L.)	233	Costa et al. (2010)
Arroz (*Oryza sativa*)	30	Marangoni e Poli (2010)
Frutas cítricas (*C. limon*, *C. sinensis* L.)	18-24	Marangoni e Poli (2010)
Lentilhas (*Lens culinaris*)	22,9	Kalogeropoulos et al. (2010)

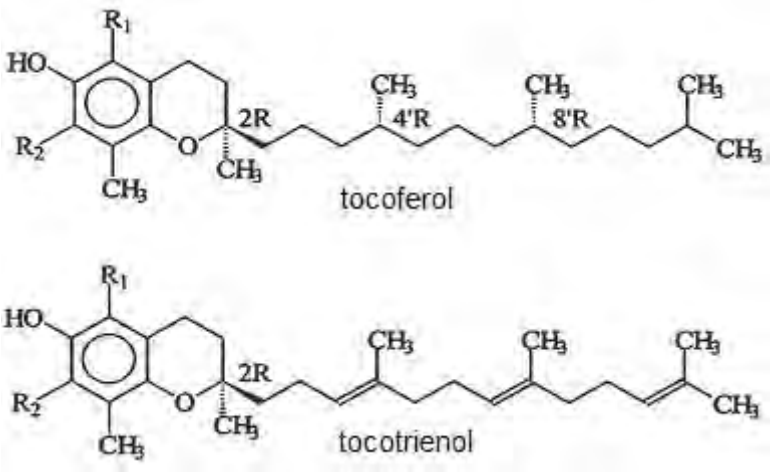
* β-sitosterol, campesterol, estigmasterol, sitostanol, campestanol, Δ-5-avenasterol e Δ-7-avenasterol.

1.2. Tocoferóis

Os tocoferóis são substâncias lipossolúveis existentes na natureza, basicamente, em oito formas de vitamina E, agrupadas em duas séries de compostos com estrutura química semelhante: α-, β-, γ-, δ-tocoferol e α-, β-, γ-, δ-tocotrienol, (Figura 2). Os compostos da série tocoferóis possuem cadeia saturada ligada ao anel, enquanto que os da série tocotrienóis possuem cadeia insaturada (CERT; MOREDA; PÉREZ-CAMINO, 2000).

Algumas importantes fontes de tocoferóis são o gérmen de trigo, a semente de girassol, o óleo de soja e a alface (MADHAVI; SINGHAL; KULKARNI, 1996). A quantidade de tocoferóis e tocotrienóis extraída depende do genótipo da planta, das condições climáticas de crescimento e colheita, quantidade de ácidos graxos poli-insaturados, condições de processamento e armazenamento (RABASCALL; RIERA, 1987).

Figura 2 - Estrutura química do tocoferol e tocotrienol.



	R_1	R_2
α-tocoferol	$-CH_3$	$-CH_3$
β-tocoferol	$-CH_3$	-H
γ-tocoferol	-H	$-CH_3$
δ-tocoferol	-H	-H

A Tabela 2 apresenta a composição de tocoferóis e tocotrienóis totais presentes nas frações lipídicas de algumas fontes naturais. O teor de tocoferóis em óleos extraídos destas fontes naturais variou de 84 a 748 mg/kg. A ordem decrescente do teor de tocoferóis totais foi: melancia > maracujá > avelã > *grapefruit* > laranja > goiaba > pistache > linhaça > macadâmia > coco de palma chileno. Já os teores de tocotrienóis totais não foram estudados por todos os autores citados na Tabela 2.

Tabela 2 - Teores de tocoferóis e tocotrienóis totais da fração lipídica de fontes vegetais.

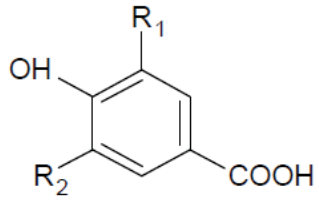
Fontes Vegetais	**Tocoferóis Totais* (mg/kg)**	**Tocotrienóis Totais* (mg/kg)**	**Referências**
Grapefruit (*Citrus paradisi*)	432	-	Anwar et al. (2008)
Coco de palma chileno *(J. chilensis)*	84	-	Masson, Camilo e Torija (2008)
Linhaça (*Linum usitatissimum*)	141	4,7	Bozan e Temelli (2008)
Avelã (*Corylus avellana* L.)	463	6,6	Alasalvar et al. (2009)
Melancia (*Citrullus lanatus* var.)	748	-	Malacrida (2009)
Maracujá (*Passiflora edulis*)	499	-	Malacrida (2009)
Goiaba (*Psidium guajava* var.)	292	-	Malacrida (2009)
Laranja (*Citrus sinensis* L.)	319	-	Malacrida (2009)
Macadâmia (*M. integrifolia)*	122	-	Yang (2009)
Pistache (*Pistacia vera* L.)	291	-	Yang (2009)

* α-, β-, γ-, δ-tocoferol e tocotrienol.

1.3. Compostos fenólicos

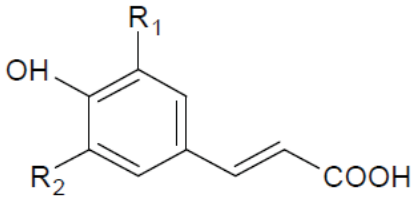
Compostos fenólicos ou polifenóis constituem um numeroso e amplamente distribuído grupo de compostos do metabolismo secundário de plantas, com mais de 8.000 estruturas atualmente conhecidas. Embora apresentem estruturas bastante variadas, os compostos fenólicos são classificados em dois grandes grupos: os flavonoides e os não-flavonoides. O grupo dos flavonoides é formado pelas antocianinas e antoxantinas, enquanto que o grupo dos não-flavonoides engloba os ácidos fenólicos e os estilbenos (BURNS et al., 2000). Na Figura 3 estão representadas as estruturas químicas de alguns ácidos fenólicos.

Figura 3 - Estruturas químicas dos principais fenólicos derivados do ácido benzoico (a) e ácido cinâmico (b).



(a)

Ácido *p*-hidroxibenzoico: $R_1 = R_2 = H$
Ácido vanílico: $R_1 = CH_3O$, $R_2 = H$
Ácido siríngico: $R_1 = R_2 = CH_3O$
Ácido gálico: $R_1 = R_2 = OH$



(b)

Ácido *p*-cumárico: $R_1 = R_2 = H$
Ácido cafeico: $R_1 = H$, $R_2 = OH$
Ácido ferúlico: $R_1 = CH_3O$, $R_2 = H$
Ácido sinápico = $R_1 = R_2 = CH_3O$

Os compostos fenólicos, em geral, existem naturalmente numa grande variedade de alimentos de origem vegetal como frutas, legumes, sementes, flores e folhas e fazem parte integral da dieta humana (BRAVO, 1998; ROSS; KASUM, 2002). Contudo, frutas normalmente são mais ricas em fenólicos que hortaliças, com conteúdo total de até 1-2 g/100 g de fruta fresca (YANG et al., 2001). A quantidade de compostos fenólicos em cada alimento é imensamente variável, mesmo entre cultivares de mesma espécie. Os compostos fenólicos totais extraídos das frações lipídicas de algumas sementes estão apresentados na Tabela 3.

Em sementes oleaginosas, poucos compostos fenólicos ocorrem em concentrações relativamente altas. Os ácidos fenólicos são os compostos encontrados com maior frequência, incluindo os ácidos cafeico, gálico, vanílico,

ferúlico, *p*-cumárico, protocateico, *p*-hidroxibenzoico, sinápico, gentísico e *p*-hidroxifenilacético (SHAHIDI; NACZK, 1995; ZAMBIAZI; ZAMBIAZI, 2000).

Tabela 3 - Teores de compostos fenólicos totais extraídos das frações lipídicas de algumas sementes.

Espécies	Compostos Fenólicos Totais* (mg/kg)	Referências
Abóbora (*Cucurbita sp*.)	12,22	Peričin et al. (2009)
Uva (*Vitis vinifera* L.)	3,12	Harbaum-Piayda et al. (2010)
Palma (*Eleais guineensis*)	12,51	Neo et al. (2010)
Castanha do Brasil (*B. excelsa*)	10,22	John e Shahidi (2010)

* ácidos cafeico, gálico, vanílico, ferúlico, *p*-cumárico, protocateico e *p*-hidroxibenzoico.

Apenas pequenas quantidades de compostos fenólicos estão presentes em óleos vegetais comerciais, uma vez que grande parte destes compostos é removida durante as etapas de refino, com exceção o azeite de oliva virgem que contém quantidades significantes de fenólicos, sendo fonte de, pelo menos, 30 compostos diferentes (TUCK; HAYBALL, 2002).

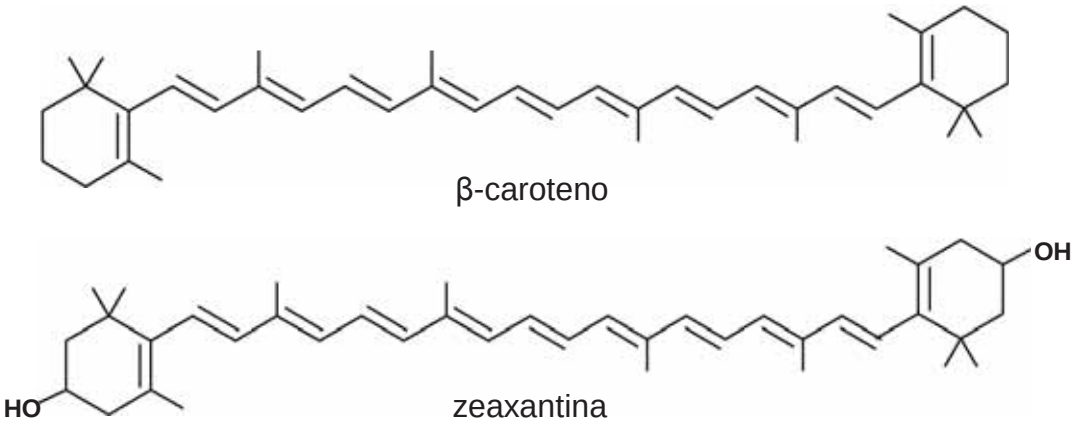
1.4. Carotenoides

Os carotenoides representam um grupo de pigmentos naturais lipossolúveis com tonalidades que variam do amarelo ao vermelho. Existem mais de 600 compostos, excluindo-se os isômeros, contendo geralmente 40 carbonos, todos constituídos de poli-isoprenoides. Apresentam amplo sistema de duplas ligações e por isso podem ser oxidados, tanto quimicamente como biologicamente (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). Quimicamente, os carotenoides são divididos em duas classes: a dos carotenoides hidrocarbonetos, coletivamente denominados de carotenos, e a dos carotenoides que possuem pelo menos uma molécula de oxigênio em sua estrutura, genericamente conhecidos como xantofilas (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARIO; HEREDIA, 2004a). Na Figura 4 estão representadas as estruturas químicas de um caroteno (β-caroteno) e de uma xantofila (zeaxantina).

Com o clima tropical e subtropical, muitos países em desenvolvimento têm uma enorme variedade de fontes carotenogênicas, que incluem frutas, hortaliças e

óleos extraídos de frutos de palmeiras diversas. No entanto, esclarecer os fatores que afetam a biodisponibilidade de carotenoides em vegetais é imprescindível para determinar até que ponto o consumo desses vegetais e óleos podem auxiliar no combate à deficiência de vitamina A (ORTEGA-FLORES; PENTEADO, 1992).

Figura 4 - Estrutura química de um caroteno (β-caroteno) e de uma xantofila (zeaxantina).



Esses pigmentos são encontrados nos alimentos em duas formas principais: em soluções oleosas, onde sua biodisponibilidade é de mais de 50% e como constituintes de matrizes no interior de frutas e hortaliças, juntamente com fibras, polissacarídeos digeríveis e proteínas e, pelo fato dessas matrizes não serem quebradas completamente durante a preparação do alimento e na sua passagem pelo intestino, a biodisponibilidade destes compostos é de menos de 10%. A eficiência da absorção de carotenoides diminui à medida que aumenta a quantidade ingerida. Também existe uma relação entre vitamina E e carotenoides, pois suplementos de vitamina E tendem a reduzir as concentrações plasmáticas de carotenoides, apesar de pequenas quantidades desta vitamina também serem capazes de prevenir a oxidação de carotenoides do trato gastrintestinal (SHILS et al., 2003).

Os principais carotenos encontrados nos óleos vegetais são o β-caroteno, habitualmente majoritário, α-caroteno, γ-caroteno, licopeno e fitoeno. A zeaxantina e a luteína são as xantofilas comumente presentes nos lipídios vegetais (FERRARI, 2001). Segundo Godoy e Rodriguez-Amaya (1994), os frutos de buriti são as principais fontes de origem vegetal de β-caroteno. Os carotenoides compõem um dos grupos de pigmentos naturais mais extensamente encontrados na natureza,

responsáveis pelas colorações do amarelo ao vermelho de flores, folhas, frutas, algumas raízes como a cenoura, gema de ovo, lagosta e outros crustáceos, peixes e aves.

Estudos sobre as composições de óleos extraídos de sementes de algumas frutas têm encontrado variadas quantidades de carotenoides totais (Tabela 4).

Tabela 4 - Teores de carotenoides totais presentes nas frações lipídicas de sementes de algumas frutas.

Espécies	Carotenoides Totais* (mg/kg)	Referências
Framboesa (*Rubus ideaus*)	190	Parry et al. (2005)
Amora (*Rubus* hybrid)	300	Parry et al. (2005)
Mamão (*Carica papaya* L.)	7	Malacrida (2009)
Guariroba (*Syagrus oleracea*)	1	Coimbra e Jorge (2011)
Jerivá (*Syagrus romanzoffiana*)	2	Coimbra e Jorge (2011)
Macaúba (*Acrocomia aculeata*)	2	Coimbra e Jorge (2011)

* β-caroteno, zeaxantina, luteína e β-criptoxantina.

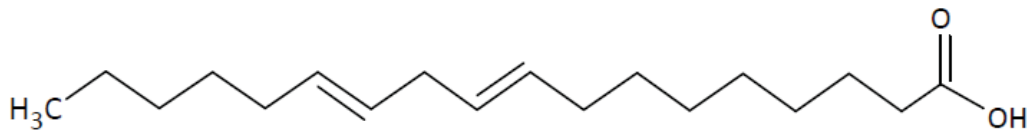
1.5. Ácidos graxos essenciais

Os óleos e gorduras são classificados em saturados, monoinsaturados e poli-insaturados, dependendo da presença e número de duplas ligações na cadeia de ácidos graxos.

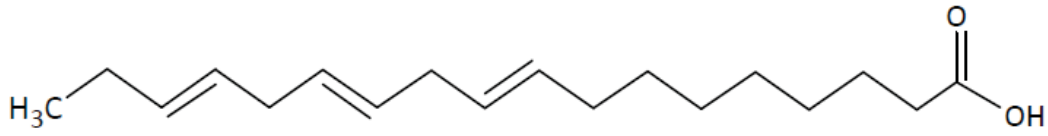
Alguns dos ácidos graxos insaturados produzem efeitos especiais no organismo vivo e são denominados ácidos graxos essenciais. Estes ácidos graxos não podem ser sintetizados pelo organismo humano e, desta forma, devem ser obtidos pela dieta uma vez que são essenciais à vida. Existem dois tipos de ácidos graxos essenciais, a série dos ácidos graxos n-6, derivada do ácido cis-linoleico (C18:2), e a serie dos n-3, derivada do ácido α-linolênico (C18:3) (DAS, 2006). As estruturas químicas dos ácidos graxos n-6 e n-3 são apresentadas na Figura 5.

As famílias n-6 e n-3 abrangem ácidos graxos que apresentam insaturações separadas apenas por um carbono metilênico, com a primeira insaturação no sexto e terceiro carbono, respectivamente, enumerado a partir do grupo metila terminal (MARTIN et al., 2006).

Figura 5 - Estruturas químicas dos ácidos graxos cis-linoleico (n-6) e α-linolênico (n-3).



ácido cis-linoleico (n-6)



ácido α-linolênico (n-3)

As fontes mais importantes de ácidos graxos n-3, ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA), são os peixes de origem marinha. Entre as espécies mais ricas em n-3 estão a sardinha com 3,3 g/100 g, o arenque com 1,7 g/100 g, a anchova e o salmão, ambos com 1,4 g/100 g de peixe cru (NASIFF-HADAD; MERINO-IBARRA, 2003).

Estudos sobre as composições de óleos extraídos de sementes e grãos não convencionais têm encontrado elevadas quantidades de ácidos graxos insaturados (Tabela 5).

2. Mecanismos de ação dos compostos bioativos

A quantidade de compostos bioativos presentes nos alimentos não reflete necessariamente a quantidade absorvida e metabolizada pelo organismo. Assim, são necessárias a identificação e utilização de biomarcadores de exposição apropriados para o melhor entendimento dos principais processos individuais de biodisponibilidade desses compostos e de seus metabólitos.

Tabela 5 - Perfil de ácidos graxos insaturados presentes nas frações lipídicas de alguns tipos de sementes e grãos não convencionais.

Sementes	(%)				Referências
	C18:1	C18:2	C18:3	C18:2 n6 + C18:3 n3	
Cânhamo (*Cannabis sativa* L.)	9,00	56,00	22,00	78,00	Callaway (2004)
Kiwi (*Actinidia chinensis*)	12,6	16,1	62,3	78,40	Piombo et al. (2006)
Feijão (*Phaseolus vulgaris*)	11,97	26,04	45,69	71,73	Ryan et al. (2007)
Feijão manteiga (*Phaseolus lunatus*)	10,35	42,43	18,34	60,77	Ryan et al. (2007)
Quinoa (*Chenopodium quinoa*)	29,49	48,07	7,99	56,06	Ryan et al. (2007)
Sacambu (*P. floribundum* Vog.)	21,1	43,64	4,60	48,24	Valillo et al. (2007)
Linhaça (*L. usitatissumum*)	15,07	13,96	58,31	72,27	Bozan e Temelli (2008)
Açafrão (*Carthamus tinctorius* L.)	11,04	70,46	nd	70,46	Bozan e Temelli (2008)
Papoula (*Papaver somniferum* L.)	11,94	74,47	0,60	75,07	Bozan e Temelli (2008)
Pitaia Vermelha (*H. polyrhizus*)	21,6	49,6	1,21	50,81	Ariffin et al. (2009)
Pitaia Branca (*H. undatus*)	23,8	50,1	0,98	51,08	Ariffin et al. (2009)

C18:1 ácido oleico, C18:2 ácido linoleico, C18:3 ácido α-linolênico.

nd - não detectado.

- Fitosteróis

Há alguns anos atrás, fitosteróis e fitostanóis têm sido adicionados a diversos produtos, que estão comercialmente disponíveis como alimentos funcionais com capacidade de reduzir os níveis plasmáticos de colesterol total e lipoproteína de baixa densidade (LDL).

Os fitosteróis promovem uma redução do colesterol total por inibirem a absorção do colesterol exógeno, proveniente da dieta, como o endógeno, produzido pelo fígado, passando para o intestino delgado junto com a bile, oferecendo, benefícios à saúde com diminuição no risco de doenças cardiovasculares.

O mecanismo de redução do colesterol pelos fitosteróis se dá basicamente por competição, onde os fitosteróis competem com o colesterol na entrada das micelas intestinais (PATEL; THOMPSON, 2006). Embora a absorção dos fitosteróis seja menor que a do colesterol, ainda assim, uma parte dos fitosteróis é introduzida nas micelas intestinais acarretando uma diminuição do colesterol. O colesterol que não foi absorvido pode ser expelido nas fezes, diminuindo o colesterol total em até 25% (RODRIGUES et al., 2004).

- Tocoferóis

O poder antioxidante dos tocoferóis deve-se à sua capacidade de doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais lipídicos livres, formando um hidroperóxido e um radical tocoferoxila. O radical tocoferoxila tem uma menor capacidade de propagar a peroxidação lipídica se comparado com o radical peroxila. Ao invés disso, o radical tocoferoxila reage com outro peroxila ou radical tocoferoxila, formando produtos mais estáveis (YANISHLIEVA-MASLAROVA, 2003).

Os tocoferóis também inibem a oxidação induzida pelo $^1O_2$. Neste caso, o mecanismo antioxidativo envolve doação de um elétron pelo tocoferol para o $^1O_2$, mais reativo, originando uma molécula de $^3O_2$, menos reativa (KAMAL-ELDIN; APPELQVIST, 1996).

Warner, Neff e Eller (2003) sugerem que a atividade antioxidante relativa dos tocoferóis depende de vários parâmetros como: temperatura, tipo de gordura e concentração de tocoferóis.

A atividade antioxidante dos tocoferóis decresce do composto δ- para o α-

tocoferol, assim, o δ-tocoferol é o mais efetivo antioxidante (100%), o γ- e o β-tocoferol têm atividade intermediária (50-26%) e o α-tocoferol apresenta a mais baixa atividade antioxidante (10%), porém, este é o mais abundante na natureza (HEMEDA; KLEIN, 1990; SIX, 1994).

- Compostos fenólicos

Antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de radicais livres, doando um átomo de hidrogênio a um radical lipídico, e algumas vezes como quelantes de metais. Os produtos intermediários, formados pela ação destes antioxidantes, são relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentado por estas substâncias (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992; SOARES, 2002). Além disso, os compostos fenólicos podem atuar como protetores e regeneradores de antioxidantes primários como ácido ascórbico, tocoferol e β-caroteno (KINSELLA et al., 1993).

A eficiência dos antioxidantes fenólicos é determinada pelos grupos funcionais presentes e pela posição que ocupam no anel aromático. O antioxidante com grupo etila ou butila na posição *para*, por exemplo, tem maior atividade do que o antioxidante com o grupo metila. A presença de grupos de cadeias longas ou ramificadas reduz a atividade antioxidante, devido ao impedimento estrutural (JADHAV et al., 1996).

Os flavonoides inibem a lipoperoxidação *in vitro* no estágio de iniciação atuando como sequestradores de ânions superóxidos e radicais hidroxilas. Tem sido proposto ainda, que os flavonoides bloqueiam as reações radicalares em cadeia pela doação de átomos de hidrogênio aos radicais peroxilas, formando um flavonoide-radical. Os flavonoides-radicais reagem com os radicais livres terminando, assim, a cadeia de propagação. Além das suas propriedades antioxidantes, alguns flavonoides atuam como agentes quelantes de metais e inibem a formação de radical hidroxila pela reação de Fenton e Haber Weiss, a qual é uma importante fonte de espécies reativas de oxigênio (BRAVO, 1998).

- Carotenoides

A atividade antioxidante dos carotenoides deve-se às suas habilidades de interação com radicais livres e $^1O_2$. Essa atividade depende do número de duplas ligações conjugadas presentes na molécula, sendo a máxima ação observada em

compostos com nove ou mais duplas ligações (RODRIGUEZ-AMAYA, 2002).

Testes *in vitro* e *in vivo* sugerem que os carotenoides sequestram e inativam radicais livres. Embora teoricamente todos os carotenoides com duplas ligações conjugadas possam atuar como antioxidantes, o β-caroteno tem apresentado especial ação interagindo irreversivelmente com radicais peróxidos e formando radicais β-caroteno estáveis.

A principal ação antioxidante dos carotenoides, no entanto, está relacionada à capacidade que estes compostos apresentam de absorver energia do $^1O_2$, impedindo que o mesmo transfira energia para outras moléculas e originem radicais livres. A desativação do $^1O_2$ pode se dar de duas formas, pela transferência física da energia de excitação do $^1O_2$ para o carotenóide e pela reação química do carotenoide com o $^1O_2$. Em condições normais no organismo, por exemplo, 95% da desativação do $^1O_2$ é física, restando somente 5% para reagir quimicamente, o que tornam os carotenoides antioxidantes mais efetivos (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Dentre os carotenoides com atividades pró-vitamínicas A e seus respectivos porcentuais de atividades têm-se β-caroteno, com 100%, criptoxantina, com 57%, α-caroteno, com 53%, γ-caroteno, entre 42-50% e β-zeacaroteno, entre 20-40% (GROSS, 1991).

Outra importante função dos carotenoides nos alimentos é a de corante, sendo responsáveis pela cor amarela ou avermelhada da maioria dos óleos vegetais. A habilidade dos carotenoides de absorver luz na região visível e consequentemente de apresentar cor deve-se ao sistema de duplas ligações conjugadas que serve como cromóforo. Pelo menos sete duplas ligações conjugadas são necessárias para que um carotenoide apresente coloração (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997).

- Ácidos graxos essenciais

A essencialidade de um ácido graxo depende da distância da primeira dupla ligação em relação ao grupo metila terminal. Durante a síntese de um ácido graxo, as enzimas biossintéticas humanas podem inserir duplas ligações na posição n-9 ou superior, entretanto, estas enzimas não podem inserir duplas ligações em nenhuma posição mais próxima ao grupo metila terminal. Por essa razão, ácidos graxos com duplas ligações n-6 e n-3 são considerados essenciais (JONES; KUBOW, 2003).

O ácido α-linolênico pode ser metabolizado a DHA e EPA por meio de enzimas chamadas elongase e dessaturase, que envolvem aumento no tamanho e no grau de insaturação da cadeia, respectivamente. O aumento na insaturação da cadeia é alcançado pela adição de duplas ligações entre a dupla ligação já existente e o grupo carboxílico. O ácido linoleico também é metabolizado, por processo semelhante, ao ácido araquidônico (C20:4) (CARRERO et al., 2005; MARTIN et al., 2006).

3. Funções dos compostos bioativos

Os vários grupos de compostos bioativos presentes na natureza, destacam-se em função de suas atividades antioxidantes, bem como pela prevenção de enfermidades.

- Fitosteróis

- Funções tecnológicas

Produtos enriquecidos com ésteres de fitostanóis foram comercializados pela primeira vez na Finlândia, em meados dos anos 90, seguido pela comercialização de produtos enriquecidos com ésteres tanto de fitosteróis quanto de fitostanóis em outros países da Europa (MOREAU et al., 2002).

Nos Estados Unidos, produtos enriquecidos com fitosteróis são encontrados desde 1999, dos quais os mais conhecidos são as margarinas *Benecol* e *Take Control*. As dificuldades iniciais em formular margarinas ou *spreads* com fitosteróis eram decorrentes da insolubilidade desses componentes. A esterificação dos mesmos tornou-os mais solúveis e facilitou a inclusão nas formulações em quantidades suficientes nos produtos comestíveis para serem efetivas no combate ao colesterol. Quando esterificados, os componentes podem ser solubilizados prontamente em óleos vegetais, de forma que uma quantidade adequada de fitosteróis fique disponível, sem causar problemas com a solubilidade das vitaminas (NESTEL et al., 2001).

O mercado tem se mostrado aberto à introdução de outros tipos de alimentos que contêm fitosteróis, além das margarinas. No ano de 2000, a *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou o uso terapêutico dos ésteres de esterol ou estanol vegetal na redução do risco de doenças cardiovasculares. Esta decisão

permitiu que alimentos adicionados com estas substâncias, como margarinas, cremes vegetais, molhos cremosos para salada, apresentassem a explicação de que ajudam a prevenir doença cardiovascular. Segundo a FDA (2000), esses alimentos devem conter no mínimo 1,7 g de ésteres de fitostanóis em cada porção, devendo ser administrados duas vezes ao dia, somando 3,4 g/dia.

Nos Estados Unidos (HASLER, KUNDRAT, WOOL, 2000) e na Europa (CONDO JÚNIOR et al., 2001) existem produtos comercializados contendo fitosteróis. No Brasil, no ano de 2000, o primeiro produto contendo fitosteróis registrado pela ANVISA, segundo a legislação RDC n°. 18, de 30 de abril de 1999, foi a margarina (BRASIL, 1999c). Atualmente, existem no Brasil outros produtos como, por exemplo, bebida láctea e iogurte desnatado e cremoso.

Segundo a ANVISA, a rotulagem dos alimentos que contêm ésteres de fitosterol ou fitostanol deve incluir a seguinte informação no rótulo: "... com fitosteróis". No rótulo deve conter a especificação "Fitosteróis auxiliam na redução da absorção de colesterol. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis". O rótulo também deve ser acompanhado da seguinte frase: "Porção de XX g contém 0,8 g de fitosteróis". Sendo, a recomendação diária do produto de 1 a 3 porções/dia, devendo garantir uma ingestão entre 1 a 3 g/dia de fitosteróis livres (BRASIL, 1999c).

- Funções na saúde humana

Compostos como os fitosteróis são conhecidos por seu efeito hipocolesterolêmico (FERRETTI et al., 2010), propriedades anti-inflamatórias e antitumorais (RACETTE et al., 2009). De acordo com Weber, Weitkamp e Mukherjee (2002), o consumo de alimentos que contêm fitosteróis pode evitar a necessidade de medicamentos para indivíduos com níveis moderados de colesterol sanguíneo.

Estudo realizado com 95 voluntários com níveis de colesterol normais ou moderadamente elevados, que consumiram 20 g/dia de margarina enriquecida com 3 g de fitosteróis/dia, durante três semanas, e orientados a não mudar o padrão normal de alimentação, demonstrou que após três semanas consumindo a margarina enriquecida com fitosterol, as concentrações de colesterol total e a fração de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDLc) reduziram em 8,3 e 13%, respectivamente, houve melhora na razão LDLc/HDLc, porém não houve alteração significante nos níveis da fração de colesterol de lipoproteína de alta densidade

(HDLc) (ENDRIKS, 1999).

Em estudo realizado por Lottenberg et al. (2002) foi constatado que o consumo de 20 g/dia de margarina enriquecida com fitosterol diminuiu as concentrações plasmáticas de colesterol e LDLc, enquanto que os triglicerídios e o HDLc não sofreram modificações.

Alguns fitosteróis podem ter também atividade antioxidante como o Δ-5-avenasterol, ocorrendo em altas quantidades em cereais (WANG; MOREAU; HICKS, 2002). Estudos em animais demonstraram que os fitosteróis inibem o desenvolvimento de alguns tipos de cânceres, como por exemplo, o câncer de cólon (TOIVO et al., 2000).

Segundo Amundsen et al. (2004), o consumo de 20 g/dia de margarina enriquecida com 1,76 g de fitosteróis a longo prazo apresentou eficácia na redução do LDLc na alimentação de crianças e adultos.

Estudo clínico demonstrou que a ingestão de 1,6 a 2 g/dia de fitosteróis foi capaz de reduzir a absorção do colesterol pelo intestino em 30% e os níveis sanguíneos de LDLc de 8-10%. Neste estudo foi constatado que a ingestão de até 3 g/dia de fitosteróis é segura e eficaz para se obter redução significativa da colesterolemia (MARANGONI; POLI, 2010).

Os fitosteróis são considerados seguros, pois nenhuma toxicidade foi relatada pelo seu uso em modelos animais e humanos. Além disso, nenhum efeito colateral foi relatado pelo uso dos fitosteróis na dieta (LEA; HEPBURN, 2006).

Segundo a FDA (2010), dietas com baixo teor de gordura saturada e colesterol, que incluem 2 g/dia de fitosteróis podem reduzir o risco de doenças cardíacas e fortalecimento da função imune.

- Tocoferóis

Os tocoferóis apresentam atividade antioxidante *in vivo* e *in vitro*. Nos óleos vegetais, protegem os ácidos graxos insaturados da oxidação lipídica, e no organismo humano o α-tocoferol apresenta a maior atividade biológica de vitamina E (MAGUIRE et al., 2004; SCHMIDT; POKORNÝ, 2005).

Uma das principais funções da vitamina E é proteger as membranas celulares dos danos oxidativos (ESCRIVÁ et al., 2002; WANG; QUINN, 2000). Além disso, sabe-se que a vitamina E atua na prevenção de mais de 80 enfermidades,

entre elas, doenças cardiovasculares, câncer e fortalecimento da função imune (CHING; MOHAMED, 2001; TRABER; PACKER, 1995).

Em 1922, Evans e Bishop descobriram que a vitamina E era um fator essencial para a reprodução humana. A deficiência de vitamina E é considerada rara, exceto em casos de má nutrição, dieta pobre ou má absorção (KAYDEN, 2001). De acordo com Trakur e Srivastava (1996), a deficiência de vitamina E ocorre em três estágios progressivos, primeiro há uma depressão de vitamina E, seguido de um aumento de hemólise da hemoglobina e excreção de creatina na urina, e por último, distrofia muscular. O efeito da ingestão inadequada de vitamina E normalmente requer longo período para se desenvolver, e tem-se relacionado com problemas no desenvolvimento do sistema nervoso em crianças e hemólise em adultos (SOKOL, 1996).

O valor de ingestão diária de vitamina E, no Brasil, é controlado pelo Ministério da Saúde que recomenda 2,7 mg/dia para lactentes (0 a 11 meses de idade), 5-7 mg/dia para crianças (1 a 10 anos de idade) e 10 mg/dia para adultos e gestantes, a fim de desempenhar papel preventivo no surgimento de doenças (BRASIL, 2005).

- Compostos fenólicos

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos é de interesse nutricional, uma vez que tem sido associada à potencialização de efeitos promotores da saúde humana pela prevenção de várias doenças, como doenças cardiovasculares, diabetes, envelhecimento precoce, câncer, artrite, entre outras (GIADA; MANCINI FILHO, 2006).

Os flavonoides exibem uma grande variedade de efeitos biológicos, incluindo ação antibacteriana, antiviral, anti-inflamatória, antialérgica, vasodilatadora, anti-hiperproliferativa, antidiarreica, antiúlcera, antiestrogênica e antioxidante (CHANG et al., 1993; ROSS; KASUM, 2002). Além disto, inibem, *in vitro*, a lipoperoxidação, a agregação plaquetária, a permeabilidade e a fragilidade capilar (CHANG et al., 1993). Devido, principalmente a atividade antioxidante e antitrombótica, a ingestão de flavonoides tem sido associada à diminuição no risco de mortalidade por doenças coronarianas (ROSS; KASUM, 2002).

Acredita-se que os flavonoides não apresentem toxicidade e, se após a absorção ainda permanecerem biologicamente ativos *in vivo*, podem prevenir a

citotoxicidade e lipoperoxidação mediada pelos radicais livres (HAVSTEEN, 1983; HERTOG; HOLLMAN; PUTTE VAN, 1996).

No Brasil, ainda não existe uma recomendação diária para o consumo de compostos fenólicos. Entretanto, pesquisa realizada por Vaccari, Soccol e Ide (2009) revelou que a ação antioxidante, mecanismos antiplaquetários, anti-inflamatórios e vasodilatadores são atribuídos aos compostos fenólicos do vinho. Segundo estes autores, o consumo de 300 mL de vinho tinto/dia aumentou significativamente a capacidade antioxidante do plasma sanguíneo quatro horas após sua ingestão. Além disso, o vinho tinto melhorou o balanço entre o LDLc e o HDLc, o que induz a uma melhor proteção vascular.

- Carotenoides

Alguns carotenoides são capazes de serem convertidos em vitamina A e, como tal, desempenham um importante papel nutricional. Dos mais de 600 carotenoides conhecidos, cerca de 50 são precursores da vitamina A. O β-caroteno é a pró-vitamina A mais importante, tanto em termos de atividade biológica, como pela sua larga distribuição na natureza (RODRIGUEZ-AMAYA, 2002). A vitamina A é essencial para a visão noturna, o crescimento, o desenvolvimento e manutenção do tecido epitelial, a função imunológica e a reprodução (EL BEITUNE et al., 2003; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARIO; HEREDIA, 2004b).

A transformação dos carotenoides pró-vitamínicos em vitamina A ocorre por clivagem simétrica, onde o carotenoide é dividido ao meio formando duas moléculas de retinal, no caso do β-caroteno, ou uma molécula, no caso dos demais carotenoides pró-vitamínicos A, que são posteriormente transformadas em retinol (AMBROSIO; CAMPOS; FARO, 2006).

O β-caroteno não apresenta toxicidade detectável, mesmo se ingerido em altas doses. Isso é possível pelo fato de não ser absorvido no intestino, de ter sua eficiência de absorção reduzida com o aumento da ingestão, além da taxa de conversão em vitamina A ser lenta sob o ponto de vista enzimático. No entanto, a ingestão excessiva pode causar hipercarotenose. A coloração amarela ou laranja da pele afeta as áreas onde a secreção gordurosa é mais intensa (dobras nasolabiais, testa e axilas) e nas superfícies queratinizadas, como as palmas das mãos e solas dos pés (SHILLS et al., 2003), ou ainda a baixa ingestão pode causar a hipocarotenose, onde acarreta xeroftalmia, cegueira e morte em crianças

(AMBRÓSIO, CAMPOS, FARO, 2006).

Além da função pró-vitamínica A, os carotenoides apresentam um importante papel na proteção celular contra a peroxidação lipídica, prevenindo, assim, o risco de doenças degenerativas como câncer, cardiopatias e degeneração macular. Estes compostos também estão relacionados com a redução do desenvolvimento de catarata e fortalecimento do sistema imune (BASU et al., 2001; OLSON, 1999).

O valor de ingestão diária de vitamina A, no Brasil, é controlada pelo Ministério da Saúde que recomenda 375-400 mg de retinol/dia para lactentes (0 a 11 meses de idade), 400-500 mg de retinol/dia para crianças (1 a 10 anos de idade), 600 mg de retinol/dia para adultos e 800 mg de retinol/dia para gestantes, a fim de desempenhar papel preventivo no surgimento de doenças (BRASIL, 2005).

- Ácidos graxos essenciais

Os ácidos graxos n-6 e n-3 diminuem a concentração de LDLc no sangue, sendo que os ácidos n-3 também reduzem os níveis de triglicerídios plasmáticos. Além disso, estes ácidos graxos se incorporam às membranas celulares, combinando-se com fosfolipídios, onde são precursores de eicosanóides (prostaglandinas, prostaciclinas, tromboxanos e leucotrienos), os quais interferem em inúmeros processos fisiológicos tais como a coagulação sanguínea, processos inflamatórios (asma, fibrose cística, entre outros) e imunológicos (REISMAN et al., 2006; RUBIO-RODRÍGUEZ et al., 2010).

Os ácidos graxos EPA e DHA, derivados do n-3, são fundamentais para o organismo humano, interferindo em uma série de processos fisiológicos. O DHA, por exemplo, está particularmente relacionado com o desenvolvimento e o perfeito funcionamento dos sistemas nervoso e visual, uma vez que faz parte das estruturas lipídicas do cérebro e da retina (SANHUEZA; NIETO; VALENZUELA, 2004; UAUY et al., 2001). Em adultos, os ácidos n-3 têm sido considerados eficazes na redução do risco de várias doenças, entre elas, hipertensão, doenças cardiovasculares, câncer e desordens auto-imunes (CONNOR, 2000; DAS, 2006).

Evidências indicam que um aumento no consumo de ácido linoleico juntamente com a elevada razão de consumo de n-6:n-3 é o principal fator de risco no desenvolvimento de trombose, câncer, apoplexia, alergias e outras doenças inflamatórias (MASSARO et al., 2007). Em diversos países, a ingestão média de

ácidos graxos resulta em relações n-6:n-3 de 10:1 a 20:1, ocorrendo registros de até 50:1 (SIMOPOULOS, 2004). Tem-se recomendado razões de 2:1 até 5:1 no consumo de ácidos graxos n-6:n-3, refletindo aquelas encontradas nas dietas japonesa e mediterrânea, respectivamente, onde a ocorrência de doenças cardiovasculares é historicamente baixa (AMBRING et al., 2006).

A ingestão de peixe duas ou três vezes por semana é uma recomendação dietética para toda a população, sendo que o consumo de óleo de peixe em doses de até 3 g/dia é benéfico para diabéticos, hipertensos e hipertrigliceridêmicos como tratamento coadjuvante. A quantidade de peixe que precisa ser consumida para a obtenção desta dose efetiva é bastante elevada sendo que, na prática, só é alcançada mediante o consumo de suplementos ou alimentos enriquecidos com ácidos graxos n-3 (NASIFF-HADAD; MERINO-IBARRA, 2003).

Atualmente, há incidências por produtos enriquecidos com n-3, como suplementos nutricionais ou alimentos funcionais, estes têm sido desenvolvidos para complementar a dieta e alcançar uma boa razão de n-6:n-3 (RUBIO-RODRÍGUEZ et al., 2010).

Segundo a ANVISA, a rotulagem dos alimentos que contêm n-3 deve incluir a seguinte informação: “... com ômega 3”. No rótulo também deve conter a especificação “O consumo de ácidos graxos ômega 3 auxilia na manutenção de níveis saudáveis de triglicerídios, desde que associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”. O produto para ser considerado benéfico à saúde deve apresentar no mínimo 0,1 g de EPA e/ou DHA na porção ou em 100 g ou 100 mL do produto pronto para o consumo (BRASIL, 1999c).

No Brasil, não há legislação sobre a quantidade a ser ingerida/dia de ácidos graxos essenciais. Porém, Russo (2009) recomenda a ingestão de 1 g/dia de EPA e DHA para a prevenção de doenças cardiovasculares.

4. Medidas analíticas para a determinação de compostos bioativos

Para a determinação dos compostos bioativos existem vários métodos descritos na literatura, tendo as metodologias utilizadas sofrido inúmeros aperfeiçoamentos nas últimas décadas. Inicialmente, os métodos eram mais rudimentares e baseavam-se, sobretudo, em medições espectrofotométricas, não permitindo a determinação de diferentes compostos. A utilização da cromatografia

gasosa (CG) ou cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para determinação destes bioativos é conhecida desde a década de 70.

- Fitosteróis

Como mencionado, os fitosteróis são encontrados nos alimentos na forma livre, esterificados com ácidos graxos ou com monossacarídeos. Além disso, os alimentos têm sido enriquecidos com esteróis, fitostanóis, fitosteróis na forma livre ou esterificada. Desta forma, o procedimento ideal de preparo da amostra para a determinação de fitosteróis deve incluir a análise de todos os fitosteróis. No entanto, em muitos casos, a determinação de fitosteróis é baseada na análise de fitosteróis na forma livre ao invés da forma esterificada (LAGARDA; GARCÍA-LLATAS; FARRÉ, 2006).

A determinação de fitosteróis em plantas é baseada em técnicas cromatográficas, usualmente a CG com *flame ionization detection* (FID) e espectrometria de massas para a confirmação da identidade do pico, embora a CLAE possa também ser utilizada. Tipicamente, a análise dos fitosteróis inclui: extração dos lipídios; saponificação ou hidrólise ácida para liberação dos fitosteróis; extração da matéria insaponificável; separação ou purificação dos fitosteróis por cromatografia em camada delgada (CCD) ou extração por fase sólida; formação dos fitosteróis derivatizados; análise por CG capilar.

A extração dos fitosteróis depende da natureza da matriz, do seu estado físico, sólido ou líquido, e também da forma (livre, esterificado ou glicosilado) na qual os fitosteróis se encontram no alimento. Os fitosteróis dos tecidos vegetais e sementes oleaginosas podem ser extraídos com solventes como clorofórmio:metanol, clorofórmio:metanol:água, hexano, diclorometano ou acetona (LAGARDA; GARCÍA-LLATAS; FARRÉ, 2006). O método de extração por fase sólida usando cartuchos de alumina neutra é utilizado na extração de fitosteróis livres e esterificados em óleos e gorduras (PHILLIPS et al., 2002). Os lipídios de vegetais podem ser extraídos também por extração com fluído supercrítico com CO_2, seguida de saponificação (KING et al., 1997; SYNDER et al., 1999) ou fracionamento por fluído supercrítico juntamente com etapa adicional de limpeza usando diferentes técnicas cromatográficas.

A saponificação direta da amostra é aplicada na determinação de

fitosteróis em massa (KOVACS, 1990) e em amostras contendo multicomponentes (JEKEL; VAESSEN; SCHOTHORST, 1998). Entretanto, a ligação acetila entre o esterol e o carboidrato não pode ser hidrolisada em condições alcalinas e, consequentemente, os métodos que utilizam a saponificação direta não quantificam os fitosteróis na forma glicosídica. A etapa da saponificação é trabalhosa na rotina de laboratório e a hidrólise ácida não é aplicada para os Δ-7-fitosteróis tais como Δ-7-avenasterol e Δ-7-estigmasterol, uma vez que estes fitosteróis se decompõem ou isomerizam rapidamente após a mesma (BREINHOLDER; MOSCA; LINDNER, 2002). Nos óleos vegetais refinados, os fitosteróis ocorrem na forma livre e na forma esterificada desde que os fitosteróis glicosilados, se originalmente presentes, são removidos durante o processo de refino (KOCHHAR, 1983; TOIVO et al., 2001). Como os ésteres de fitosteróis são sensíveis ao procedimento de saponificação com reagentes fortemente básicos, estes compostos, juntamente com os fitosteróis livres, são comumente isolados dos extratos lipídicos ou dos óleos vegetais por cromatografia em coluna (ABIDI, 2001).

Após a saponificação, a matéria insaponificável contendo entre outros os fitosteróis e os fitostanóis, será extraída com solventes orgânicos como éter dietílico ou heptano, seguido da evaporação do solvente. Entretanto, este procedimento consome tempo e pode haver a formação de uma emulsão dificultando a extração da matéria insaponificável. Pequenas colunas de óxido de alumínio podem ser utilizadas em substituição à extração evitando a formação de emulsão e diminuindo o tempo de análise.

O método oficial da *American Oil Chemists' Society* (AOCS) (FIRESTONE, 2004) para quantificar fitosteróis em óleos vegetais é realizado em duas etapas cromatográficas: a primeira etapa é preparativa usando CCD e a segunda é quantitativa usando cromatógrafo gasoso com FID e coluna capilar de 25 m x 0,2-0,5 mm diâmetro interno, revestida com metilpolisiloxano.

Atualmente, a grande maioria dos trabalhos utiliza colunas capilares de 25 a 30 m com fase estacionária polar (5% de fenil e 95% de metilpolisiloxano ou polietilenoglicol) ou apolar (ciclohexano) para a análise de fitosteróis (BANDEIRA et al., 2008; HAN; YANG; FENG, 2008; KALOGEROPOULOS et al., 2010).

Embora a maioria dos trabalhos encontrados atualmente na literatura para

quantificar os fitosteróis utiliza a CG, algumas pesquisas trabalham com CLAE tanto para análise qualitativa como quantitativa, uma vez que a mesma apresenta algumas vantagens como, por exemplo, as análises serem realizadas a temperaturas relativamente baixas, evitando possível oxidação dos fitosteróis e também a eliminação da etapa da derivatização, deixando o método mais rápido e preciso. Colunas de fase normal e reversa são utilizadas para a separação dos fitosteróis por CLAE e entre estas, as C18 são as preferidas. Como fase móvel, solventes orgânicos tais como metanol e acetonitrila ou suas soluções aquosas são os mais utilizados. A detecção dos fitosteróis pode ser realizada por UV (200-210 nm), índice de refração, ressonância magnética nuclear e espectrometria de massa (CAÑABATE-DÍAZ et al., 2007; ROCCO, FANALI, 2009).

A quantificação normalmente é feita por padronização interna utilizando como padrão interno o β-colestanol, com uso de curvas de padronização, independente do tipo de coluna ou detector usado (COSTA et al., 2010; LI; BEVERIDGE; DROVER, 2007; SIVAKUMAR et al., 2006; WINKLER; WARNER, 2008).

- Tocoferóis

A ocorrência natural de certos compostos em quantidades muito reduzidas faz com que seja necessário o uso de recursos e procedimentos analíticos sofisticados para concentração da amostra, obtenção de resolução eficiente e detecção com sensibilidade dessas substâncias (ABIDI, 2000).

Diversos métodos químicos têm sido aplicados, pela facilidade e rapidez. Neles, a extração pode ser direta com uso de solvente orgânico, com ou sem aquecimento, em extrator Soxhlet (BALL, 1988), ou com a saponificação da amostra. A extração direta normalmente envolve duas etapas. A primeira consiste na dissolução da amostra em um solvente miscível com água como álcool ou acetona, onde podem ser eliminadas, por exemplo, proteínas por precipitação. A segunda etapa emprega solvente orgânico na partição, onde é extraída a vitamina E junto com os triacilgliceróis, fosfolipídios, esteroides e outras vitaminas lipossolúveis. Os solventes orgânicos mais utilizados são hexano, éter de petróleo e éter etílico, sendo que dentre estes o mais empregado é o éter etílico por ser mais polar e menos propenso a formar emulsão, embora apresente a desvantagem de extrair mais interferentes (BOURGEOIS, 1992; RUPÉREZ et al., 2001).

A saponificação pode ocorrer com o uso de aquecimento da amostra com um álcali forte, normalmente com solução metanólica, ou etanólica, ou mesmo aquosa de hidróxido de potássio entre 50-60%, com a finalidade de hidrolisar triacilgliceróis, fosfolipídios e outros ésteres de lipídios a ácidos graxos mais hidrofílicos e alcoóis que são mantidos na fase aquosa durante a partição. A diminuição de lipídios na amostra aumenta a eficiência da coluna e a seletividade do detector (PARRISH, 1980). Diversos antioxidantes são utilizados durante a saponificação para proteger a vitamina como: ácido ascórbico, pirogalol, hidroquinona, BHA e BHT, e misturas de ácido ascórbico e ácido cítrico, sendo o ácido cítrico usado como agente quelante para íons metálicos (BOURGEOIS, 1992). Após a saponificação, a extração pode ocorrer por partição líquido/líquido, com uso de solventes como éter de petróleo, n-hexano ou éter etílico.

Os métodos espectrofotométricos de determinação direta dos tocoferóis no UV (297-298 nm) apresentam uso limitado em virtude dos baixos valores de absortividade e da possível presença de substâncias interferentes, sendo, portanto, aplicáveis em amostras puras e concentradas. Os métodos colorimétricos baseiam-se em reações de oxi-redução onde os tocoferóis são oxidados a tocoferol quinona, em meio ácido. O processo mais utilizado se baseia na reação de Emmerie e Engel, onde os tocoferóis reduzem quantitativamente os íons férricos a íons ferrosos, formando um complexo vermelho com máximo de absorção a 520 nm. A reação não é específica, podendo ocorrer a redução dos íons férricos com outras substâncias como carotenoides, vitamina A e esteróis.

O método espectrofluorimétrico pode ser utilizado para os tocoferóis livres, visto apresentarem fluorescência com máximo de excitação a 295 nm e emissão a 340 nm (BOURGEOIS, 1992). Já as formas esterificadas não apresentam essa propriedade, o que torna necessário a etapa de saponificação. No entanto, a vitamina A quando presente pode agir como sequestrador de fluorescência e traços de hidrocarbonetos clorados podem desaparecer com esta por completo.

Técnicas cromatográficas como CCD e cromatografia por adsorção sólido-líquido em coluna (CASLC) empregam aparatos menos caros e instrumentos poucos precisos e, portanto, são utilizadas para limpeza de extrato, purificação e testes qualitativos (ABIDI, 2000; AMES, 1971).

A CG na década de 60 começou a ser empregada na análise de tocoferóis e desenvolveu-se rápido nos anos seguintes (OSTERLÖF; NYHEIM, 1980; SCOTT;

COHEN; RIGGIO, 1982). No entanto, requer derivação a compostos voláteis como os ésteres trimetilsilil acetato, propionato e trifluoroacetato, fazendo com que as amostras passem por etapas pré-cromatográficas muito trabalhosas. Métodos com uso de colunas capilares são capazes de resolver os homólogos β- e γ-tocoferol e tocotrienol, e separam substâncias interferentes como o colesterol (ABIDI, 2000), e o detector utilizado é o de ionização de chama (CUNIFF, 1998; PARRISH, 1980), podendo ser utilizado também o detector espectrômetro de massa para análise quantitativa (MELCHERT; PABEL, 2000).

Com o surgimento da CLAE esta foi rapidamente substituindo as outras técnicas cromatográficas. A CLAE desempenha um papel muito importante na separação e quantificação dos tocoferóis em uma ampla variedade de produtos. A CLAE tem superado a CG em virtude da grande flexibilidade e aplicabilidade a diferentes matrizes de amostras como produtos farmacêuticos, alimentos, fluídos e tecidos biológicos e tabletes multi-vitamínicos (LEENHEER; LAMBERT; NETIS 1992).

Em relação à coluna cromatográfica, a fase reversa é preferida pela excelente reprodução do tempo de retenção, rápido equilíbrio e robustez, além de permitir melhores ajustes para a separação dos interferentes. Na fase reversa, os tocotrienóis são eluídos como um grupo antes dos tocoferóis. Quanto aos tocoferóis, o δ-tocoferol é eluído primeiro, seguido pelos dimetil substituídos β- e γ-tocoferol que são muito difíceis de serem separados e por último o α-tocoferol (AKE et al., 1998; GIMENO et al., 2000; LAVEDRINE et al., 1997; SOBCZAK; SKOP; KULA, 1999). Tem sido reportada a separação dos homólogos β- e γ-tocoferol em coluna de fase reversa C18 (SCHIEBER; MARX; CARLE, 2002), pentafluorofenil (PFPS) e octadecil polivinil álcool (ODPVA) (KAMAL-ELDIN et al., 2000).

Para colunas de fase reversa, a fase móvel mais empregada é basicamente metanol puro ou misturas de metanol:água contendo até 10% de água (DELGADO-ZAMARREÑO et al., 2006; SÁNCHEZ-PÉREZ et al., 2000). Alguns analistas trabalham com misturas de água:acetonitrila:metanol em várias proporções (GIMENO et al., 2000; KUHN et al., 2008; KURILICH; JUVIK, 1999).

As colunas de fase normal são capazes de separar os isômeros β- e γ-tocoferol e tocotrienóis e apresentam como vantagens a habilidade de trabalharem com solventes orgânicos permitindo uma alta solubilidade de lipídios, suportarem

alta concentração de lipídios, os quais são facilmente eliminados por solventes não polares, e habilidade de proverem ampla faixa de seletividade com o uso de diferentes modificadores polares na fase móvel.

O detector mais utilizado nas determinações de tocoferóis e tocotrienóis é o de fluorescência em virtude da sua maior especificidade (BRUNI et al., 2002; EL-SHAMI; EL-NEGOUMY, 1993; KAMAL-ELDIN et al., 2000; SPEEK; SCHRIJVER; SCHREURS, 1985; YAO; DULL; EITENMILLER, 1992), embora existem autores que utilizam o detector de UV para a detecção de vitamina E em produtos como óleos, leite e produtos lácteos, carnes, noz, ração, sementes e bebidas (ANWAR et al., 2008; BRUNI et al., 2002; GIMENO et al., 2000; LAVEDRINE et al., 1997; SCHIEBER; MARX; CARLE, 2002).

A quantificação normalmente é feita por padronização externa com uso de curvas de padronização, independente do tipo de coluna ou detector usado, em vários tipos de matrizes, desde alimentos processados ou não, óleos, sementes ou mesmo tecidos e fluídos biológicos (ANWAR et al., 2008; AKE et al., 1998; BRUNI et al., 2002; GIMENO et al., 2000; GUINAZI et al., 2009; SPEEK; SCHRIJVER; SCHREURS, 1985). Segundo Bourgeois (1992) e Rupérez et al. (2001), a quantificação pode ser feita também por padronização interna com 5,7 dimetiltocol e tocol (cromanol desmetilado) obtido dos tocoferóis ou o α-tocoferol acetato em cromatografia em coluna de fase reversa e o hidroxibifenil em coluna de fase normal.

- Compostos fenólicos

Diversos pesquisadores têm trabalhado na separação, identificação, quantificação e aplicação dos compostos fenólicos em alimentos, enfrentando muitos problemas metodológicos, pois, além de englobarem uma gama enorme de substâncias, são, na maioria das vezes, de grande polaridade, muito reativos e susceptíveis à ação de enzimas (KING; YOUNG, 1999).

Os métodos empregados em análises de compostos fenólicos podem ser classificados em determinação de compostos fenólicos totais, quantificação individual e/ou de um grupo ou classe de compostos fenólicos (MOURE et al., 2001). A análise de compostos fenólicos é influenciada pela natureza do composto, o método de extração empregado, o tamanho da amostra, o tempo e as condições de estocagem, o padrão utilizado e a presença de interferentes tais como ceras,

gorduras, terpenos e clorofilas (SHAHIDI; NACZK, 1995).

Ainda não se desenvolveu um método satisfatório para a extração de todos ou de uma classe específica de fenólicos presentes nos alimentos. A solubilidade dos fenólicos varia de acordo com a polaridade do solvente utilizado, o grau de polimerização dos fenólicos e suas interações com outros constituintes dos alimentos. Os solventes mais utilizados para a extração destes compostos são metanol, etanol, acetona, água, acetato de etila, propanol, dimetilformaldeído e suas combinações (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Vários métodos espectrofotométricos para quantificação de compostos fenólicos em alimentos têm sido desenvolvidos. Esses métodos são baseados em diferentes princípios e são usados para quantificar fenólicos totais (PRICE; BUTLER, 1977; SWAIN; HILLIS, 1959), determinar um composto fenólico específico (BURNS, 1971) ou uma classe de fenólicos (BRUNE; HALLBERG; SKANBERG, 1991; PRICE; VAN SCOYOC; BUTLER, 1978).

O método de Folin-Denis é o mais utilizado para a determinação de fenólicos totais em vegetais. Este método, descrito por Swain e Hillls (1959), baseia-se na redução do ácido fosfomolíbdico-fosfotúngstico pelas hidroxilas fenólicas, produzindo um complexo de coloração azul que absorve entre 620 e 740 nm com um comprimento de onda máximo em 725 nm. A reação ocorre em meio alcalino e a solução saturada de carbonato de sódio é a base mais indicada. O método de Folin-Denis, no entanto, não é um método específico, pois determina todos os fenólicos presentes, além de substâncias redutoras adicionadas aos alimentos ou naturalmente presentes que podem interferir nos resultados.

Um aspecto importante a ser considerado neste método é a escolha do padrão. Os mais utilizados têm sido o tanino e a catequina, entretanto, estes compostos apresentam reatividades diferentes frente ao reagente de Folin-Denis. Muitas vezes, o reagente de Folin-Denis é substituído pelo de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). Este último é mais sensível à redução pelos fenóis e diminui a tendência à precipitação. As principais diferenças entre estes dois reagentes é o uso de sulfato de lítio, a presença de ácido clorídrico e o longo tempo de aquecimento para a preparação do reagente de Folin-Ciocalteu (MAXSON; ROONEY, 1972).

Para ambos os testes, o número de grupos hidroxilas ou de grupos potencialmente oxidáveis controla a quantidade de cor formada. O grupo fenólico

deve estar na forma de fenolato para os ânions molibdo e tungstofosfato produzirem a oxidação. As moléculas reduzidas são azuis e as não reduzidas são amarelas. Estas últimas se decompõem vagarosamente em pH alcalino, o qual é necessário para a manutenção do fenol na forma de fenolato (SHAHIDI; NACZK, 1995).

Este método espectrofotométrico, independente do tipo de reagente utilizado, Folin-Denis ou Folin-Ciocalteu, não é um método específico, pois detecta todos os grupos fenólicos presentes no extrato, incluindo aquelas proteínas extraíveis. Outra desvantagem é a interferência de reduzir substâncias como ácido ascórbico (NACZK; SHAHIDI, 2004).

A CG e a CLAE são técnicas usadas tanto na separação quanto na quantificação de compostos fenólicos. A elucidação de estruturas tem sido realizada através da combinação de CG e CLAE com a espectrometria de massa, além de outras técnicas relevantes (SHAHIDI; NACZK, 1995).

Diversas técnicas de CG têm sido empregadas na separação e quantificação de ácidos fenólicos (DABROWSKI; SOSULSKI, 1984; KRYGIER; SOSULSKI; HOGGE, 1982), isoflavonas (LIGGINS; BLUCK; COWARD, 1998), aldeídos fenólicos (FRIEDMAN; KOZUKUE; HARDEN, 2000) e monômeros de taninos condensados (HEMES; HEDGES, 2000). Inovações na CG como colunas de alta temperatura, controladores de pressão e detectores eletrônicos melhoraram significativamente a resolução e também têm aumentado o alcance de substâncias de alto peso molecular que podem ser analisadas por CG. A preparação de amostras pode incluir a remoção de lipídios do extrato, liberação de fenólicos de éster e glicosídio titulados por álcali (DABROWSKI; SOSULSKI, 1984; KRYGIER; SOSULSKI; HOGGE, 1982), ácidos e hidrólises enzimáticas (LIGGINS; BLUCK; COWARD, 1998).

As técnicas de CLAE são extensamente usadas tanto na separação quanto na quantificação de combinações fenólicas. Várias fases móveis estão disponíveis para a análise de antocianinas, procianidinas, flavononas e flavonois, flavonas e ácidos fenólicos (GÓMEZ-ALFONSO; SALVADOR; FREGAPANE, 2002; SENTER; ROBERTSON; MEREDITH, 1989). A introdução de colunas de fase reversa na CLAE tem consideravelmente realçado a separação de diferentes classes de combinações fenólicas (SILVA et al., 1990; TARNAWSKI et al., 2006).

Em uvas, vinhos e sucos a análise dos compostos fenólicos individuais é comumente realizada por CLAE (LAMUELA-RAVENTÓS et al., 1995; OSZMIANSKI; LEE, 1990). A CLAE com detector de arranjo de diodos (DAD) tem sido

satisfatoriamente aplicada na detecção, identificação e quantificação de flavonoides e não flavonoides em vinho (WOODRING; EDWARDS; CHISHOLM, 1990). De acordo com Chaviari, Concialini e Galletti (1988), o DAD é uma alternativa útil em relação à detecção UV, pois é mais seletivo. Alto desempenho da CLAE em combinação com a espectrometria de massa tem sido comumente utilizado para caracterização estrutural de fenólicos.

Outras técnicas cromatográficas tais como a cromatografia em papel (CP) e CCD são bastante utilizadas na purificação e isolamento de antocianinas, flavonóis e ácidos fenólicos em alimentos (MAZZA, 1986; SCHMIDTLEIN; HERRMANN, 1975; SCHULZ; HERRMANN, 1980).

A quantificação normalmente é feita por padrão externo com uso de curvas de padronização, independente do tipo de coluna ou detector usado (SAAD, 2007; TUBEROSO et al., 2007).

- Carotenoides

O método de extração mais comumente utilizado é com solventes. Devido à estrutura complexa e a diversidade desses compostos encontrados em amostras vegetais, não há um protocolo único para extraí-los (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA, 2004). Uma vez que os carotenoides são pigmentos lipossolúveis não saponificáveis, é comum realizar uma etapa de saponificação para remover os lipídios que possam interferir nos procedimentos de extração com solventes apolares. A saponificação é feita utilizando-se uma solução alcalina, como hidróxido de potássio, em solvente polar, como metanol ou etanol, de onde os carotenoides são posteriormente extraídos (MARINOVA; RIBAVORA, 2007).

Diversos solventes ou misturas de solventes, como tetrahidrofurano, metanol:tetrahidrofurano (1:1, v/v), acetona, éter de petróleo:acetona (1:1, v/v), hexano:acetona (1:1, v/v) têm sido empregados na extração de carotenoides em diferentes amostras (KIMURA et al., 2007; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARIO; HEREDIA, 2007; OLIVER; PALOU, 2000; QUIRÓS; COSTA, 2006; RODRIGUEZ-AMAYA, 2010; SU; ROWLEY; BALAZS, 2002).

Os métodos mais utilizados para separação e quantificação de carotenoides envolvem a CLAE com coluna de fase reversa, pois este tipo de coluna é mais preferida do que a de fase normal, utilizando eluição isocrática ou em gradiente. O detector pode ser o ultravioleta/visível (UV/Vis) ou o DAD (CHANWITHEESUK;

TEERAWUTGULRAG; RAKARIYATAM, 2005; KIOKIAS; OREOPOULOU, 2006; RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA, 2004). Quando o DAD não é suficiente, em virtude de interferências espectrais, a espectrometria de massa acoplada à cromatografia pode ser utilizada com sucesso (SIKORA et al., 2008).

A quantificação de carotenoides normalmente é feita por comparações de áreas relacionadas a concentrações conhecidas, com os padrões de referências. A quantificação também pode ser obtida por padronização externa, utilizando curvas de padronização, independente do tipo de coluna ou detector utilizado (HU et al., 2008; KURZ; CARLE; SCHIEBER, 2008; MCINERNEY et al., 2007; RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA, 2004).

- Ácidos graxos essenciais

A análise de ácidos graxos pode ser realizada por técnicas cromatográficas como: CCD, CLAE e por CG. A técnica de CCD tem sido muito utilizada para análise de ácidos graxos após o fracionamento das classes lipídicas. A análise de ácidos graxos por CLAE também tem sido descrita, no entanto, pode apresentar co-eluição de picos para misturas muito complexas (AVELDANO; HORROCKS, 1983; SANCHES-SILVA et al., 2004).

O método mais comumente empregado para a determinação de ácidos graxos é a CG com detecção por FID. Entretanto, para a identificação dos ácidos graxos duas etapas são fundamentais: a etapa de derivatização, por se tratarem de compostos com elevado ponto de ebulição é necessária a preparação dos ésteres metílicos de ácidos graxos e a análise cromatográfica propriamente dita (LIMA; ABDALLA, 2002; SHANTA; NAPOLITANO, 1992).

Dependendo do método de análise utilizado, diferentes formas de derivatização podem ser utilizadas. Os métodos de derivatização mais comuns usados para análise de ácidos graxos envolvem a transesterificação dos acilgliceróis e a esterificação dos ácidos graxos livres a ésteres metílicos de ácidos graxos. Este processo de conversão também pode ser chamado de metilação (BRONDZ, 2002; MEIER et al., 2006; SHANTA; NAPOLITANO, 1992).

O termo transesterificação é utilizado na literatura quando o método envolve uma catálise ácida ou básica, pois há uma dupla troca de acilgliceróis em ésteres de ácidos graxos (éster-éster) (FILIP; ZAJIC; SMIDRKAL, 1992).

Os reagentes mais comuns usados para transesterificação de acilgliceróis

empregando catálise básica são hidróxido de sódio ou potássio em metanol e metóxido de sódio em metanol (CETINKAYA; KARAOSMANOGLU, 2004). Os métodos de transesterificação empregando estes reagentes são rápidos e podem ser realizados à temperatura ambiente, em um intervalo curto de tempo. Uma desvantagem, porém, é que estes reagentes não convertem ácidos graxos livres em ésteres metílicos de ácidos graxos devido à reação de saponificação (BANNON et al., 1982; GUTNIKOV, 1995). Logo, sua aplicação se torna limitada quando o óleo a ser transesterificado apresentar alta acidez.

Dentro dos métodos envolvendo catálise ácida, os reagentes mais empregados são trifluoreto de boro em metanol, ácido clorídrico em metanol e ácido sulfúrico em metanol. Segundo Metcalfe e Wang (1981), estes reagentes são utilizados, tanto para transesterificação de acilgliceróis como para esterificação de ácidos graxos livres. Na literatura existe uma variedade de metodologias envolvendo estes reagentes, em procedimentos utilizando uma única etapa, como também procedimentos em duas etapas (descritos como etapa de saponificação seguido de esterificação) e o uso de aquecimento. De acordo com o artigo de revisão de Aued-Pimentel e Zenebon (2009), cada metodologia possui vantagens e limitações, dependendo das características dos óleos e/ou gorduras a serem analisados.

A separação dos ésteres metílicos de ácidos graxos pode ser realizada em três diferentes tipos de coluna, com fase estacionária apolar, polar e muito polar, sendo mais utilizadas as colunas de alta polaridade (quimicamente ligadas) devido à maior resistência mecânica da fase estacionária e maior estabilidade térmica, resultando no aumento do tempo de vida útil da coluna.

Em CG, as primeiras análises dos ésteres metílicos de ácidos graxos foram realizadas usando colunas empacotadas com 1 a 3 m e diâmetro de 2-4 mm, sendo característico haver perdas de componentes com o aumento do número de carbono e insaturação (TVRZICKÁ et al*.,* 2002). Essas colunas foram substituídas por colunas capilares por serem mais eficientes e promoverem resultados mais precisos devido a melhor resolução (FREEDMAN; KWOLEK; PRYDE, 1986).

Contudo, hoje são utilizadas colunas capilares de 50 a 100 m de comprimento para que o número de pratos teóricos seja suficiente para promover resolução cromatográfica adequada para separar misturas complexas de ésteres metílicos de ácidos graxos, permitindo a aplicação da técnica analítica em análises de rotina em laboratórios de cromatografia (TSUZUKI; MATSUOKA; USHIDA, 2010;

VÁSQUEZ-OCMÍN et al., 2010).

A CG permite a identificação dos componentes da amostra pela comparação dos tempos de retenção dos compostos com aqueles obtidos através da injeção de padrões contendo as substâncias a serem analisadas. No entanto, este procedimento não é conclusivo, pois componentes diferentes podem ter o mesmo tempo de retenção.

Na análise por CG com FID, o método da normalização é muito utilizado, porém, apresenta limitações como necessidade de eluição e detecção de todos os componentes injetados, o que nem sempre ocorre devido à discriminação ou retenção irreversível de algum componente e a consideração de que a resposta do detector é a mesma para todos os componentes; o que não acontece, pois o detector de ionização de chama apresenta resposta diferencial (ALBERTYN et al., 1982).

O uso de adição de um padrão interno tem sido empregado na análise de ácidos graxos, pois possibilita expressar os resultados em massa. Este método é menos sensível a erros, uma vez que o padrão interno e a amostra são injetados juntos e, através da utilização de fatores de correção é possível expressar os resultados em massa de ácidos graxos e não de ésteres metílicos de ácidos graxos (SCHREINER, 2005; VISENTAINER; FRANCO, 2006). O padrão interno a ser empregado na quantificação dos ácidos graxos deve apresentar alguns requisitos básicos como: não estar presente na amostra, ter alto grau de pureza, estabilidade, ser acessível, de baixo custo, eluir separadamente e próximo dos componentes da amostra (BRONDZ, 2002; EDER, 1995).

5. Considerações finais

Durante a última década, tem-se notado um interesse crescente no estudo dos compostos bioativos e da sua composição em diversos alimentos, devido às suas propriedades benéficas.

Nesta revisão procurou-se enfatizar a possibilidade de muitos vegetais *in natura* serem fontes desses compostos. De fato, o consumidor interessa-se cada vez mais por conhecer os alimentos que utiliza e há uma crescente demanda por produtos que contenham em sua composição constituintes considerados potencialmente benéficos para a saúde. Desta forma, tem-se um campo com

enorme potencial econômico que as indústrias alimentares devem explorar cada vez mais para o desenvolvimento de novos produtos apoiados em estudos científicos.

6. Referências bibliográficas

ABIDI, S. L. Chromatographic analysis of plant sterols in foods and vegetable oils. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 935, n. 1-2, p. 173-201, 2001.

ABIDI, S. L. Chromatographic analysis of tocol-derived lipid antioxidants. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 881, n. 1, p. 197-216, 2000.

AKE, M. et al. Column liquid chromatography determination of vitamins A and E in powdered milk and local flour: a validation procedure. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 826, n. 2, p. 183-189, 1998.

ALASALVAR, C. et al. Lipid characteristics and essential minerals of native Turkish hazelnut varieties (Corylus avellana L.). **Food Chemistry**, London, v. 113, n. 4, p., 919-925, 2009.

ALBERTYN, D. E. et al. Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability: I optimization of flame ionization detectors with respect to linearity. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 247, n. 1, p. 47-61, 1982.

AMBRING, A. et al. Mediterranean-inspired diet lowers the ratio of serum phospholipids n-6 to n-3 fatty acids, the number of leukocytes and platelets and vascular endothelial growth factor in healthy subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 83, n. 3, p. 575-581, 2006.

AMBROSIO, C. L. B.; CAMPOS, F. A. C. F.; FARO, Z. P. Carotenoides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 233-243, 2006.

AMES, S. R. Determination of vitamin E in foods and feeds – a collaborative study. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Washington, v. 54, n. 1, p. 1-12, 1971.

AMUNDSEN, A. L. et al. Long-term compliance and changes in plasma lipids, plant sterols and carotenoids in children and parents with FH consuming plant sterol ester-enriched spread. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 58, n. 12, p. 1612-1620, 2004.

ANWAR, F. et al. Physico-chemical characteristics of citrus seeds and seed oils from Pakistan. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 85, n. 4, p. 321-330, 2008.

ARIFFIN, A. A. et al. Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil. **Food Chemistry**, London, v. 114, n. 2, p. 561-564, 2009.

AUED-PIMENTEL, S.; ZENEBON, O. Lipídios totais e ácidos graxos na informação nutricional do rótulo dos alimentos embalados: aspectos sobre legislação e quantificação. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 68, n. 2, p. 167-181, 2009.

AVELDANO, M. I.; HORROCKS, L. A., Quantitative release of fatty acids from lipids by a simple hydrolysis procedure. **Journal of Lipid Research**, Bethesda, v. 24, p. 1101-1105, 1983.

BALL, G. F. M. Applications of HPLC to the determination of fat-soluble vitamins in foods and animal feeds – a review 1977-87, **Journal Micron Ana**, [S.I.], v. 4, p. 255-283, 1988.

BANDEIRA, C. M. et al. Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de colesterol em ração para ruminantes através de planejamento experimental fatorial. **Química Nova**, São Paulo, v.31, n. 6, p. 1422-1426, 2008.

BANNON, C. D. et al. Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability. II. Methylation of fats and oils with boron trifluoride methanol. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 247, n. 1, p. 63-69, 1982.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre gerações de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BASU, H. et al. Nutritional and potential disease prevention properties of carotenoids. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 78, n. 7, p. 665-675, 2001.

BOURGEOIS, C. **Determination of vitamin E**: tocopherols and tocotrienols. London: Elsevier Science Publishers Ltd, 1992. 162 p.

BOZAN, B.; TEMELLI, F. Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, n. 14, p. 6354-6359, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n°. 269, de 22 de setembro de 2005. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 23 de setembro de 2005. Aprova o **Regulamento técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais**. Brasília, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução DRL n°. 16, de 30 de abril de 1999. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 03 de maio de 1999. Aprova o **Regulamento técnico de procedimentos para registro de alimentos e ou novos ingredientes**. Brasília, 1999a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução DRL n°. 17, de 30 de abril de 1999. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 03 de maio de 1999. Aprova o **Regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para avaliação de risco e segurança dos alimentos**. Brasília, 1999b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n°. 18, de 30 de abril de 1999. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 03 de maio de 1999. Aprova o **Regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos**. Brasília, 1999c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n°. 19, de 30 de abril de 1999. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 03 de maio de 1999. Aprova o **Regulamento técnico de procedimentos para registro**

de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. Brasília, 1999d.

BRAVO L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance**. Nutrition Reviews,** New York, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

BREINHOLDER, P.; MOSCA, L.; LINDNER, W. Concept of sequential analysis of free and conjugated phytosterols in different plant matrices. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 777, n. 1-2, p. 67-82, 2002.

BRONDZ, I. Development of fatty acid analysis by high-performance liquid chromatography, gas chromatography, and related techniques. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 465, 1-2, p. 1-37, 2002.

BRUNE, M.; HALLBERG, L.; SKANBERG, A. B. Determination of ironbinding phenolic groups in foods. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 1, p. 128-130, 1991.

BRUNI, R. et al. Tocopherol, fatty acids and sterol distributions in wild 60 Ecuadorian *Theobroma subincanum* (Sterculiaceae) seeds. **Food Chemistry**, London, v. 77, n. 3, p. 337-341, 2002.

BURNS, R. E. et al. Relationship among antioxidant activity, vasodilatation capacity, and phenolics content of red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 2, p. 220-230, 2000.

BURNS, R. E. Method for estimation of tannin in grain sorghum. **Agronomy Journal**, Madison, v. 63, p. 511-512, 1971.

CALLAWAY, J. C. Hempseed as a nutritional resource: an overview. **Euphytica**, Wageningen, v. 140, n. 1-2, p. 65-72, 2004.

CAÑABATE-DÍAZ, B. et al. Separation and determination of sterols in olive oil by HPLC-MS. **Food Chemistry**, London, v. 102, n. 3, p. 593-598, 2007.

CARRERO, J. J. et al. Efectos cardiovasculares de los acidos grasos omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta. **Nutrición Hospitalaria**, Madrid, v. 20, n. 1, p. 63-69, 2005.

CERT, A., MOREDA, W., PÉREZ-CAMINO, M. C. Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 881, n. 1-2, p. 131-148, 2000.

CETINKAYA, M.; KARAOSMANOGLU, F. Optimization of base-catalysed transesterification reaction of used cooking oil. **Energy & Fuels**, Washington, v. 18, n. 6, p. 1888-1895, 2004.

CHANG, W. S. et al. Inhibitory effects of flavonoids on xanthine oxidase. **Anticancer Research**, Kapandriti, v. 13, p. 2165-2170, 1993.

CHANWITHEESUK, A.; TEERAWUTGULRAG, A.; RAKARIYATAM, N. Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. **Food Chemistry**, London, v. 92, n. 3, p. 491-497, 2005.

CHAVIARI, G.; CONCIALINI, V.; GALLETTI, G. C. Electrochemical detection in the high performance liquid chromatographic analysis of plant phenolics. **Analyst**, London, v. 113, n. 1, p. 91-94, 1988.

CHING, L. S.; MOHAMED, S. Alpha-tocopherol content in 62 edible tropical plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 6, p. 3101-3105, 2001.

CICERALE, S. et al. Chemistry and health of olive oil phenolics. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 49, n. 3, p. 218-236, 2009.

CLAYTON, P. T.; WHITFIELD, P.; IYER, K. The role of phytosterols in the pathogenesis of liver complications of pediatric parenteral nutrition. **Nutrition**, New York, v. 14, n. 1, p. 158-164, 1998.

COIMBRA, M. C.; JORGE, N. Fatty acids and bioactive compounds of the pulps and kernels of Brazilian palm species, guariroba (*Syagrus olerace*s), jeriva (*Syagrus romanzoffiana*) and macauba (*Acrocomia aculeata*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 92, n. 3, p. 679-684, 2011.

CONDO JÚNIOR, A. M. et al. Improved method for the synthesis of trans-feruloyl-β-sitostanol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 10, p. 4961-4964, 2001.

CONNOR, W. E. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 71, n. 1, p. 171S-175S, 2000.

COSTA, P. A. et al. Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits. **Food Research International**, Barking, v. 43, n. 6, p. 1603-1606, 2010.

CUNNIFF, P. **Official Methods of Analysis of AOAC Internacional**, 6th ed. Maryland, 1998.

DABROWSKI, J. K.; SOSULSKI, F. W. Quantitation of free and hydrolyzable phenolic acids in seeds by capillary gas-liquid chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 32, n. 1, p. 123-127, 1984.

DAY, L. et al. Incorporation of functional ingredients into foods. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 20, n. 9, p. 388-395, 2009.

DELGADO-ZAMARREÑO, M. M. et al. Off-line coupling of pressurized liquid extraction and LC/ED for the determination of retinyl acetate and tocopherols in infant formulas. **Talanta**, London, v. 70, n. 5, p. 1094-1099, 2006.

EDER, K. Gas chromatography analysis of fatty acid methyl esters. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 671, n. 1-2, p. 113-131, 1995.

EL BEITUNE, P. et al. Deficiencia da vitamina A e associações clínicas: revisão. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 53, n. 4, p. 355-363, 2003.

EL-SHAMI, S. M.; EL-NEGOUMY, S. I. Tocopherols and flavonoids of SOS-7 halophyte. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 44, n. 4-5, p. 249-252, 1993.

ENDRIKS, H. F. J. Spreads enriched with three different levels of vegetable oil sterols and the degree of cholesterol lowering in normocholesterolemic and midly hypercholesterolemic subjects. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 53, n. 4, p. 319-327, 1999.

ESCRIVÁ, A. et al. Determination of liposoluble vitamins in cooked meals, milk and milk products by liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**,

Amsterdam, v. 947, n. 2, p. 313-318, 2002.

ETTINGER, S. Macronutrientes: carboidratos, proteínas e lipídes. In: MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. (Eds.). **Alimentos, nutrição & dietoterapia.** 11. ed. São Paulo: Roca; 2005. p. 35-71.

EVANS, H. M.; BISHOP, K. S. On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. **Science**, [S.I.], v. 56, n. 1458, p. 650-651, 1922.

FDA. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. 21 CFR Part 101: **Food labeling health claim; phytosterols and risk of coronary heart disease; proposed rule**. Federal Register, v. 75, n. 235, p. 76526-76571, 2010.

FDA. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. 21 CFR Part 101: **Food labeling health claims; plant sterol/stanol esters and coronary heart disease, interim final rule**. Federal Register, v. 65, p. 54686-54739, 2000.

FERRARI, R. A. Componentes minoritarios de oleos vegetais. **Óleos & Grãos**, São Caetano do Sul, v. 9, n. 58, p. 20-28, 2001.

FERRETTI, G. et al. Effect of phytosterols on copper lipid peroxidation of human lowdensity lipoproteins. **Nutrition**, New York, v. 26, n. 3, p. 296-304, 2010.

FILIP, V.; ZAJIC, J.; SMIDRKAL, J. Methanolysis of rapeseed oil triglycerides. **Revue Francaise des Corps Gras**, Paris, v. 39, n. 3-4, p. 91-94, 1992.

FIRESTONE, D. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. 5th ed. Champaign: AOCS, 2004.

FREEDMAN, B.; KWOLEK, W. F.; PRYDE, E. H. Quantitation in the analysis of transesterified soybean oil by capilary gas chromatography. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 63, n. 10, p. 1370-1375, 1986.

FRIEDMAN, M.; KOZUKUE, N.; HARDEN, L. A. Cinnamaldehyde content in foods determined by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 11, p. 5702-5709, 2000.

GIADA, M. L. R.; MANCINI FILHO, J. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. **UEPG Ciências Biológicas e da Saúde**, Ponta Grossa, v. 12, n. 4, p. 7-15, 2006.

GIMENO, E. et al. Rapid determination of vitamin E in vegetable oils by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 881, n. 1-2, p. 251-254, 2000.

GODOY, H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Ocurrence of cis-isomers of provitamin A in Brasilian Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 42, n. 6, p. 1306-1313, 1994.

GÓMEZ-ALFONSO, S.; SALVADOR, M. D.; FREGAPANE, J. Phenolic compounds profile of cornicabra virgin olive oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 23, p. 6812-6817, 2002.

GROSS, J. **Pigments in vegetables**: clorophyls and carotenoid. New York: Avy Books, 1991.

GUINAZI, M. et al. Tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais e ovos. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 8, p. 2098-2103, 2009.

GUTNIKOV, G. Fatty acid profiles of lipid samples. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 671, n. 1-2, p. 71-89, 1995.

HAN, J. -H.; YANG, Y. -X.; FENG, M. -Y. Contents of phytosterols in vegetables and fruits commonlyconsumed in China. **Biomedical and Environmental Sciences**, Beijing, v. 21, n. 6, p. 449-453, 2008.

HARBAUM-PIAYDA, B. et al. New polyphenolic compounds in commercial deodistillate and rapeseed oils. **Food Chemistry**, London, v. 123, n. 3, p. 607-615, 2010.

HASLER, C. M.; KUNDRAT, S.; WOOL, D. Functional foods and cardiovascular disease. **Current Atherosclerosis Reports**, [S.I.], v. 2, n. 6, p. 467-475, 2000.

HAVSTEEN, B. Flavonoids: a class of natural products of high pharmacological potency. **Biochemical Pharmacology**, New York, v. 32, n. 7, p. 1141-1148, 1983.

HEMEDA, H. M.; KLEIN, B. P. Effects of naturally antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 55, n. 1, p. 184-185, 1990.

HEMES, P. J.; HEDGES, J. I. Determination of condensed tannin monomers in environmental samples by capillary gas chromatography of acid depolymerization extracts. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 72, n. 20, p. 5115-5124, 2000.

HERTOG, M. G. L.; HOLLMAN, P. C. H.; PUTTE VAN, B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea, infusions, wines, and fruit juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 41, n. 8, p. 1242-1246, 1996.

HU, C. et al. Determination of carotenoids in Dunaliella salina cultivated in Taiwan and antioxidant capacity of the algal carotenoid extract . **Food Chemistry**, London, v. 109, n. 2, p. 439-446, 2008.

JADHAV, S. J. et al. Lipid oxidation in biological and foods system. In: MADHAVI, D. L.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. (Eds.). **Food antioxidants:** technological, toxicological, and health perspectives. Marcel Dekker: New York, 1996, p. 5-62.

JEKEL, A. A.; VAESSEN, H. A. M. G.; SCHOTHORST R. C. Capillary gas-chromatographic method for determining non-derivatized sterols - some results for duplicate 24 h diet samples collected in 1994. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, Berlin, v. 360, n. 5, p. 595, 600, 1998.

JOHN, J. A.; SHAHIDI, F. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). **Journal of Functional Foods**, Maryland, v. 2, n. 3, p. 196-209, 2010.

JOHNSSON, L. **Phytosterol oxidation products**: formation, analysis and occurrence. Swedish University ao Agricultural Sciences, 2004. 59 p.

JONES, P. J. H.; KUBOW, S. Lipídios, esterois e seus metabolitos. In: SHILS, M. E. et al. (Eds.). **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. Barueri: Manole, 2003. p. 71-101.

KALOGEROPOULOS, N. et al. Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries. **Food Chemistry**, London, v. 121, n. 3, p. 682-690, 2010.

KAMAL-ELDIN, A. et al. Normal-phase highperformance liquid chromatography of tocopherols and tocotrienols – composition of different chromatographic columns. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 881, n. 1-2, p. 217-227, 2000.

KAMAL-ELDIN, A.; APPELQVIST, L. A. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. **Lipids**, Champaign, v. 31, n. 7, p. 671-701, 1996.

KAYDEN, H. J. The genetic basis of vitamin E deficiency in humans. **Nutrition**, New York, v. 17, n. 10, p. 797-798, 2001.

KIMURA, M. et al. Screening and HPLC methods for carotenoids in sweetpotato, cassava and maize for plant breeding trials. **Food Chemistry**, London, v. 100, n. 4, p. 1734-1746, 2007.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago v. 50, n. 2, p. 213-218, 1999.

KING, J. W. et al. Thermal gradient fractionation of glyceride mixtures under supercritical fluid conditions. **The Journal of Supercritical Fluids**, New York, v. 10, n. 2, p. 127-137, 1997.

KINSELLA, J. E. et al. Possible mechanisms for the protective role antioxidants in wine and plant foods. **Food Technology**, Chicago, v. 47, n. 4, p. 85-89, 1993.

KIOKIAS, S.; OREOPOULOU, V. Antioxidant properties of natural carotenoid extracts against the AAPH-initiated oxidation of food emulsions. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Netherlands, v. 7, n. 1-2, p. 132-39, 2006.

KOCHHAR, S. P. Influence of processing on sterols of edible vegetable oils. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v. 22, n. 3, p. 161-188, 1983.

KOVACS, M. I. P. Determination of cholesterol in pasta products using gas-liquid-chromatography. **Journal of Cereal Science**, London, v. 11, n. 3, p. 291-297, 1990.

KRYGIER, K.; SOSULSKI, F.; HOGGE, L. Free esterified and bound phenolic acids. Extraction and purification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 30, n. 2, p. 330-334, 1982.

KUHN, M. et al. Simultaneous determination of retinol and a-tocopherol in polymeric diets for enteral nutrition. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1205, n. 1-2, p. 186-190, 2008.

KURILICH, A. C.; JUVIK, J. A. Quantification of carotenoid and tocopherol antioxidants in *Zea mays*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 47, n. 5, p. 1948-1955, 1999.

KURZ, C.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. HPLC-DAD-MSn characterisation of carotenoids from apricots and pumpkins for the evaluation of fruit product authenticity. **Food Chemistry**, London, v. 110, n. 2, p. 522-530, 2008.

KWAK, N. S.; JUKES, D. J. Functional foods. Part 1. The development of a

regulatory concept. **Food Control**, Guildford, v. 12, n. 2, p. 99-107, 2001.

LAGARDA, M. J.; GARCÍA-LLATAS, G.; FARRÉ, R. Analysis of phytosterols in foods. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, v. 41, n. 5, p. 1486-1496, 2006.

LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. et al. Direct HPLC analysis of cis and transresveratrol and piceid isomers in Spanish red *Vitis vinifera* wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 43, n. 2, p. 281-283, 1995.

LAVEDRINE, F. et al. Effect of geographic origin, variety and stocage on tocopherol concentrations in walnuts by HPLC. **Food Chemistry**, London, v. 58, n. 1-2, p. 135-140, 1997.

LEA, L. J.; HEPBURN, P. A. Safety evaluation of phytosterol-esters. Part 9. Results of a European post-launch monitoring programme. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 44, n. 8, p. 1213-1222, 2006.

LEENHEER, A. P.; LAMBERT, W. E.; NETIS, H. J. **Modern chromatographic analysis of vitamins**. New York: Marcel Dekker Inc., 1992. 575 p.

LI, T. S. C.; BEVERIDGE, T. H. J.; DROVER, C. G. Phytosterol content of sea buckthorn (Hippophae rhamnoides L.) seed oil: extraction and identification. **Food Chemistry**, London, v. 101, n. 4, p. 1633-1639, 2007.

LIGGINS, J. et al. Extraction and quantification of daidzein and genistein in food. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 264, n. 1, p. 1-7, 1998.

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. High-performance liquid chromatography of fatty acids in biological samples. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 465, n. 1-2, p. 81-91, 2002.

LOTTENBERG, A. M. P. et al. Eficiência dos ésteres de fitoesterois alimentares na redução dos lípides plasmáticos em hipercolesterolêmicos moderados. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 79, n. 2, p. 139-142, 2002.

MADHAVI, D. L.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Technological aspects of food antioxidants. In: MADHAVI, D. L.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. (Eds.). **Food antioxidants:** technological, toxicological, and health perspectives. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 159-265.

MAGUIRE, L. S. et al. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut. **International Journal Food Sciences and Nutrition**, Abingdon, v. 55, n. 3, 171-178, 2004.

MALACRIDA, C. R. **Caracterização de óleos extraídos de sementes de frutas: composição de ácidos graxos, tocoferóis e carotenoides**. 2009. 105 f. Tese de Doutorado – Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2009.

MARANGONI, F.; POLI, A. Phytosterols and cardiovascular health. **Pharmacological Research**, London, v. 61, n. 3, p. 193-199, 2010.

MARINOVA, D.; RIBAROVA, F. HPLC determination of carotenoids in Bulgarian berries. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 20, n. 5, p. 370-374, 2007.

MARTIN, C. A. et al. Acidos graxos poli-insaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 6, p. 761-770, 2006.

MASSARO, M. et al. Omega-3 fatty acids, inflammation and angiogenesis: Nutrigenomic effects as an explanation for anti-atherogenic and anti-inflammatory effects of fish and fish oils. **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics**, [S.I.], v. 1, n. 1-2, p. 4-23, 2007.

MASSON, L.; CAMILO, C.; TORIJA, M. E. Caracterización del aceite de coquito de palma chilena *(Jubaea chilensis).* **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 59, n. 1, p. 33-38, 2008.

MAXSON, E. D.; ROONEY, L. W. Evaluation of methods for tannin analysis in sorghum grain. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 49, p. 719-722, 1972.

MAZZA G. Anthocyanins and other phenolic compounds of Saskatoon berries. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 51, n. 5, p. 1260-1264, 1986.

MCINERNEY, J. K. et al. Effects of high pressure processing on antioxidant activity, and total carotenoid content and availability, in vegetables. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Netherlands, v. 8, n. 4, p. 543-548, 2007.

MEIER, S. et al. Validation of a one-step extraction/methylation method for determination of fatty acids and cholesterol in marine tissues. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.1104, n. 1-2, p. 291-298, 2006.

MELCHERT, H. -U.; PABEL, E. Quantitative determination of α-, β-, γ- and δ-tocopherol in human serum by high-performance liquid chromatography and gas chromatography-mass spectrometry as trimethylsilyl derivatives with a two-step sample preparation. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 896, n. 1-2, p. 209-215, 2000.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Importância nutricional de los pigmentos carotenoides. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 54, n. 2, p. 149-155, 2004a.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Provitamin A carotenoids and ascorbic acid contents of the different types of orange juices marketed in Spain. **Food Chemistry**, London, v. 101, n. 1, p.177-184, 2004b.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Review: analysis of carotenoids in orange juice. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 20, n. 7, p. 638-649, 2007.

METCALFE, L. D.; WANG, C. N. Rapid preparation of fatty acid methyl esters using organic base-catalysed transesterification. **Journal of Chromatography Science**, [S.I.], v. 19, p. 530-535, 1981.

MOREAU, R. A.; WHITAKER, B. D; HICKS, K. B. Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v. 41, n. 6, p. 457-500**,** 2002.

MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, London, v. 72, n. 2, p. 145-171, 2001.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1054, n. 1-2, p. 95-111, 2004.

NASIFF-HADAD, A.; MERINO-IBARRA, E. Acidos grasos omega-3: pescados de carne azul y concentrados de aceites de pescado. Lo bueno y lo malo. **Revista Cubana de Medicina**, La Habana, v. 42, n. 2, p. 49-55, 2003.

NEO, Y. -P. et al. Phenolic acid analysis and antioxidant activity assessment of oil palm (*E. guineensis*) fruit extracts. **Food Chemistry**, London, v. 122, n. 1, p. 353-359, 2010.

NESTEL, P. M. et al. Cholesterol-lowering effects of plant sterol esters and non-esterified stanols in margarine, butter and low-fat foods. **European Journal of Clinical Nutrition***,* London, v. 55, n. 12, p. 1084-1090, 2001.

NTANIOS, F. Plant sterol-ester-enriched spreads as an example of a new functional food. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 103, n. 2, p. 102-106, 2001.

OLIVER, J.; PALOU, A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 881, n. 1, p. 543-555, 2000.

OLSON, J. A. Carotenoids and human health. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 49, n. 1, p. 7S-11S, 1999.

ORTEGA-FLORES, C. I.; PENTEADO, M. V. C. Carotenoides com atividade pró-vitamínica A em cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 51-60, 1992.

OSTERLÖF, G.; NYHEIM, A. The estimation of α-tocopherol in biological material by gas chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 183, n. 4, p. 487-491, 1980.

OSZMIANSKI, J.; LEE, C. Y. Isolation and HPLC determinations of phenolic compounds in red grapes. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 41, n. 3, p. 204-206, 1990.

PARRISH, D. B. Determination of vitamin E in foods – a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 10, n. 10, p. 161-187, 1980.

PARRY, J. et al. Fatty acid composition and antioxidant properties of cold-pressed marionberry, boysenberry, red raspberry, and blueberry seed oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 3, p. 566-573, 2005.

PATEL, M. D.; THOMPSON, P. D. Phytosterols and vascular disease. **Atherosclerosis**, Limerick, v. 186, n. 1, p. 12-19, 2006.

PERIČIN, D. et al. The distribution of phenolic acids in pumpkin's hull-less seed, skin, oil cake meal, dehulled kernel and hull. **Food Chemistry**, London, v. 113, n. 2, p. 450-456, 2009.

PHILLIPS, K. M. et al. Free and esterified sterol composition of edible oils and fats. **Journal of Food Compositions and Analysis**, San Diego, v. 15, n. 2, p. 123-142, 2002.

PIIRONEN, V. et al. Plants sterols: biosynthesis, biological function and their

importance to human nutrition. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, n. 7, p. 939-966, 2000.

PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. et al. Evaluation of total carotenoids, α and β-carotene in carrots (*Daucus carota* L.) during home processing. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 39-44, 1998.

PIOMBO, G. et al. Characterization of the seed oils from kiwi (*Actinidia chinensis*), passion fruit (*Passiflora eulis*) and guava (*Psidium guajava*). **Oléagineux, corps gras, lipides**, Montrouge, v. 13, n. 2-3, p. 195-199, 2006.

POKORNÝ, J. Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants? **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 109, n. 6, p. 629-642, 2007.

PRICE, M. L., VAN SCOYOC, S.; BUTLER, L. G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 26, n. 5, p. 1214-1218, 1978.

PRICE, M. L.; BUTLER, L. G. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content in sorghum grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 25, n. 6, p. 1268-1270, 1977.

QUIRÓS, A. R. B.; COSTA, H. S. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: a review. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 19, n. 2-3, p. 97-111, 2006.

RABASCALL, N. H.; RIERA, J. B. Variaciones del contenido en tocoferoles y tocotrienoles durantes los procesos de obtencion e hidrogenacion de aceites comestibles. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 38, n. 3, p. 145-148, 1987.

RACETTE, S. B. et al. Phytosterol-deficient and high-phytosterol diets developed for controlled feeding studies. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 109, n. 12, p. 2043-2051, 2009.

REISMAN, J. et al. Treating asthma with omega-3 fatty acids: where is the evidence? A systematic review. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 6, p. 26-34, 2006.

ROCCO, A.; FANALI, S. Analysis of phytosterols in extra-virgin olive oil by nano-liquid chromatography. **Journal of Chromatography A,** Amsterdam, v. 1216, n. 43, p. 7173-7178, 2009.

RODRIGUES, J. N. et al. Caracterização físico-química de creme vegetal enriquecido com ésteres de fitosteróis. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 40, n. 4, p. 505-520, 2004.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid anlysis in food**. Washington: ILSI Press, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Brazil: a bounty of carotenoid sources. **Sight and Life Newsletter**, Basel, v. 4, p. 3-9, 2002.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoides: estrutura, propriedades e funções. In: RODRIGUEZAMAYA, D. B.; PASTORE, G. M. (Eds.). **Ciência de alimentos**: avanços e perspectivas na America Latina. Campinas: Fundação Cargill, 1997. p.

21-31.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Quantitative analysis, in vitro assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids – a review**. Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 23, n. 7, p. 726-740, 2010.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. **Harvestplus handbook for carotenoid analysis.** Washington: ILSI Press, 2004.

ROSS, J. A. Y.; KASUM, C. M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 22, p. 19-34, 2002.

RUBIO-RODRÍGUEZ, N. et al. Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates: a review. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Netherlands, v.11, n. 1, p. 1-12, 2010.

RUPÉREZ, F. J. et al. Chromatographic analysis of α-tocopherol and related compounds in various matrices. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 935, n. 1-2, p. 45-69, 2001.

RUSSO, G. L. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: from biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. **Biochemical Pharmacology**, New York, v. 77, n. 6, p. 937-946, 2009.

RYAN, E. et al. Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. **Plant Foods for Human Nutrition**, Elmsford, v. 62, n. 3, p. 85-91, 2007.

SAAD, B. et al. Determination of synthetic phenolic antioxidants in food items using reversed-phase HPLC. **Food Chemistry**, London, v. 105, n. 1, p. 389-394, 2007.

SANCHES-SILVA, A. et al. Comparison between hihg-performance liquid chromatography and gas chromatography methods for fatty acid identification and quantification in potato crisps. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1032, n. 1-2, p. 7-15, 2004.

SÁNCHEZ-PÉREZ, A. et al. Automated analysis of vitamin E isomers in vegetable oils by continuous membrane extraction and liquid chromatography-electrochemical detection. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 881, n. 1-2, p. 229-241, 2000.

SANHUEZA, J.; NIETO, S.; VALENZUELA, A. Acido docosahexaenoico (DHA), desarrollo cerebral, memoria y aprendizaje: la importancia de la suplementacion perinatal. **Revista Chilena de Nutrición**, Santiago, v. 31, n. 2, p. 84-92, 2004.

SCHIEBER, A.; MARX, M.; CARLE, R. Simultaneous determination of carotenes and and tocopherols in ATBC drinks by high-performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, London, v. 76, n. 3, p. 357-362, 2002.

SCHMIDT, S.; POKORNÝ, J. Potential application of oilseeds as sources of antioxidants for food lipids – a review. **Czech Journal of Food Science**, Prague, v. 23, n. 3, p. 93-102, 2005.

SCHMIDTLEIN, H.; HERRMANN, K. Quantitative analysis for phenolic acids by thin-layer chromatography. **Journal of Chromatography A,** Amsterdam, v. 115, n. 1, p. 123-128, 1975.

SCHREINER, M. Quantification of long polyunsaturated fatty acids by gas chromatography: evaluation of factors affecting accuracy. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1095, n. 1-2, p. 126-130, 2005.

SCHULZ, J. M.; HERRMANN, K. Analysis of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids in plant material. I. Sample preparation and thin-layer chromatography. **Journal of Chromatography A,** Amsterdam, v. 195, n. 1, p. 85-94, 1980.

SCOTT, C. G.; COHEN, N.; RIGGIO, P. P. Gas chromatographic assay of the diasteriomeric composition of *all-rac*-α-tocopheril acetate. **Lipids**, Champaign, v. 17, n. 2, p. 97-101, 1982.

SENTER, S. D.; ROBERTSON, J. A.; MEREDITH, F. I. Phenolic compounds of the mesocarp of cresthaven peaches during storage and ripening. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 54, n. 5, p. 1259-1262, 1989.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics**: sources, chemistry, effects and applications. Lancaster: Technomic, 1995.

SHANTA, N. C.; NAPOLITANO, G. E. Gas chromatography of fatty acids. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 624, p. 37-51, 1992.

SHILS, M. E. et al. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença.** 9. ed. São Paulo: Manole, 2003. v. 1. 1026 p.

SIKORA, E. et al. The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. **Food Chemistry***,* London, v. 107, n. 1, p. 50-55, 2008.

SILVA, R. J. M. et al. Separation and quantitative determination of grape and wine procyanidins by high performance reversed phase liquid chromatography. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 53, n. 1, p. 85-92, 1990.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. **Food Reviews International**, New York, v. 20, n. 1, p. 77-90, 2004.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic and phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SIVAKUMAR, G. et al. Gas chromatography screening of bioactive phytosterols from mono-cultivar olive oils. **Food Chemistry**, London, v. 95, n. 3, p. 525-528, 2006.

SIX, P. Current research in natural food antioxidants. **Inform**, Champaign, v. 5, n. 6, p. 679-687, 1994.

SOARES, S. E. Ácidos fenolicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOBCZAK, A.; SKOP, B.; KULA, B. Simultaneous determination of serum retinol and α- and γ-tocopherol levels in type II diabetic using high-performance liquid chromatography with fluorescense detection. **Journal of Chromatography B**,

Amsterdam, v. 730, n. 2, p. 265-271, 1999.

SOKOL, R. J. Vitamin E. In: ZIEGLER, E. E.; FILER, L. J. (Eds.). **Present knowledge in nutrition**. Washington: ILSI Press, 1996. p. 130-216.

SPEEK, A. J.; SCHRIJVER, J.; SCHREURS, W. H. P. Vitamin E composition of some seed oils as determination by high - performance liquid chromatography with fluorometric detection. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, n. 1, p. 121-124, 1985.

STANTON, C. et al. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 16, n. 2, p. 198-203, 2005.

SU, Q.; ROWLEY, K. G.; BALAZS, N. D. H. Carotenoids: separation methods applicable to biological samples. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 781, n. 1-2, p. 393-418, 2002.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolics constituents of prumus domestica: the quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959.

SYNDER, J. M. et al. Concentration of phytosterols for analysis by supercritical fluid extraction. **Journal of the American Chemists' Society**, Chicago, v. 76, n 6, p. 717-721, 1999.

TARNAWSKI, M. et al. HPLC determination of phenolic acids and antioxidant activity in concentrated peat extract – a natural immunomodulator. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, v. 41, n. 1, p. 182-188, 2006.

TOIVO, J. et al. Factors affecting sample preparation in the gas chromatographic determination of plant sterols in whole flour. **Food Chemistry**, London, v. 68, n. 2, p. 239-245, 2000.

TOIVO, J. et al. Determination of sterols in foods: recovery of free, esterified, and glycosidic sterols. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 14, n. 6, p. 631-643, 2001.

TRABER, M. G.; PACKER, L. Vitamin E: beyond antioxidant function. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 62, n. 6, p. 1501S-1509S, 1995.

TRAKUR, M.L.; SRIVASTAVA, U. S. Vitamin-E metabolism and its application. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 16, n. 10, p. 1767-1809, 1996.

TSUZUKI, W.; MATSUOKA, A.; USHIDA, K. Formation of *trans* fatty acids in edible oils during the frying and heating process. **Food Chemistry**, London, v. 123, n. 4, p. 976-982, 2010.

TUBEROSO, C. I. G. et al. Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. **Food Chemistry**, London, v. 103, n. 4, p. 1494-1501, 2007.

TUCK, K. L.; HAYBALL, P. J. Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 13, n. 11, p. 636-644, 2002.

TVRZICKÁ, E. et al. Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography-flame ionization detection: quantitative aspects. **Analysis Chimica Acta**, Amsterdam, v. 465, n. 1-2, p. 337-350, 2002.

UAUY, R. et al. Essential fatty acids in visual and brain development. **Lipids**, Champaign, v. 36, n. 9, p. 885-895, 2001.

VACCARI, N. F. S.; SOCCOL, M. C. H.; IDE, G. M. Compostos fenólicos em vinhos e seus efeitos antioxidantes na prevenção de doenças. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.8, n.1, p. 71-83, 2009.

VALLILO, M. I. et al. Caracterização química e físico-química do óleo das sementes de *Platymiscium floribundum* Vog. (sacambu), colhidas na fase de desenvolvimento e na época de maturação fisiológica. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 73-80, 2007.

VÁSQUEZ-OCMÍN, P. G. et al. Chemical characterization and oxidative stability of the oils from three morphotypes of *Mauritia flexuosa* L. from the Peruvian Amazon. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 61, n. 4, p. 390-397, 2010.

VERLEYEN, T. et al. Analysis of free and esterified sterols in vegetable oils**. Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 79, n. 2, p. 117-122, 2002.

VISENTAINER, J. V., FRANCO, M. R. B. **Ácidos graxos em óleos e gorduras: identificação e quantificação**. São Paulo: Varela, 2006. p. 36-117.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Pigmentos naturais bioativos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 1, p. 157-166, 2009.

WANG, T.; MOREAU, R. A.; HICKS, K. B. Antioxidant activity of phytosterols, oryzanol and other phytosterol conjugates. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 79, n. 12, p. 1201-1206, 2002.

WANG, X. Y.; QUINN, P. J. The location and function of vitamin E in membranes (review). **Molecular Membrane Biology**, [S.I.], v. 17, n. 3, p. 143-156, 2000.

WARNER, K.; NEFF, W. E.; ELLER, F. J. Enhancing quality and oxidative stability of aged fried food with γ-tocopherol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 2, p. 623-627, 2003.

WEBER, N.; WEITKAMP, P.; MUKHERJEE, K. D. Cholesterol-lowering food additives: lipase-atalysed preparation of phytosterol and phytostanol esters. **Food Research International**, Barking, v. 35, n. 2-3, p. 177-181, 2002.

WINKLER, J. K.; WARNER. K. Effect of phytosterol structure on thermal polymerization of heated soybean oil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 110, n. 11, p. 1068-1077, 2008.

WOODRING, P. J.; EDWARDS, P. A.; CHISHOLM, M. G. HPLC determination of non-flavonoid phenols in vidal blanc wine using electrochemical detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 38, n. 3, p. 729-742, 1990.

YANG, C. S. et al. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 21, n. 1, p. 381-406, 2001.

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: a review. **LWT - Food Science**

and Technology, London, v. 42, n. 10, p. 1573-1580, 2009.

YANISHLIEVA-MASLAROVA, N. V. Inhibiting oxidation. In: POKORNÝ, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. H. (Eds.). **Antioxidants in food:** practical applications. Cambridge: Woodhead Publishing, 2003. p. 22-70.

YAO, F.; DULL, G.; EITENMILLER, R. Tocopherol quatification by HPLC in pecans and relationship to kernel quality during stocage. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 57, n. 5, p. 1194-1197, 1992.

ZAMBIAZI, R. C.; ZAMBIAZI, M. Vegetable oil oxidation: effect of endogenous components. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 34, n. 1, p. 22-32, 2000.

II.

PARTE EXPERIMENTAL

CAPÍTULO 1.

Composição química centesimal e nutricional de sementes de frutos do cerrado brasileiro

RESUMO

O cerrado brasileiro possui inúmeras espécies vegetais que têm apresentado potencial promissor na área alimentícia. Existem ainda na flora nativa brasileira algumas espécies pouco conhecidas, mas que apresentam potencialidades para o mercado brasileiro. Com isso, este trabalho teve como objetivo determinar a composição química centesimal e nutricional de sementes de frutos do cerrado, como araticum (*Annona crassiflora* Mart.), baru (*Dipteryx alata* Vog.), buriti (*Mauritia flexuosa* L.), jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.), jenipapo (*Genipa americana* L.), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) e sapoti (*Achras sapota* L.). A composição química centesimal e nutricional das sementes foram analisadas, quanto à umidade, lipídios, proteínas, cinzas, fibras alimentares solúveis e insolúveis, carboidratos totais, valor calórico, vitamina C e minerais. As determinações analíticas, em triplicata, foram submetidas às análises de variância e testes de Tukey para médias a 5% empregando o programa ESTAT, versão 2.0. De acordo com os resultados, as sementes constituíram fontes de lipídios (3,58-47,68%), proteínas (9,92-25,33%), cinzas (1,69-3,11), fibras alimentares insolúveis (8,32-72,20%), e valor calórico (102,98-545,56 kcal/100 g). Além de quantidades consideráveis de minerais como Ca, K, Mg, Na e P que foram encontrados nas sementes de frutos do cerrado brasileiro, podendo, assim, serem utilizadas na alimentação humana e animal.

Palavras-chave: vitamina C, minerais, valor nutricional, fibras.

ABSTRACT

The Brazilian cerrado has numerous plant species that have been showing promising potential in the food industry. In Brazilian native flora there is also some little-known species which have the potential for the Brazilian market. Therefore, this study aimed to determine the proximate and nutritional composition of seeds of fruits from the Cerrado, such as araticum (*Annona crassiflora* Mart.), baru (*Dipteryx alata* Vog.), buriti (*Mauritia flexuosa* L.), jatoba (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) genipap (*Genipa americana* L.), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) and sapodilla (*Achras sapota* L.). The proximate and nutritional chemical compositions of seeds were analyzed as to moisture, lipid, protein, ash, soluble and insoluble dietary fiber, total carbohydrates, calories, vitamin C and minerals. The analytical determinations, in triplicate, were subjected to analysis of variance and Tukey test for 5% average using the ESTAT program, version 2.0. According to the results, seeds constitute source of lipids (3.58-47.68%), protein (9.92-25.33%), ash (1.69-3.11), insoluble dietary fiber (8.32-72.20%), and calorific value (102.98-545.56 kcal/100 g). Considerable amounts of minerals, such as Ca, K, Mg, Na and P were found in the seeds of the Brazilian cerrado fruits, thus, being able to be used in food and feed.

Keywords: vitamin C, minerals, nutritional value, fibers.

1. Introdução

O Brasil apresenta um grande número de espécies de frutos, sendo considerado o de maior biodiversidade do mundo. Muitas espécies de frutos no Brasil são desconhecidas e, portanto, poucas são comercialmente disponíveis no mercado (LETERME et al. 2006; MATTIETTO; LOPES; MENEZES, 2010).

Recentemente, estudos epidemiológicos têm indicado que o consumo frequente de diversos frutos está associado com um menor risco de doenças crônicas (GOGUS; SMITH, 2010; MICALLEF; GARG, 2009), devido aos efeitos da combinação de vitaminas, minerais, antioxidantes e fibras (RUXTON; GARDNER; WALKER, 2006; SAURA-CALIXTO; GOÑI, 2006).

O cerrado é um bioma brasileiro que tem um grande número de espécies de frutos nativos e exóticos inexplorados, que são de interesse potencial para agroindústria e uma possível futura fonte de renda para a população local (ALMEIDA et al., 2011). Dentre as espécies de frutos do cerrado, alguns são destacados neste trabalho como o araticum (*Annona crassiflora* Mart.), o baru (*Dipteryx alata* Vog.), o buriti (*Mauritia flexuosa* L.), o jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.), o jenipapo (*Genipa americana* L.), o pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) e o sapoti (*Achras sapota* L.).

A Tabela 1 mostra as características gerais destas espécies dos frutos do cerrado brasileiro. Vale ressaltar que muitos frutos exóticos do cerrado já estão sendo plantados para uso industrial, com uma variedade de produtos disponíveis na forma de polpa congelada, sorvetes, licores ou biscoitos.

Os frutos nativos do cerrado oferecem um alto valor nutricional, além de atrativos sensoriais como cor, sabor, aroma peculiares e intensos. Destes, o araticum é uma fruta rica em diversos elementos e, em sua composição, encontram-se as vitaminas, além de Fe (2,3 mg/100 g), P (24 mg/100 g) e Ca (52 mg/100 g) (ALMEIDA, 1998). O baru contém teores elevados de lipídios (aproximadamente 40%), proteínas (cerca de 30%), e minerais como Ca, Fe, Mg, K e Zn (FREITAS; NAVES, 2010). O buriti contém teores significantes de carboidratos (30%) e minerais como K, Na, Mg e Ca com 911, 231, 60 e 44 mg/100 g, respectivamente (VÁSQUEZ-OCMÍN et al. 2010).

Tabela 1 - Características gerais de algumas espécies de frutos do cerrado brasileiro.

Frutos	Características gerais	Referências
Araticum	Árvore de 4 a 8 m de altura. Folhas crasso-membranosas e flores de coloração verde-amarelada. O fruto é sub-globuloso, de cor verde quando em desenvolvimento e marrom, quando maduro. A polpa tem coloração que varia do branco ao amarelo, com sementes de peso médio entre 1,5 e 2,0 g.	Clerici e Carvalho-Silva (2011); Carvalho (2002); Lorenzi (1998)
Baru	Árvore com até 15 m de altura. Fruto tem de 5 a 7 cm de comprimento por 3 a 5 cm de diâmetro, de cor marrom-claro, e é uma drupa que apresenta epicarpo, mesocarpo e endocarpo com uma amêndoa. Cada fruto apresenta cerca de 2,0 a 2,5 cm de comprimento e pesa cerca de 1,5 g.	Silva et al. (1994); Silva, Melo e Fernandes (2001); Sousa et al. (2011)
Buriti	É uma palmeira com mais de 15 m de altura. Fruto com casca dura, vermelha e escamosa, que recobre a polpa macia e oleosa, cuja coloração varia entre o amarelo escuro e o avermelhado. Os frutos são ovóides e pesam em média 50 g.	Calbo e Moraes (1997); Ferreira (2009); Mariath, Lima e Santos (1989)
Jatobá	Árvore de 4 a 6 m de altura. Frutos entre 6 e 18 cm de comprimento e de 3 a 6 cm de diâmetro com aproximadamente 4 sementes pesando em média 3 g cada.	Almeida, Silva e Ribeiro (1997); Silva et al. (2001)
Jenipapo	Árvore de 10 a 12 m de altura. Folhas de 20 a 42 cm de comprimento por 9 a 16 cm de largura, com flores brancas ou amareladas contendo cinco pétalas. Frutos são do tipo baga sub-globosa, de 8 a 10 cm de comprimento e 6 a 7 cm de diâmetro, casca mole, parda ou pardacento-amarelada. Polpa adocicada, contendo numerosas sementes compridas, cinzento-escuras.	Correa (1969); Estrella (1995); Hansen et al. (2008); Prance (1975)
Pequi	Árvore de aproximadamente 10 m de altura. Folhas verdes e flores branco-amareladas. Fruto drupóide verde com 4,2-6,4 x 6,5-7,8 cm, possui epicarpo coriáceo carnoso, envolvido pelo mesocarpo amarelo claro e algumas sementes. Frutos com peso de 50 a 250 g.	Almeida (1998); Correia et al. (2008); Vera et al. (2005)
Sapoti	Árvore com 15 m de altura. O fruto é uma baga globosa ovóide com 6 a 10 cm de comprimento e de 3 a 6 cm de diâmetro, pesa cerca de 100 a 500 g. A polpa do fruto maduro apresenta cor creme-amarelada de sabor adocicado, e as sementes são de cor pardo-escura a preta brilhante, de forma achatada, com 2 cm de comprimento por 1 cm de largura, cada fruto possui de 4 a 12 unidades de sementes.	Matos et al. (2003); Pio Correa (1931)

Já o jatobá apresenta em sua composição baixas quantidades de cinzas (2 g/100 g), proteínas (9 g/100 g) e lipídios (5 g/100 g), porém oferece elevado teor de fibras totais com cerca de 85 g/100 g (MATUDA; MARIA NETTO, 2005). O jenipapo tem baixos teores de cinzas, proteínas, lipídios, carboidratos e fibras, mas apresenta quantidades significativas de K (92,55%) (SOUZA et al. 2012). O pequi é um importante fruto do cerrado brasileiro com alto valor energético (aproximadamente 600 kcal/100 g), muito consumido pela população. Também contém significante teor de lipídios e proteínas, com 50 e 20%, respectivamente (LIMA et al., 2007). E na composição do fruto do sapoti encontra-se em 100 g: energia (96 kcal), proteínas (0,7 g), Ca (29 g), Fe (1,2 mg), vitamina B1 (0,01 mg), vitamina B2 (0,01 mg) e vitamina C (13 mg) (SEAGRI, 2010).

O estudo do valor nutritivo dos frutos nativos do cerrado contribui para o uso sustentável, conservação, seleção de espécies promissoras, além da importância econômica destes alimentos. Com isso, o objetivo deste estudo foi determinar a composição química centesimal e nutricional de diferentes sementes de frutos pelo interesse em melhor identificar a qualidade dessas matérias-primas do cerrado brasileiro.

2. Material e métodos

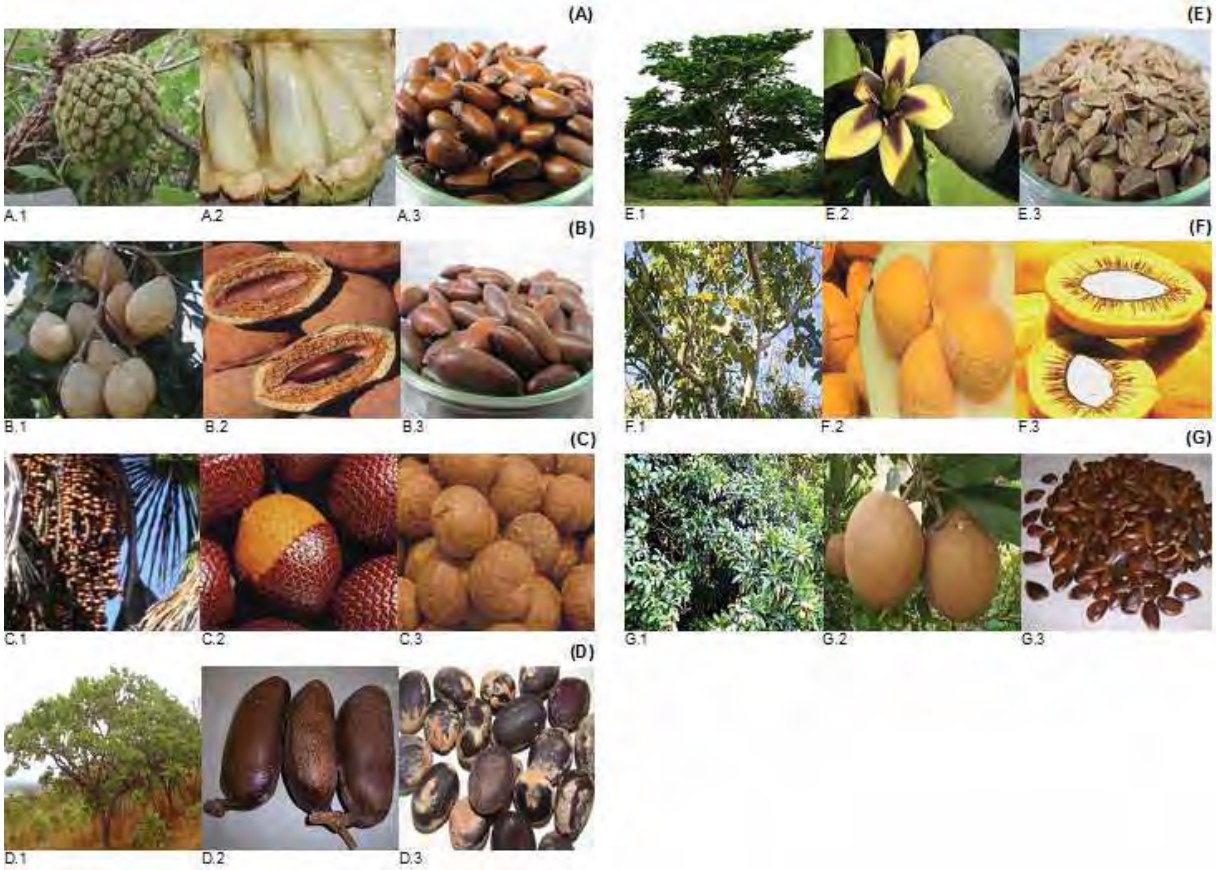
2.1. Material

2.1.1. Coleta dos frutos

Após período de maturação, os frutos de araticum, baru, buriti, jatobá, jenipapo, pequi e sapoti foram colhidos no campo e desprezados os que apresentavam rachaduras, danificações por insetos e/ou ataques de animais ou aves. Foram coletados três lotes destes frutos de regiões representativas de sua produtividade no cerrado brasileiro, adquiridos em diferentes períodos durante as safras de 2009/2010. Os frutos de araticum, buriti, jenipapo e sapoti (Figura 1) foram coletados na região Nordeste do Brasil, município de Teresina - Piauí, sendo os frutos de araticum adquiridos nos meses de março e abril de 2009, os de buriti nos meses de janeiro e março de 2010, os de jenipapo e os de sapoti nos meses de julho de 2009 e janeiro de 2010. Os frutos de baru foram coletados na região Centro-Oeste, município de Goiânia - Goiás, durante o mês de outubro de 2009. Os frutos

de jatobá foram coletados na região Sudeste do Brasil, município de Fronteira - Minas Gerais, no mês de novembro de 2009, enquanto que os de pequi foram coletados na região Centro-Oeste, município de Três Lagoas - Mato Grosso do Sul, durante os meses janeiro e março de 2010.

Figura 1 - Frutos do cerrado brasileiro. A: Araticum (*Annona crassiflora Mart*.); A.1: Árvore com o fruto maduro; A.2: Mesocarpo (polpa); A.3: Sementes. B: Baru *(Dipteryx alata* Vog.); B.1: Árvore com fruto maduro; B.2: Endocarpo; B.3: Sementes. C: Buriti *(Mauritia flexuosa* L.*)*; C.1: Palmeira com fruto maduro; C.2: Fruto inteiro; C.3: Sementes. D: Jatobá *(Hymenaea stigonocarpa* Mart.*)*; D.1: Árvore; D.2: Fruto inteiro; D.3: Sementes. E: Jenipapo *(Genipa americana* L.*)*; E.1: Árvore; E.2: Fruto inteiro; E.3: Sementes. F: Pequi *(Caryocar brasiliense* Camb.*)*; F.1: Árvore; F.2: Exocarpo (polpa esbranquiçada) e mesocarpo (polpa amarela); F.3: Mesocarpo (polpa amarela) e amêndoas (parte branca). G. Sapoti *(Achras sapota* L.*)*; G.1: Árvore com fruto maduro; G.2: Fruto inteiro; G.3: Sementes.



2.1.2. Preparo das amostras

Após o recebimento dos frutos, estes foram selecionados, cujas sementes foram retiradas manualmente e, em seguida, secas em bandejas, à temperatura

ambiente para redução do teor de umidade (< 10%). Os lotes das sementes, pesando entre 600-1.000 g de cada fruto, foram homogeneizados e acondicionados, devidamente rotulados, em recipientes plásticos vedados com tampas de rosca e armazenados a tempetarura ambiente. No momento das análises, as sementes foram trituradas em moinho de faca, marca Marconi, modelo MA 340, para obtenção de um pó homogêneo.

2.2. Métodos

2.2.1. Composição química centesimal

- *Umidade*, realizada em estufa a vácuo a 70°C com pesagem a cada 2 horas, até a obtenção de peso constante, segundo o método Ca 2d-25 da AOCS (2009);
- *Lipídios,* determinados por extração com éter de petróleo a 40-60°C utilizando extrator Soxhlet por 6 horas, de acordo com o método Ba 3-38 da AOCS (2009);
- *Proteínas,* obtidas por meio da análise de Kjeldahl, sendo o teor de proteínas totais, expresso em %, utilizando fator 6,25, segundo método 984.13 da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2005);
- *Cinzas*, realizadas por calcineração em mufla a 550°C por aproximadamente 8 horas conforme método Ba 5a-49 da AOCS (2009);
- *Fibras alimentares solúveis e insolúveis*, determinadas pela técnica gravimétrica enzimática, segundo o método de Prosky et al. (1992) proposto pela AOAC 985.29 (2005);
- *Carboidratos totais,* obtidos por diferença, subtraindo-se de 100 as porcentagens de umidade, lipídios, proteínas, cinzas e conteúdo de fibras totais;
- *Valor calórico*, calculado utilizando fator de correção de 4 kcal/g para os teores de proteínas e carboidratos, e 9 kcal/g para lipídios, segundo o método de Merril e Watt (1973).

2.2.2. Vitamina C

A vitamina C foi quantificada pela redução de 2,6-diclorofenolindofenol com a presença de íons interferentes, segundo o método da AOAC 967.21 (2005). Nas amostras foram adicionadas 20 mL de solução de ácido oxálico a 2% e os resultados expressos em mg vitamina C/100 g.

2.2.3. Minerais

Os teores de minerais (B, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Se e Zn), foram extraídos com ácidos nítrico e perclórico (2:1, v/v) em digestão orgânica, segundo método o da AOAC 984.27 (2005) e caracterizados/quantificados em espectrofotômetro de emissão óptica por plasma indutivamente acoplado, marca Varian (Walnut Creek, CA, USA), modelo 720-ES, utilizando uma curva de calibração para cada mineral e o Na foi analisado com fotômetro de chama, marca Digimed, modelo DM-61, expressos em mg/100 g.

2.3. Análise estatística

Os resultados obtidos das determinações analíticas, em triplicata, foram submetidos à análise de variância e as diferenças entre as médias foram testadas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey (BANZATTO; KRONKA, 2006), através do programa ESTAT, versão 2.0.

3. Resultados e discussão

3.1. Composição química centesimal e teor de vitamina C

A composição química centesimal exprime, de forma geral, o valor nutritivo de um alimento e corresponde a proporção dos grupos homogêneos de substâncias presentes em 100 g do alimento considerado. Os grupos de substâncias considerados homogêneos são os componentes intrínsecos constituintes dos alimentos, a saber: umidade, lipídios ou extrato etéreo, proteínas, cinzas, fibras e carboidratos.

O Apêndice 1 apresenta as análises de variância para os dados da composição química centesimal, valor calórico e vitamina C das sementes de frutos de araticum, baru, buriti, jatobá, jenipapo, pequi e sapoti. Como pode ser observado, o teste F foi significativo ($p < 0,01$) para as sementes estudadas. A composição química centesimal, o valor calórico e o teor de vitamina C das sementes em estudo estão apresentados na Tabela 2. Como observado na tabela, todos os constituintes diferiram significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Tabela 2 - Composição química centesimal, valor calórico e teor de vitamina C das sementes secas de frutos do cerrado brasileiro.

Constituintes (%)*	Araticum	Baru	Buriti	Jatobá	Jenipapo	Pequi	Sapoti
Umidade	5,58 ± 0,07^{f}	5,01 ± 0,13^{g}	6,15 ± 0,08^{e}	8,92 ± 0,09^{b}	9,71 ± 0,09^{a}	7,57 ± 0,10^{d}	7,88 ± 0,18^{c}
Lipídios	27,23 ± 0,06^{c}	36,54 ± 0,08^{b}	3,58 ± 0,09^{g}	5,20 ± 0,04^{f}	10,39 ± 0,11^{e}	47,68 ± 0,10^{a}	11,42 ± 0,18^{d}
Proteínas	11,21 ± 0,05^{f}	21,11 ± 0,09^{b}	12,25 ± 0,13^{e}	9,92 ± 0,09^{g}	25,33 ± 0,13^{a}	18,53 ± 0,09^{c}	15,35 ± 0,05^{d}
Cinzas	1,75 ± 0,33^{b}	2,72 ± 0,08^{a}	1,92 ± 0,33^{b}	1,69 ± 0,18^{b}	1,69 ± 0,18^{b}	3,11 ± 0,08^{a}	2,11 ± 0,14^{b}
Fibras Alimentares Totais	36,69 ± 0,12^{e}	11,73 ± 0,16^{g}	70,66 ± 0,12^{a}	66,80 ± 0,80^{b}	50,11 ± 0,24^{d}	12,53 ± 0,28^{f}	54,91 ± 0,04^{c}
Fibras Solúveis	3,02 ± 0,01^{e}	1,61 ± 0,03^{f}	4,46 ± 0,01^{b}	35,97 ± 0,79^{a}	3,24 ± 0,07^{d}	4,21 ± 0,04^{c}	3,09 ± 0,32^{e}
Fibras Insolúveis	33,67 ± 0,11^{d}	10,12 ± 0,13^{f}	72,20 ± 0,11^{a}	30,83 ± 0,01^{e}	46,87 ± 0,17^{c}	8,32 ± 0,24^{g}	51,82 ± 0,23^{b}
Carboidratos Totais	17,54 ± 0,13^{b}	22,89 ± 0,11^{a}	5,44 ± 0,15^{f}	7,47 ± 0,24^{e}	2,77 ± 0,15^{g}	10,58 ± 0,13^{c}	8,33 ± 0,12^{d}
Valor Calórico (kcal/100 g)	360,07 ± 0,08^{c}	504,86 ± 0,09^{b}	102,98 ± 0,12^{g}	116,36 ± 0,12^{f}	205,91 ± 0,13^{d}	545,56 ± 0,11^{a}	197,50 ± 0,12^{e}
Vitamina C (mg/100 g)*	17,09 ± 0,77^{e}	18,57 ± 0,77^{d}	27,55 ± 0,27^{b}	52,65 ± 0,35^{a}	20,25 ± 0,29^{c}	6,40 ± 0,41^{g}	10,40 ± 0,24^{f}

* Médias ± desvios padrões das análises realizadas em triplicata seguidas pelas mesmas letras nas linhas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Segundo Yu, Haley e Perret (2002), a composição química centesimal dos frutos pode ser alterada por vários fatores, entre eles a variedade, o cultivar, o estádio de maturação, as condições climáticas e geográficas de produção, o manuseio durante e pós-colheita, o processamento e a estocagem. Além disso, o genótipo da espécie, as condições de crescimento e a interação entre o genótipo e as características ambientais também podem influenciar de maneira direta na composição química dos frutos.

De acordo com os resultados obtidos das determinações analíticas, as sementes de baru tiveram menor porcentagem de umidade (5,01%), enquanto que maiores porcentagens foram encontradas nas sementes de jenipapo, 9,71%. Baixo teor de umidade é importante para manter a qualidade e vida de prateleira das sementes, pois com a umidade baixa e, consequente baixa atividade de água se tem uma redução na probabilidade de crescimento microbiano, na fermentação injustificada, na germinação prematura e também em muitos processos bioquímicos indesejáveis. Os resultados do teor de umidade das sementes estudadas são consistentes com os relatados para as sementes de baru e pequi (SOUSA et al., 2011).

As porcentagens de lipídios nas sementes variaram de 3,58 a 47,68%. As de araticum, baru e pequi foram as que apresentaram maiores porcentagens, 27,23, 36,54 e 47,68%, respectivamente. Outros autores também encontraram elevadas quantidades de lipídios nestas sementes de frutos do cerrado brasileiro (TAKEMOTO et al., 2001; LIMA et al., 2007; AQUINO et al., 2009; FERNANDES et al., 2010; SOUSA et al., 2011).

Os valores obtidos para lipídios totais indicam que as sementes de araticum, baru e pequi são boas fontes de óleos, principalmente quando comparadas com sementes de soja que apresentam cerca de 20% de lipídios (ORTHOEFER, 1996). Já as demais sementes apresentaram porcentagem de lipídios inferior a 20%.

As quantidades de proteínas nas sementes variaram de 9,92% para jatobá a 25,33% para jenipapo. De maneira geral, estes valores são superiores aos encontrados para alguns grãos de cereais, tais como arroz (8,1%), milho (10,2%), aveia (11,3%) e trigo (12,2%) (LÁSZTITY, 1996).

De acordo com a Tabela 2, as sementes de pequi obtiveram significante porcentagem de cinzas (3,11%), seguida pelas de baru (2,72%), enquanto que as demais apresentaram menores porcentagens. Como o teor de cinzas presente indica

a quantidade de minerais que a amostra possui, então, pode-se concluir que estas sementes estudadas apresentam relevantes fontes desses micronutrientes.

Em relação às fibras alimentares, solúveis e insolúveis, elas têm sido identificadas como importantes componentes das células vegetais que resistem à digestão pelas enzimas digestivas dos seres humanos. Dietas ricas em fibras estão associadas a riscos reduzidos de doenças crônicas, ajudam na eliminação de toxinas do organismo, e ainda são aliadas no controle de peso, pois induzem a saciedade promovendo menor ingestão de alimentos calóricos (LIU, 2007). As fibras solúveis são metabolizadas por bactérias da flora intestinal, servindo como prebiótico para a classe de bactérias benéficas ao organismo. Já, as fibras insolúveis ajudam na prevenção da constipação intestinal e do câncer colorretal, acelerando o movimento do bolo fecal.

Na Tabela 2, observa-se que as sementes mostraram ser importantes fontes de fibra alimentar total, com destaque para as sementes de buriti (70,66%), seguida pelas sementes de jatobá, sapoti e jenipapo, 66,80, 54,91 e 50,11%, respectivamente. Em relação às fibras solúveis, as sementes de jatobá obtiveram maior porcentagem (35,97%), enquanto que as de baru apresentaram menor teor, com 1,61%. Por outro lado, as sementes de buriti, sapoti, jenipapo, araticum e jatobá tiveram excelentes fontes de fibras insolúveis, mas as demais sementes, baru e pequi, obtiveram teores abaixo de 11%.

As porcentagens de carboidratos totais nas sementes variaram de 2,77 a 22,89%. As sementes de araticum (17,54%) e baru (22,89%) foram as que apresentaram maiores quantidades desses macronutrientes. Sousa et al. (2011) encontraram teor de carboidratos de 0,40 g/100 g para sementes de pequi e 12,25 g/100 g para as de baru, valores inferiores aos determinados nas sementes do presente estudo.

As sementes de frutos do cerrado brasileiro, uma vez incluídas na dieta, podem constituir importante aporte energético. Como esperado, nas amostras com conteúdo mais elevado de lipídios, o valor calórico também foi superior. Sendo assim, a quantidade de calorias foi maior nas sementes de pequi, baru e araticum, representando cerca de 546, 505 e 360 kcal/100 g, respectivamente. Segundo estudo realizado por Sousa et al. (2011), com sementes de frutos do cerrado brasileiro, as sementes de frutos de baru e pequi também apresentaram elevado valor calórico, 546,23 e 570,20 kcal/100 g, respectivamente, e Fernandes et al.

(2010) encontraram na semente de baru 535 kcal/100 g, valores semelhantes aos encontrados neste estudo.

As sementes de frutos do cerrado, conforme Tabela 2, obtiveram teores significantes de vitamina C, sendo o maior teor encontrado para jatobá com 52,65 mg/100 g, incluindo a presença de íons interferentes. Souza et al. (2012) também depararam com quantidades relevantes de vitamina C em alguns frutos do cerrado, como o araticum (59,05 mg/100 g) e o jenipapo (27,01 mg/100 g). Ramful et al. (2011) classificam os frutos de acordo com o teor de vitamina C em três categorias: baixa (< 30 mg/100 g), média (30-50 mg/100 g) e alta (> 50 mg/100 g). De acordo com esta classificação, a semente de jatobá é considerada como alto conteúdo de vitamina C, enquanto que as demais sementes apresentaram baixos teores.

De acordo com a RDC n°. 269, de 22 de setembro de 2005, a Ingestão Diária Recomendada (IDR) para a vitamina C é de 40 mg/dia para adultos e de 55 mg/dia para gestantes (BRASIL, 2005). Desta forma, as sementes de frutos do cerrado são boas fontes dessa vitamina, atendendo às necessidades diárias de adultos e gestantes.

3.2. Minerais

O Apêncide 2 apresenta as análises de variância para os dados da composição nutricional das sementes de frutos de araticum, baru, buriti, jatobá, jenipapo, pequi e sapoti. Como observado, o teste F foi significativo ($p < 0,01$) para os tratamentos estudados. Como apresentado na Tabela 3, todos os minerais diferiram significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

As sementes de frutos revelaram elevadas concentrações de P, K, Mg e Ca e significantes quantidades de Na. Notavelmente, as sementes de pequi apresentaram maior teor de P com aproximadamente 2.200 mg/100 g e as de buriti menor com cerca de 500 mg/100 g desse micronutriente. Já as sementes de buriti e jatobá foram as que obtiveram maiores concentrações de K, 736,78 e 587,53 mg/100 g, respectivamente, e as sementes de pequi demonstraram menor teor com 100,40 mg/100 g.

Tabela 3 - Conteúdo de minerais das sementes secas de frutos do cerrado brasileiro.

Minerais (mg/100 g)*	Araticum	Baru	Buriti	Jatobá	Jenipapo	Pequi	Sapoti
B	1,82 ± 0,02^{b}	3,67 ± 0,05^{a}	0,89 ± 0,07^{d}	1,42 ± 0,01^{c}	0,89 ± 0,02^{d}	0,42 ± 0,02^{f}	0,71 ± 0,03^{e}
Ca	278,21 ± 0,03^{c}	259,73 ± 0,09^{d}	255,53 ± 0,14^{e}	397,20 ± 0,10^{b}	199,74 ± 0,10^{g}	203,66 ± 0,05^{f}	680,91 ± 0,04^{a}
Cu	0,73 ± 0,02^{b}	0,23 ± 0,03^{d}	0,32 ± 0,05^{c}	0,12 ± 0,01^{e}	0,65 ± 0,03^{b}	1,05 ± 0,03^{a}	0,11 ± 0,01^{e}
Fe	1,83 ± 0,03^{d}	2,80 ± 0,08^{b}	1,56 ± 0,05^{e}	1,76 ± 0,04^{d}	3,31 ± 0,02^{a}	2,14 ± 0,08^{c}	2,76 ± 0,03^{b}
K	520,11 ± 0,05^{e}	138,40 ± 0,04^{f}	736,78 ± 0,09^{a}	587,53 ± 0,06^{b}	553,29 ± 0,03^{c}	100,4 ± 0,03^{g}	524,04 ± 0,04^{d}
Mg	421,26 ± 0,08^{c}	386,40 ± 0,09^{d}	240,85 ± 0,06^{g}	363,41 ± 0,10^{e}	519,10 ± 0,08^{b}	1.042,89 ± 0,06^{a}	286,18 ± 0,05^{f}
Mn	0,19 ± 0,01^{f}	3,79 ± 0,14^{c}	14,08 ± 0,05^{a}	9,20 ± 0,05^{b}	0,60 ± 0,02^{e}	1,20 ± 0,03^{d}	0,20 ± 0,01^{f}
Na	85,12 ± 0,05^{f}	40,59 ± 0,05^{g}	350,20 ± 0,05^{a}	144,15 ± 0,07^{e}	244,15 ± 0,05^{c}	301,16 ± 0,04^{b}	210,30 ± 0,03^{d}
P	865,19 ± 0,05^{d}	1.445,67 ± 0,16^{b}	498,90 ± 0,13^{g}	811,32 ± 0,06^{e}	1.318,11 ± 0,07^{c}	2.196,12 ± 0,07^{a}	695,30 ± 0,03^{f}
Se	tr	0,15 ± 0,03^{c}	0,24 ± 0,02^{b}	0,92 ± 0,04^{a}	tr	tr	tr
Zn	1,20 ± 0,01^{c}	1,88 ± 0,06^{b}	1,16 ± 0,03^{c}	1,25 ± 0,05^{c}	0,93 ± 0,03^{d}	3,54 ± 0,06^{a}	0,73 ± 0,02^{e}

* Médias ± desvios padrões das análises realizadas em triplicata seguidas pelas mesmas letras nas linhas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

tr - < 0,05 mg/100 g.

Para o Mg, a maior concentração encontrada foi nas sementes de pequi, 1042,89 mg/100 g, e menores quantidades nas sementes de buriti, 240,85 mg/100 g. O Ca foi quantificado em maiores teores nas sementes de sapoti e jatobá e menores nas de jenipapo, com valores de 680,91, 397,20 e 199,74 mg/100 g, respectivamente.

Maiores quantidades de Na foram encontradas nas sementes de buriti e pequi, 350,20 e 301,16 mg/100 g, respectivamente. Já as sementes de baru apresentram o menor teor com 40,59 mg/100 g. Em estudo realizado por Fernandes et al. (2010), com sementes de baru, foram obtidos valores de 810 mg/100 g de K, 337,50 mg/100 g de P, 120,40 mg/100 g de Ca e 3,30 mg/100 g de Na.

Os minerais como B e Mn foram quantificados em todas as sementes de frutos do cerrado brasileiro com concentrações que variaram de 0,42 a 3,67 mg/100 g para o B e de 0,19 a 14,08 mg/100 g para o Mn.

O Se foi encontrado somente nas sementes de baru, buriti e jatobá com valores de 0,15-0,92 mg/100 g. Já o Zn foi detectado em todas sementes, com destaque para a semente de pequi (3,54 mg/100 g). Considerando a importância nutricional destes minerais, como antioxidantes e os seus conteúdos limitados em alimentos vegetais, as sementes de jatobá e pequi podem ser consideradas como boas fontes de Se e Zn. Sasthe et al. (2009) encontraram concentrações de Se em castanha do Brasil com variações de 0,08-4,39 mg/100 g e de Zn 4,10 mg/100 g.

As sementes de frutos do cerrado brasileiro analisadas neste estudo apresentaram significantes quantidades de minerais, sendo que as sementes de pequi, em particular, obtiveram maiores concentração de Mg, P e Zn, as de buriti maiores teores de K e Na, e as de sapoti, maiores conteúdos de P e Ca. Os demais minerais como Co, Mo e Ni não foram detectados nas amostras em estudo.

Segundo Vega-Gávez et al. (2010), em sementes de quinoa foram encontradas elevadas quantidades de K e P, 1.192 e 468,87 mg/100 g, respectivamente, porém baixo teor de Ca.

Contaminantes orgânicos como Cd e Pb não foram detectados nas sementes de frutos do cerrado brasileiro, porém o Cu foi encontrado em baixas quantidades com concentrações de 0,11 a 1,05 mg/100 g.

O valor de ingestão diária de minerais, no Brasil, é controlado pelo Ministério da Saúde que recomenda para Ca, Fe, Mg, Zn, P, Se e Mn, 1.000, 14, 260, 7, 700, 34 e 2,3 mg/dia para adultos e 1.200, 27, 220, 11, 1.250, 30 e 2,0 mg/dia para

gestantes, respectivamente, a fim de desempenhar papel preventivo no aparecimento de doenças vinculadas à carência de minerais (BRASIL, 2005).

4. Considerações finais

As sementes de frutos do cerrado brasileiro mostram-se bastante distintas em sua composição química centesimal e nutricional, constituindo fontes de lipídios (3,58-47,68%), proteínas (9,92-25,33%), cinzas (1,69-3,11), fibras alimentares insolúveis (8,32-72,20%), e valor calórico (102,98-545,56 kcal/100 g). Além de quantidades consideráveis de minerais como Ca, K, Mg, Na e P que são encontrados nas sementes de frutos do cerrado brasileiro, podendo, assim, serem utilizadas na alimentação humana e animal.

5. Referências bibliográficas

ALMEIDA, M. M. B. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, Barking, v. 44, n. 7, p. 2155-2159, 2011.

ALMEIDA, S. P. Frutas nativas do Cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Eds.). **Cerrado**: ambiente e flora. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998. p. 247-285.

ALMEIDA, S. P.; SILVA, J. A.; RIBEIRO, J. F. Aproveitamento alimentar de espécies nativas dos cerrados: araticum, baru, cagaita e jatobá. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1997. 83 p.

AMERICAN OIL CHEMITS' SOCIETY (AOCS). **Official and tentative methods of the American Oil Chemists' Society**: including additions and revisions. 6th ed. Champaing: AOCS Press, 2009.

AQUINO, L. P. et al. Influência da secagem do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) na qualidade do óleo extraído. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 354-357, 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official and tentative methods of the Association of Official Analytical Chemists International**. 18th ed. Maryland, 2005.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n°. 269, de 22 de setembro de 2005. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 23 de setembro de 2005. Aprova o **Regulamento técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais**. Brasília, 2005.

CALBO, M. E. R.; MORAES, J. A. P. V. Fotossíntese, condutância estomática, transpiração e ajustamento osmótico de planta de buriti submetidas a estresse hídrico. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 9, n. 2, p. 117-123, 1997.

CARVALHO, J. A. **Marolo**: o doce sabor do cerrado: sugestões de cultivo. [S.l.]: Folha Machadense, 2002.

CLERICI, M. T. P. S.; CARVALHO-SILVA, L. B. Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. **Food Research International**, Barking, v. 44, n. 7, p. 1658-1670, 2011.

CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, 1969. p. 515-519.

CORREIA, G. C. et al. Determinações físicas em frutos e sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.), cajuzinho (*Anacardium othonianum* Rizz.) e pequi (*Caryocar brasiliense* Camb). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 24, p. 42-47, 2008.

ESTRELLA, E. **Plantas medicinales amazonicas:** realidad y perspectivas. Manaus: TCA, 1995. 268 p.

FERNANDES, D. C. et al. Nutritional composition and protein value of the baru (*Dipteryx alata* Vog.) almond from the Brazilian Savanna. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 90, n. 10, p. 1650-1655, 2010.

FERREIRA, E. L. **Manual das palmeiras do Acre, Brasil**. Referência Bibliográfica de documento eletrônico. Disponível em: http://www.nybg.org/bsci/acre/www1/manual_palmeiras.html. Acesso em março de 2009.

FREITAS, J. B.; NAVES, M. M. V. Composição química de nozes e sementes comestíveis e sua relação com a nutrição e saúde. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 269-279, 2010.

GOGUS; U.; SMITH, C. n-3 Omega fatty acids: a review of current knowledge. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 45, n. 3, p. 417-436, 2010.

HANSEN, D. S. et al. Caracterização química de frutos de jenipapeiros nativos do Recôncavo Baiano visando ao consumo natural e industrialização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 4, p. 964-969, 2008.

LÁSZTITY, R. **The chemistry of cereal proteins**. 2th ed. Boca Raton: CRC Press, 1996. p. 4.

LETERME, P. et al. Mineral content of tropical fruits and unconventional foods of the Andes and the rain forest of Colombia. **Food Chemistry**, London, v. 95, n. 4, p. 644-652, 2006.

LIMA, A. et al. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa de pequi (*Caryocar* brasiliense Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 695-698, 2007.

LIU, R. H. Whole grain phytochemicals and health. **Journal of Cereal Science**, London, v. 46, n. 3, p. 207-219, 2007.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas

arbóreas nativas do Brasil. 3. ed. Nova Odessa: Plantarum, 1998. 368 p.

MARIATH, J. G. R.; LIMA, M. C. C.; SANTOS, L. M. P. Vitamin A activity of buriti (*Mauritia vinifera* Mart) and its effectiveness in the treatment and prevention of xerophthalmia. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 49, n. 5, p. 849-853, 1989.

MATOS, V. P. et al. Sementes de sapoti (*Achras sapota* L.): dormência e emergência. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 33, n. 2, p. 79-82, 2003.

MATTIETTO, R. A.; LOPES, A. S.; MENEZES, H. C. Caracterização física e físicoquímica dos frutos da cajazeira (*Spondias mombin* L.) e de duas polpas obtidas por dois tipos de extrator. **Brazilian Journal of Food Tchnolology**, Campinas, v. 13, n. 3, p. 156-164, 2010.

MATUDA, T. G.; MARIA NETTO, F. Caracterização química parcial da semente de jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 353-357, 2005.

MERRIL, A. L.; WATT, B. K. **Energy value of foods**: basis and derivation. Washington: United States Department of Agriculture, 1973. 105 p.

MICALLEF, M. A.; GARG, M. L. Beyond blood lipids: phytosterols, statins and omega-3 polyunsaturated fatty acid therapy for hyperlipidemia. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 20, n. 12, p. 927-939, 2009.

ORTHOEFER, F. T. Vegetable oils. In: BAILEY, A. E. (Ed.). **Bailey's industrial oil & fat products**. 5th ed. New York: John Wiley, 1996. p. 19-43.

PIO CORREA, M. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1931. v. 2, p. 33.

PRANCE, G. T. **Árvores de Manaus**. 17. ed. Manaus: INPA, 1975. p. 223-225.

PROSKY, L. et al. Determination of insoluble and soluble dietary fibers in foods and food products. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, Gaithersburg, v. 75, n. 2; p. 360-367, 1992.

RAMFUL, D. et al. Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. **Food Research International**, Barking, v. 44, n. 7, p. 2088-2099, 2011.

RUXTON, C.; GARDNER, E.; WALKER, D. Can pure fruit and vegetable juices protect against cancer and cardiovascular disease too? A review of the evidence. **International Journal of Food Science and Nutrition**, London, v. 57, n. 3-4, p. 249–272, 2006.

SASTHE, S. K. et al. Chemical composition of edible nut seeds and its implications in human health. In: ALASALVAR, A.; SHAHIDI, F. (Eds.). **Tree nuts**: composition, phytochemicals and health effects. Boca Raton: CRC Press, 2009. p. 11-36.

SAURA-CALIXTO, F.; GOÑI, I. Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. **Food Chemistry**, London, v. 94, n. 3, p. 442-447, 2006.

SEAGRI. Secretária de Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária do Estado da Bahia. **Cultura - Sapotizeiro**. Salvador-BA, 2010. Disponível em: http://www.seagri.ba.gov.br/Sapoti.htm#Colheita. Acesso em janeiro de 2011.

SILVA, A. P. P.; MELO, B.; FERNANDES, N. **Fruteiras do cerrado**. Colaborador do Fundo Nacional do Meio Ambiente para a Rede Brasileira de Fundos Socioambientais. SIRTOLI, L. F. Superação de Dormência em sementes de araticum-cagão (Anona cacan Wern.). 2001. Disponível em: http://www.ppg.uem.br/Docs/pes/eaic/XI_EAIC/trabalhos/arquivos/11-1873-0.pdf. Acesso em dezembro de 2010.

SILVA, J. A. et al. **Frutos nativos dos cerrados.** Brasília: Embrapa-CPAC, 1994. 16 p.

SILVA, M. R. et al. Utilização tecnológica dos frutos de jatobá-do-cerrado e de jatobá-da-mata na elaboração de biscoitos fontes de fibra alimentar e isentos de açúcares. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 176-182, 2001.

SOUSA, A. G. O. et al. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food Research International**, Barking, v. 44, n. 7, p. 2319-2325, 2011.

SOUZA, V. R. et al. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food Chemistry**, London, v. 134, n. 1, p. 381-386, 2012.

TAKEMOTO, E. et al. Composição química da semente e do óleo de baru (*Dipteryx alata* Vog.) nativo do Município de Pirenópolis, Estado de Goiás. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 60, n. 2, p. 113-117, 2001.

VÁSQUEZ-OCMÍN, P. G. et al. Chemical characterization and oxidative stability of the oils from three morphotypes of *Mauritia flexuosa* L. from the Peruvian Amazon. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 61, n. 4, p. 390-397, 2010.

VEGA-GÁVEZ, A. et al. Nutrition facts and functional potential of quinoa (Chenopodium quinoa willd.), an ancient Andean grain: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 90, n. 15, p. 2541-7, 2010.

VERA, R. et al. Caracterização física de frutos do pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) no estado de Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 35, n. 2, p. 71-79, 2005.

YU, L. et al. Antioxidant properties of extracts from hard winter wheat. **Food Chemistry**, London, v. 78, n. 3, p. 457-461, 2002.

APÊNDICES

Apêndice 1 - Análise de variância para umidade (U), lipídios (L), proteínas (P), cinzas (C), fibras totais (FT), fibras solúveis (FS), fibras insolúveis (FI), carboidratos totais (CT), valor calórico (VC) e vitamina C. (Vit C).

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios									
		U	L	P	C	FT	FS	FI	CT	VC	Vit C
Tratamentos	6	9,1906**	873,1127**	96,7753**	0,8415**	1736,3362**	460,3493**	1572,4810**	150,9714**	98579,4301**	693,3256**
Resíduo	14	0,0121	0,1435	0,0006	0,0412	0,0022	0,0008	0,0007	0,0004	0,0005	0,2216
Desvio padrão		0,11	0,10	0,09	0,20	0,05	0,03	0,03	0,02	0,02	0,47
Coeficiente de variação (%)		1,51	0,50	0,58	4,27	0,11	0,36	0,07	0,19	0,10	2,15

** Significativo (p < 0,01).

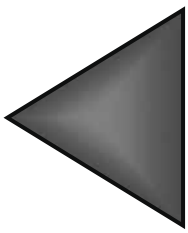
Apêndice 2 - Análise de variância para o conteúdo de minerais.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios										
		B	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Se	Zn
Tratamentos	6	3,6803**	86791,6809**	3,3785**	1,2775**	170765,8491**	218736,6960**	88,4759**	38208,7709**	114884,9684**	93,5317**	2,7339**
Resíduo	14	0,0022	0,0107	0,0013	0,0039	0,0032	0,0082	0,0053	0,0047	0,0121	0,0014	0,0026
Desvio padrão		0,05	0,10	0,06	0,20	0,06	0,09	0,07	0,07	0,11	0,04	0,05
Coeficiente de variação (%)		3,36	0,03	3,76	2,72	0,10	0,20	1,74	0,30	0,50	1,88	3,36

** Significativo ($p < 0,01$).

CAPÍTULO 2.

Propriedades físico-químicas de óleos extraídos a frio de sementes de frutos do cerrado brasileiro



RESUMO

Óleos vegetais são valorizados comercialmente devido à presença de componentes especiais, cujas propriedades físico-químicas contribuem significativamente para a aplicação destes óleos nas indústrias. O presente trabalho teve como objetivo caracterizar as propriedades físico-químicas dos óleos extraídos a frio de sementes de araticum (*Annona crassiflora* Mart.), baru (*Dipteryx alata* Vog.), buriti (*Mauritia flexuosa* L.), jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.), jenipapo (*Genipa americana* L.), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) e sapoti (*Achras sapota* L.), visando uma possível utilização para fins alimentícios ou industriais. Os óleos foram extraídos das sementes pelo método de Bligh e Dyer (1959), sendo suas propriedades determinadas por meio de métodos analíticos padrões para óleos e gorduras. Foram avaliados o teor de ácidos graxos livres, índices de acidez, de peróxidos, de iodo, de refração e de saponificação e matéria insaponificável. As determinações analíticas, em triplicata, foram submetidas às análises de variância e testes de Tukey para médias a 5% empregando o programa ESTAT, versão 2.0. As propriedades físico-químicas dos óleos extraídos a frio de sementes de frutos do cerrado brasileiro foram comparáveis às de óleos convencionais de boa qualidade, o que foi evidenciado pelos baixos teores de ácidos graxos livres, de acidez e de índices de peróxidos, inferindo baixa degradação hidrolítica e oxidativa. Analisando as propriedades gerais dos óleos obtidos, pode-se verificar interessantes potenciais para o uso dos mesmos tanto em alimentos como nas indústrias química, farmacêutica e cosmética. Tal fato pode agregar valor a produtos derivados destes óleos aumentando as fontes viáveis de matéria-prima e diminuindo o desperdício.

Palavras-chave: frutos do cerrado, saúde, análises físico-químicas, produção de óleo.

ABSTRACT

Vegetable oils are commercially valuable due to the presence of specific components, whose physicochemical properties significantly contribute to the application of these oils in industry. This study aimed to characterize the physicochemical properties of oils cold extracted from seeds of araticum (*Annona crassiflora* Mart.), baru (*Dipteryx alata* Vog.), buriti (*Mauritia flexuosa* L.), jatoba (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) genipap (*Genipa americana* L.), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) and sapodilla (*Achras sapota* L.), aiming at possible use in foods or by industry. The oils were extracted from the seeds by Bligh and Dyer (1959) method, and their properties were determined by standard methods for oils and fats. The content of free fatty acids, acidity, peroxides values, refraction, iodine and saponification and unsaponifiable matter were evaluated. The analytical determinations, in triplicate, were subjected to analysis of variance, and Tukey test for 5% average using the ESTAT program, version 2.0. The physicochemical properties of cold-pressed oils of fruit seeds from the Brazilian cerrado were comparable to those of conventional oil of good quality, which was evidenced by low levels of free fatty acids, acidity and peroxides values, implying low hydrolytic and oxidative degradation. Analyzing the general properties of the oils obtained, one can see interesting potential for using them both in foods, as well as in the chemical, pharmaceutical and cosmetic industries. This can add value to products made from these oils, by increasing the viable sources of raw materials and reducing waste.

Keywords: cerrado fruits, health, physicochemical, oil production.

1. Introdução

Os óleos e gorduras são constituídos principalmente de triacilgliceróis (> 95 %) e pequenas quantidades de mono e diacilgliceróis, ácidos graxos, fosfolipídios, glicolipídios, esteróis e outros componentes lipossolúveis, incluindo tocoferóis, tocotrienóis, carotenoides e esqualeno (TEMELLI, 2009). Estes compostos têm diferentes características físicas, químicas e propriedades fisiológicas, podendo ser utilizados na indústria de alimentos, cosmética, farmacêutica e oleoquímica, entre outras.

Óleos vegetais são vastamente consumidos em todo o mundo por serem fontes de energia e ácidos graxos essenciais e agirem como veículo para vitaminas lipossolúveis, além disso, são responsáveis pela palatabilidade, sabor e textura de alimentos, substituem a gordura de origem animal e podem ser obtidos por meio de várias espécies vegetais (IQBAL; BHANGER, 2007).

A demanda por óleos vegetais *in natura,* na culinária, com composição especial tem aumentado entre a população, representando 15% do total do consumo brasileiro de óleos vegetais. Estes óleos são valorizados comercialmente devido à presença de componentes especiais, os quais os caracterizam como alimentos funcionais (TURATTI; GOMES; ATHIE, 2002).

Devido a essa característica funcional, a introdução de óleos vegetais na dieta traz excelentes benefícios ao organismo, auxiliando na prevenção de doenças cardiovasculares, na manutenção de níveis saudáveis do colesterol, melhorando a função cerebral, combatendo os radicais livres e outras disfunções. Além disso, os óleos vegetais constituem importantes fontes de ácidos graxos essenciais (CAHOON; SCHMID, 2008), os quais o organismo necessita para suas funções básicas e não podem ser produzidos a partir de outras substâncias do organismo ou outros ácidos graxos, sendo suprido somente pela dieta (ARRANZ; PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2008; HARRIS, 2008; LAVIE, 2009).

A produção mundial de óleos vegetais para a safra 2011/2012 apresentou variações positivas quando comparada à produção anterior (2010/2011). Para o óleo de palma houve um incremento de 5,5% na produção mundial no período 2011/2012, passando de 47,93 para 50,57 milhões de toneladas. O aumento da produção de soja não foi suficiente para suprir o aumento da demanda. Na safra de 2010/2011 a produção de óleo de soja foi de 41,74 milhões de toneladas, e na safra

atual (2011/2012) observou-se um aumento de 0,70% na produção, onde 42,03 milhões de toneladas de óleo foram produzidos. A produção de óleo de canola também não variou significativamente de uma safra para a outra, com um aumento de 0,23% na produção do óleo, passando de 23,32 para 23,37 milhões de toneladas. Por outro lado, a produção mundial de óleo de girassol apresentou um incremento de 15,67%, aumento de 12,16 para 14,07 milhões de toneladas produzidas de óleo (USDA, 2012).

O cerrado brasileiro é um bioma típico da zona tropical, que mostra uma variedade de espécies vegetais de fonte oleaginosa, com conteúdos significativos de ácidos graxos, fitosteróis, tocoferóis, entre outros compostos, podendo oferecer novas perspectivas para o desenvolvimento sustentável desta região.

Atualmente, há poucos estudos sobre a caracterização de óleos extraídos de sementes de frutos do cerrado brasileiro. Assim, as propriedades destes óleos contribuirá na identificação da fração lipídica para que, os mesmos, possam ser utilizados por indústrias alimentícias. No Brasil, a obtenção de dados referentes à composição de alimentos brasileiros tem sido estimulada com o objetivo de reunir informações atualizadas, confiáveis e adequadas à realidade nacional.

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar as propriedades físico-químicas dos óleos extraídos a frio de sementes de araticum (*Annona crassiflora* Mart.), baru (*Dipteryx alata* Vog.), buriti (*Mauritia flexuosa* L.), jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.), jenipapo (*Genipa americana* L.), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) e sapoti (*Achras sapota* L.), visando uma possível utilização para fins alimentícios ou industriais.

2. Material e métodos

2.1. Material

2.1.1. Coleta dos frutos

Após período de maturação, os frutos de araticum, baru, buriti, jatobá, jenipapo, pequi e sapoti foram colhidos no campo e desprezados os que apresentavam rachaduras, danificações por insetos e/ou ataques de animais ou aves. Foram coletados três lotes destes frutos de regiões representativas de sua produtividade no cerrado brasileiro, adquiridos em diferentes períodos durante as

safras de 2009/2010. Os frutos de araticum, buriti, jenipapo e sapoti (Figura 1) foram coletados na região Nordeste do Brasil, município de Teresina - Piauí, sendo os frutos de araticum adquiridos nos meses de março e abril de 2009, os de buriti nos meses de janeiro e março de 2010, os de jenipapo e os de sapoti nos meses de julho de 2009 e janeiro de 2010. Os frutos de baru foram coletados na região Centro-Oeste, município de Goiânia - Goiás, durante o mês de outubro de 2009. Os frutos de jatobá foram coletados na região Sudeste do Brasil, município de Fronteira - Minas Gerais, no mês de novembro de 2009, enquanto que os de pequi foram coletados na região Centro-Oeste, município de Três Lagoas - Mato Grosso do Sul, durante os meses janeiro e março de 2010.

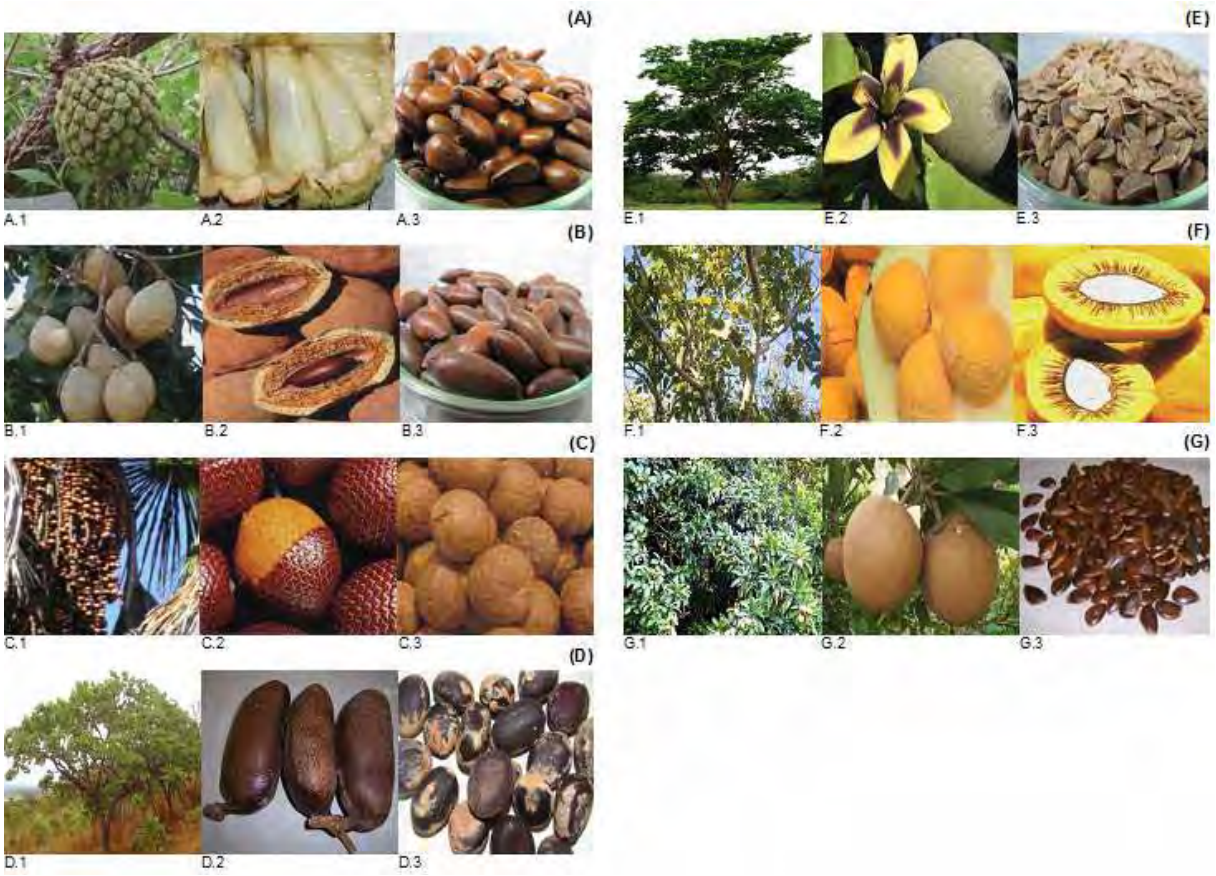
2.1.2. Preparo das amostras

Após o recebimento dos frutos, estes foram selecionados, cujas sementes foram retiradas manualmente e, em seguida, secas em bandejas, à temperatura ambiente para redução do teor de umidade (< 10%). Os lotes das sementes, pesando entre 600-1.000 g de cada fruto, foram homogeneizados e acondicionados, devidamente rotulados, em recipientes plásticos vedados com tampas de rosca e armazenados a tempetarura ambiente. No momento das análises, as sementes foram trituradas em moinho de faca, marca Marconi, modelo MA 340, para obtenção de um pó homogêneo.

2.1.3. Obtenção dos óleos

Os óleos foram obtidos por extração a frio com clorofórmio, metanol e água na proporção de 2:1:0,8 (v/v/v), respectivamente, segundo o método de Bligh e Dyer (1959). Os óleos obtidos foram acondicionados em frascos de vidro âmbar, inertizados com nitrogênio gasoso, selados e armazenados em freezer (-18ºC) até o momento das análises.

Figura 1 - Frutos do cerrado brasileiro. A: Araticum (*Annona crassiflora Mart*.); A.1: Árvore com o fruto maduro; A.2: Mesocarpo (polpa); A.3: Sementes. B: Baru *(Dipteryx alata* Vog.); B.1: Árvore com fruto maduro; B.2: Endocarpo; B.3: Sementes. C: Buriti *(Mauritia flexuosa* L.*)*; C.1: Palmeira com fruto maduro; C.2: Fruto inteiro; C.3: Sementes. D: Jatobá *(Hymenaea stigonocarpa* Mart.*)*; D.1: Árvore; D.2: Fruto inteiro; D.3: Sementes. E: Jenipapo *(Genipa americana* L.*)*; E.1: Árvore; E.2: Fruto inteiro; E.3: Sementes. F: Pequi *(Caryocar brasiliense* Camb.*)*; F.1: Árvore; F.2: Exocarpo (polpa esbranquiçada) e mesocarpo (polpa amarela); F.3: Mesocarpo (polpa amarela) e amêndoas (parte branca). G. Sapoti *(Achras sapota* L.*)*; G.1: Árvore com fruto maduro; G.2: Fruto inteiro; G.3: Sementes.



2.2. Métodos

- *Ácidos graxos livres*, realizada em titulador potenciométrico (Metrohm Ltd., Herisau, Switzerland), modelo 794, segundo método Ca 5a-40 da AOCS (2009), expressos em % de ácido oleico;
- *Índice de acidez*, calculado multiplicando-se a quantidade de ácidos graxos livres por 1,99, segundo método de Rossell (1986), expresso em mg KOH/g;
- *Índice de peróxidos*, realizado em titulador potenciométrico (Metrohm Ltd.,

Herisau, Switzerland), modelo 793, conforme método Cd 8b-90 da AOCS (2009), expresso em meq O_2/kg;

- *Índice de refração*, de acordo com o método Cc 7-25 da AOCS (2009). A leitura foi feita na escala que resulta diretamente o índice de refração absoluto a 40°C, utilizando Refratômetro de Abbé;
- *Índice de iodo*, calculado segundo o método Cd 1c-85 da AOCS (2009), expresso em g I_2/100 g;
- *Índice de saponificação*, definido pela quantidade em miligramas de hidróxido de potássio necessária para saponificar um grama de óleo ou gordura, calculado segundo o método Cd 3a-94 AOCS (2009), expresso em mg KOH/g;
- *Matéria insaponificável*, corresponde à quantidade total de substâncias dissolvidas nos óleos e gorduras, que após saponificação com álcalis são insolúveis em solução aquosa, mas solúveis em solventes, de acordo com o método Ca 6b-53 da AOCS (2009), expressa em porcentagem por peso (%).

2.3. Análise estatística

Os resultados obtidos das determinações analíticas, em triplicata, foram submetidos à análise de variância e as diferenças entre as médias foram testadas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey (BANZATTO; KRONKA, 2006), através do programa ESTAT, versão 2.0.

3. Resultados e discussão

As análises de variância para as propriedades físico-química dos óleos extraídos dos frutos do cerrado brasileiro estão apresentadas no Apêndice 1. Como observado, o teste F foi significativo ($p < 0,01$) para os tratamentos estudados, cujos resultados estão na Tabela 1.

A porcentagem de ácidos graxos livres e o índice de acidez estão relacionados com o desenvolvimento de reações hidrolíticas no óleo. É comumente utilizada uma simples relação entre estes dois parâmetros: índice de acidez = 0,503% dos ácidos graxos livres (ROSSELL, 1986).

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas* dos óleos extraídos das sementes de frutos do cerrado brasileiro.

Óleos	Ácidos graxos livres (%)	Índice de acidez (mg KOH/g)	Índice de peróxidos (meq/kg)	Índice de refração (40°C)	Índice de iodo (g I_2/100 g)	Índice de saponificação (mg KOH/g)	Matéria insaponificável (%)
Araticum	0,44 ± 0,04^{d}	0,88 ± 0,09^{d}	1,52 ± 0,02^{c}	1,4643 ± 0,0002^{a}	73,73 ± 0,12^{d}	193,43 ± 0,08^{bc}	0,66 ± 0,08^{e}
Baru	0,94 ± 0,02^{b}	1,86 ± 0,03^{b}	2,46 ± 0,06^{a}	1,4680 ± 0,0005^{a}	100,80 ± 0,35^{a}	190,23 ± 0,12^{d}	1,13 ± 0,12^{d}
Buriti	0,28 ± 0,10^{e}	0,57 ± 0,20^{e}	1,13 ± 0,07^{d}	1,4677 ± 0,0001^{a}	98,13 ± 0,25^{b}	194,05 ± 0,09^{b}	4,33 ± 0,02^{a}
Jatobá	0,65 ± 0,06^{c}	1,28 ± 0,11^{c}	1,67 ± 0,09^{bc}	1,4679 ± 0,0006^{a}	100,30 ± 0,26^{a}	192,41 ± 0,09^{c}	2,23 ± 0,02^{c}
Jenipapo	0,88 ± 0,03^{b}	1,74 ± 0,06^{b}	1,84 ± 0,14^{b}	1,4674 ± 0,0001^{a}	90,03 ± 0,06^{c}	188,43 ± 0,05^{e}	3,32 ± 0,02^{b}
Pequi	1,25 ± 0,03^{a}	2,48 ± 0,06^{a}	2,69 ± 0,01^{a}	1,4513 ± 0,0006^{a}	48,80 ± 0,17^{f}	197,85± 0,06^{a}	0,28 ± 0,05^{e}
Sapoti	0,10 ± 0,04^{f}	0,21 ± 0,06^{f}	0,80 ± 0,04^{e}	1,4541 ± 0,0001^{a}	54,63 ± 0,06^{e}	194,49 ± 0,02^{b}	0,57 ± 0,05^{e}

* Médias ± desvios padrões das análises realizadas em triplicata seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

As porcentagens de ácidos graxos livres variaram entre 0,10%, para o óleo das sementes de sapoti e 1,25% para o óleo das sementes de pequi. Além do óleo das sementes de sapoti, os demais óleos extraídos das sementes de frutos do cerrado brasileiro também apresentaram baixas porcentagens de ácidos graxos livres, o que indica o baixo desenvolvimento de hidrólise nestes óleos.

Costa (2011) analisou as características de óleos extraídos de castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*), sapucaia (*Lecythis pisonis*) e gurguéia (*Dipteryx lacunifera*) obtendo 0,15, 0,16 e 0,19%, respectivamente de ácidos graxos livres, expressos em ácido oleico.

O *Codex Alimentarium Commission* (2009) determina como parâmetro de qualidade para óleos brutos prensados a frio uma acidez máxima de 4,0 mg KOH/g. Nos óleos analisados, nenhum dos óleos extraídos das sementes de frutos do cerrado brasileiro apresentou índice de acidez superior a este valor, indicando a boa qualidade dos mesmos.

A medida do índice de peróxidos em óleos é utilizada como um indicador dos estágios iniciais de oxidação lipídica. O *Codex Alimentarium Commission* (2009) estipula para óleos refinados e brutos valores máximos de índice de peróxidos de 10 e 15 meq/kg, respectivamente. Todos os óleos analisados apresentaram índice de peróxidos abaixo de 15 meq/kg. O menor índice de peróxidos foi obtido para o óleo das sementes de sapoti (0,80 meq/kg) e o maior para o óleo das sementes de pequi (2,69 meq/kg).

Kobori e Jorge (2005) analisaram as características dos óleos das sementes de tomate, laranja, maracujá e goiaba, obtendo índices de peróxidos de 10,29, 29,4, 0,59 e 0,2 meq/kg, respectivamente. Altos valores de peróxidos indicam que, de alguma forma, o óleo foi exposto a processo oxidativo quer seja durante o preparo da matéria-prima, a extração ou ao armazenamento do óleo.

O índice de refração está relacionado, principalmente, ao grau de saturação e a razão entre duplas ligações *cis*/*trans* dos ácidos graxos, além de sofrer influência de processos oxidativos. Nos óleos analisados, o índice de refração a 40°C variou entre 1,4513 e 1,4680. Estes valores são consistentes com os verificados para óleos convencionais como algodão (1,458-1,466), milho (1,465-1,468) e soja (1,466-1,470) (CODEX ALIMENTARIUM COMMISSION, 2009).

Entre as sementes, a que apresentou óleo com maior índice de refração foi a de baru (1,4680), seguida pela jatobá (1,4679), buriti (1,4677) e jenipapo (1,4674),

cujos índices não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$).

O índice de iodo é um teste empírico que indica o grau de insaturação de um óleo e variou entre 48,80 g I_2/100 g, para o óleo das sementes de pequi a 100,80 g I_2/100 g, para o óleo das sementes de baru.

De acordo com os dados obtidos, os índices de iodo dos óleos das sementes de baru, jatobá, buriti e jenipapo foram significativamente superiores aos demais óleos analisados neste estudo. Assim como o índice de refração, o índice de iodo também é uma medida do grau de insaturação do óleo, o que explica o significante coeficiente de correlação de Pearson (0,96) entre esses dois parâmetros.

Segundo o *Codex Alimentarius Commission* (2009), o óleo de palma apresenta índice de iodo no intervalo de 50-55 g I_2/100 g, valor próximo ao encontrado no presente trabalho para o óleo de pequi. O baixo índice de iodo deste óleo indica óleo mais saturado, o que diminui a propensão à oxidação lipídica durante estocagem.

Conforme o valor do índice de iodo, os óleos vegetais podem ser classificados em secativos (índice de iodo maior que 130 g I_2/100 g), semi-secativos (índice de iodo de 115 a 130 g I_2/100 g) e não-secativos (índice de iodo menor que 115 g I_2/100 g). Os óleos conhecidos como secativos são aqueles tipicamente insaturados, capazes de formar um filme elástico pela absorção de oxigênio do ar, enquanto que, os não secativos apresentam uma quantidade maior de ácidos saturados e não são capazes de formar filme em contato com o ar. Assim, de acordo com os índices de iodo obtidos, os óleos das sementes de frutos do cerrado são classificados como não-secativos. Exemplos de óleos secativo, semi-secativo e não-secativo são os óleos de soja, milho e oliva, respectivamente (VAN DE MARK; SANDEFUR, 2005).

O índice de saponificação indica o peso molecular médio dos ácidos graxos esterificados com o glicerol na molécula de triacilglicerol, ou seja, um índice de saponificação elevado indica ácidos graxos de pesos moleculares baixos e vice-versa. Nos óleos extraídos das sementes de frutos do cerrado brasileiro, verificou-se índices de saponificação entre 188,43-197,85 mg KOH/g. Entre os óleos das sementes de frutos, os valores decresceram na seguinte ordem: pequi > sapoti > buriti > araticum > jatobá > baru > jenipapo. Estes valores são comparáveis àqueles reportados pelo *Codex Alimentarius Commission* (2009) para óleos vegetais

convencionais como milho (187-195 mg KOH/g), soja (189-195 mg KOH/g) e palma (190-209 mg KOH/g). Já em óleos extraídos das sementes de abóbora (*Cucurbita pepo* L.) e melão (*Citrullus lanatus*), os índices de saponificação obtidos foram 185,3 e 173,2 mg KOH/g, respectivamente (NYAM, et al., 2009).

A matéria insaponificável corresponde a compostos presentes nos óleos que após saponificação com álcalis são insolúveis em solução aquosa. Estes compostos consistem de impurezas, como óleo mineral ou de substâncias naturalmente presentes nos óleos como fitosteróis, tocoferóis e carotenoides.

Os valores de matéria insaponificável variaram entre 0,57 e 4,33% nos óleos analisados. Os óleos das sementes de buriti, jenipapo e jatobá foram os que apresentaram as maiores porcentagens, 4,33, 3,32 e 2,23%, respectivamente. As porcentagens de matéria insaponificável encontradas nos óleos das sementes de buriti, jenipapo e jatobá são relativamente superiores às encontradas no *Codex Alimentarium Commission* (2009) para óleos vegetais como milho (≤ 2,8%), girassol (≤ 1,5%) e soja (≤ 1,5%). O valor elevado de matéria insaponificável pode ser interessante para a indústria cosmética ou alimentícia, que pode incorporar esteróis, tocoferóis e carotenoides desses óleos na formulação de produtos.

Segundo estudo realizado por Salgado et al. (2008), óleo de abacate *(Persea americana* Mill*)* extraído com hexano e cetona (1:1) apresentou 1,72% de matéria insaponificável. Este resultado é semelhante ao óleo extraído no presente estudo para as sementes de baru (1,13%).

4. Considerações finais

As propriedades físico-químicas dos óleos extraídos a frio de sementes de frutos do cerrado brasileiro são comparáveis às de óleos convencionais de boa qualidade, o que é evidenciado pelos baixos teores de ácidos graxos livres, acidez e índice de peróxidos, inferindo baixa degradação hidrolítica e oxidativa. Quanto aos índices de iodo e refração, conclui-se que os óleos extraídos das sementes de buriti, jatobá e baru são mais insaturados quando comparados com os óleos extraídos das demais sementes. Para o índice de saponificação, observa-se que o óleo de pequi é o que apresenta ácidos graxos de menor massa molecular. De acordo com a matéria insaponificável, quantidades significativas são encontradas nos óleos, indicando possível presença de esteróis, tocoferóis e carotenóides. Analisando as

propriedades gerais dos óleos obtidos, podem-se verificar interessantes potenciais para o uso dos mesmos tanto em alimentos como nas indústrias química, farmacêutica e cosmética. Tal fato pode agregar valor a produtos derivados destes óleos aumentando as fontes viáveis de matéria-prima e diminuindo o desperdício.

5. Referências bibliográficas

AMERICAN OIL CHEMITS' SOCIETY (AOCS). **Official and tentative methods of the American Oil Chemists' Society**: including additions and revisions. 6th ed. Champaing: AOCS Press, 2009.

ARRANZ, S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant capacity of walnut (*Juglans regia* L.): contribution of oil and defatted matter. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 227, n. 2, p. 425-431, 2008.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237 p.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v. 37, p. 911-917, 1959.

CAHOON, E. B.; SCHMID, K. M. Metabolic engineering of the content and fatty acid composition of vegetable oils. In: BOHNERT, H.; NGUYEN, H.; LEWIS, N. (Eds.). **Bioengineering and molecular biology of plant pathways**. Burlington: Elsevier, 2008. p. 159-198. (Advances in Plant Biochemistry and Molecular Biology, 1)

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Codex-Stan 210**: codex standard for named vegetable oils. Rome, 2009.

COSTA, T. C**aracterização e propriedades funcionais de óleos extraídos de castanhas e nozes**. 2011. 121 f. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2011.

HARRIS, W. S. The omega-3 index as a risk factor for coronary heart disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 87, n. 6, p. 1997-2002, 2008.

IQBAL, S.; BHANGER, M. I. Stabilization of sunflower oil garlic extract during accelerated storage. **Food Chemistry**, London, v. 100, n. 1, p. 246-254, 2007.

KOBORI, C. N.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras v. 29, n. 5, p. 1008-1014, 2005.

LAVIE, C. J. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular diseases. **Journal of the American College of Cardiology**, New York, v. 54, n. 7, p. 585-594, 2009.

NYAM, K. L. et al. Physicochemical properties and bioactive compounds of selected seed oils. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 42, n. 8, p. 1396-1403, 2009.

ROSSELL, J. B. Classical analysis of oils and fats. In: HAMILTON, R. J.; ROSSELL, J. B. (Eds.). **Analysis of oils and fats**. London: Elsevier Applied Science, 1986. p. 1-90.

SALGADO, J. M. et al. O óleo de abacate (*Persea americana Mill*) como matéria-prima para a indústria alimentícia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 20-26, 2008.

TEMELLI, F. Perspectives on supercritical fluid processing of fats and oils. **Journal of Supercritical Fluids**, New York, v. 47, n. 3, p. 583-590, 2009.

TURATTI, J. M.; GOMES, R. A. R.; ATHIE, I. **Lipídios:** aspectos funcionais e novas tendências. Campinas: ITAL, 2002.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). International oil market. 2012. Available from: <www.fas.usda.gov/>. Access in: 10 março 2012.

VAN DE MARK, M. R.; SANDEFUR, K. Vegetable oils in paint and coatings. In: ERHAN, S. Z. (Ed.). **Industrial uses of vegetable oils**. Champaign: AOCS Press, 2005. p. 143-162.

APÊNDICE

Apêndice 1 - Análise de variância para ácidos graxos livres (AGL), índice de acidez (IA), índice de peróxidos (IP), índice de refração (IR), índice de iodo (II), índice de saponificação (IS) e matéria insaponificável (MI).

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios						
		AGL	IA	IP	IR	II	IS	MI
Tratamentos	6	0,4827**	1,8993**	1,3675**	0,2461**	1462,2410**	27,9305**	7,2355**
Resíduo	14	0,0006	0,0031	0,0113	0,0520	0,0433	0,2235	0,0045
Desvio padrão		0,03	0,06	0,07	0,23	0,21	0,47	0,07
Coeficiente de variação (%)		3,87	4,33	4,19	1,43	0,26	0,24	3,75

** Significativo ($p < 0,01$).

CAPÍTULO 3.

Estabilidade oxidativa e capacidade antioxidante de óleos extraídos a frio de sementes de frutos do cerrado brasileiro

RESUMO

Devido à tendencia atual pela procura cada vez maior de produtos naturais pelos consumidores, causada pela crescente preocupação com a saúde, ênfase tem sido dada ao estudo de óleos extraídos de fontes naturais com potencial poder antioxidante para fins alimentícios ou industriais. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a estabilidade oxidativa e a capacidade antioxidante de óleos extraídos a frio de sementes de frutos do cerrado brasileiro pelo interesse em melhor identificar a qualidade desses óleos, como fonte de antioxidantes naturais, a serem utilizados na indústria alimentícia. Os óleos foram extraídos das sementes de araticum (*Annona crassiflora* Mart.), baru (*Dipteryx alata* Vog.), buriti (*Mauritia flexuosa* L.), jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.), jenipapo (*Genipa americana* L.), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) e sapoti (*Achras sapota* L.), pelo método de Bligh e Dyer (1959), sendo a estabilidade oxidativa realizada em Rancimat e a capacidade antioxidante medida pelos sistemas β-caroteno/ácido linoleico, DPPH$^{\bullet}$, FRAP e ABTS$^{\bullet+}$. As determinações analíticas, em triplicata, foram submetidas às análises de variância e testes de Tukey para médias a 5% empregando o programa ESTAT, versão 2.0. De acordo com os resultados, óleos das sementes de pequi, sapoti e araticum apresentaram período de indução significativamente superior aos demais óleos analisados neste estudo, o que revela, além de uma longa vida de prateleira, a potencial aplicabilidade dos mesmos em processos que utilizam elevada temperatura. Quanto à capacidade antioxidante dos óleos, estes mostraram ter capacidade para inibir os radicais livres. Tais fatos levam a crer que os óleos destes frutos podem apresentar benefícios quando ingeridos, combatendo radicais livres *in vivo* e, ainda, servir de alternativa como fontes de antioxidantes naturais para as indústrias alimentícias, farmacêuticas e cosméticas.

Palavras-chave: antioxidantes, período de indução, deterioração oxidativa, vida de prateleira.

ABSTRACT

Due to the current trend of increasing demand for natural products by consumers, caused by the growing concern with health, emphasis has been given to the study of oils extracted from natural sources with potential for use as antioxidants in foods or by industries. Thus, the aim of this study was to evaluate the oxidative stability and antioxidant capacity of oils cold extracted from seeds of fruits from the Brazilian cerrado, for the interest in better identifying the quality of these oils as a source of natural antioxidants to be used in the food industry. The oils were extracted from seeds of araticum (*Annona crassiflora* Mart.), baru (*Dipteryx alata* Vog.), buriti (*Mauritia flexuosa* L.), jatoba (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) genipap (*Genipa americana* L.), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) and sapodilla (*Achras sapota* L.) by Bligh and Dyer (1959) method; the oxidative stability was held in Rancimat, and antioxidant systems were measured by β-carotene/linoleic acid, $DPPH^{\bullet}$, FRAP and $ABTS^{\bullet+}$. The analytical determinations, in triplicate, were subjected to analysis of variance and Tukey test for 5% average, using the ESTAT program, version 2.0. According to the results, oils of pequi, sapodilla and araticum seeds presented induction period significantly higher than the other oils analyzed in this study, which shows, besides long shelf life, potential applicability of these oils in processes that use high temperature. Concerning the antioxidant capacity of oils, these proved to have the ability to inhibit free radicals. These facts suggest that the oils of these fruits can bring benefits when ingested, by fighting free radicals in vivo, and also serve as alternative sources of natural antioxidants for the food, pharmaceutical and cosmetic industries.

Keywords: antioxidants, induction period, oxidative deterioration, shelf life.

1. Introdução

A estabilidade oxidativa é um importante aspecto relacionado à qualidade nutricional e sensorial dos óleos vegetais. A susceptibilidade de determinados óleos à oxidação limita a utilização em alimentos e cosméticos gerando, ainda, prejuízos econômicos (ARAIN et al., 2009).

A deterioração oxidativa é responsável pela formação de sabores estranhos que reduzem a qualidade e a vida de prateleira dos lipídios, além de produzir outros compostos com implicações nutricionais indesejáveis. Entre os fatores que afetam ou catalisam a oxidação lipídica, os mais importantes são a presença de ácidos graxos insaturados, luz, alta temperatura e compostos pró-oxidantes como metais e clorofila. Além disso, a estabilidade oxidativa depende da estocagem, da semente e do óleo, e das condições de processamento.

O processo da oxidação envolve principalmente a degradação dos ácidos graxos insaturados e a geração de radicais livres, que causam à perda de propriedades funcionais e valor nutritivo dos alimentos (GORDON, 2001).

O uso de antioxidantes na indústria de alimentos e seus mecanismos funcionais têm sido amplamente estudados. Uma preocupação atual das indústrias é estabelecer um controle da alteração de óleos e gorduras durante seu uso, devido à relação com a qualidade e vida de prateleira do produto. Portanto, nas últimas décadas, alguns aditivos vêm adquirindo importância significativa, devido à sua contribuição, tanto na diminuição da deterioração oxidativa, como no aumento da vida útil do produto no mercado. Dentro deste contexto, os antioxidantes têm lugar de destaque, cuja efetividade como inibidor das reações autoxidativas durante armazenamento, processamento e utilização de óleo é indiscutível e conduz sua autorização como aditivos usados em quantidades limitadas (SOUZA, 2001).

Além de prevenir a deterioração oxidativa dos lipídios, os antioxidantes naturais atuam beneficamente na saúde prevenindo o surgimento de doenças relacionadas ao envelhecimento como câncer e doenças cardíacas, pois são capazes de proteger sistemas biológicos contra a ação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, responsáveis por danos oxidativos aos lipídíos, proteínas e ácidos nucleicos (SZYDŁOWSKA-CZERNIAK et al., 2008b).

Dessa forma, os antioxidantes naturais presentes nos óleos vegetais têm sido foco de interesse científico e tecnológico nas áreas de ciência de alimentos e

nutrição, a partir de duas abordagens principais: promoção de maior estabilidade oxidativa dos óleos e bioatividade no organismo humano. A capacidade antioxidante total dos óleos vegetais, possivelmente, sintetiza de forma integrada a ação dos antioxidantes, com potencial benefício para a saúde humana e para a estabilidade de óleos vegetais específicos.

Uma grande variedade de antioxidantes naturais está presente nos óleos vegetais, tais como os tocoferóis, os carotenoides, os compostos fenólicos e os esteróis. Além disso, diversos antioxidantes sintéticos podem ser adicionados aos óleos com a finalidade de protegê-los da oxidação, tais como: butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ) (CHAIYASIT et al., 2007). Atualmente, sugere-se que a atividade dos compostos antioxidantes dependa de diversos fatores físico-químicos, como, por exemplo, interações entre os compostos antioxidantes e destes com outros componentes do meio, como ácidos graxos quimicamente ligados a fosfolipídios ou triacilgliceróis (WU et al., 2004). Portanto, o estudo de um composto, isoladamente, pode levar a resultados limitados. Por isso, existe um crescente interesse por métodos capazes de avaliar de forma integrada a ação de compostos antioxidantes presentes nos óleos vegetais.

Durante o processamento, antioxidantes naturais presentes nas sementes oleaginosas são separados em frações lipofílicas e hidrofílicas. A maioria dos antioxidantes lipofílicos é extraída com o óleo durante a prensagem e/ou extração com solvente.

Antioxidantes mais polares, no entanto, são parcialmente removidos durante a etapa de refino (SCHMIDT; POKORNÝ, 2005). Óleos extraídos a frio retêm altos níveis de antioxidantes naturais e, desta forma, apresentam elevada vida de prateleira sem a adição de antioxidantes sintéticos, promovendo, ainda, benefícios à saúde (PARKER et al., 2003).

Diante disso, o Brasil é um país que possui a maior diversidade biológica do planeta, abrigando, aproximadamente, 30% de plantas com possíveis fontes antioxidantes. Deste, o cerrado é um bioma que tem um grande número de espécies de frutos nativos e exóticos inexplorados, que são de interesse potencial para agroindústria e uma possível futura fonte de renda para a população local (ALMEIDA et al., 2011).

Dentre as espécies de frutos do cerrado, alguns são destacados neste trabalho como o araticum (*Annona crassiflora* Mart.), o baru (*Dipteryx alata* Vog.), o

buriti (*Mauritia flexuosa* L.), o jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.), o jenipapo (*Genipa americana* L.), o pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) e o sapoti (*Achras sapota* L.). O estudo do valor nutritivo dos frutos nativos do cerrado contribui para o uso sustentável, conservação, seleção de espécies promissoras, além da importância econômica destes alimentos. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a estabilidade oxidativa, em Rancimat, e a capacidade antioxidante, por diversos métodos, de óleos extraídos a frio de sementes de frutos do cerrado brasileiro pelo interesse em melhor identificar a qualidade desses óleos, como fonte de antioxidantes naturais, a serem utilizados na indústria alimentícia.

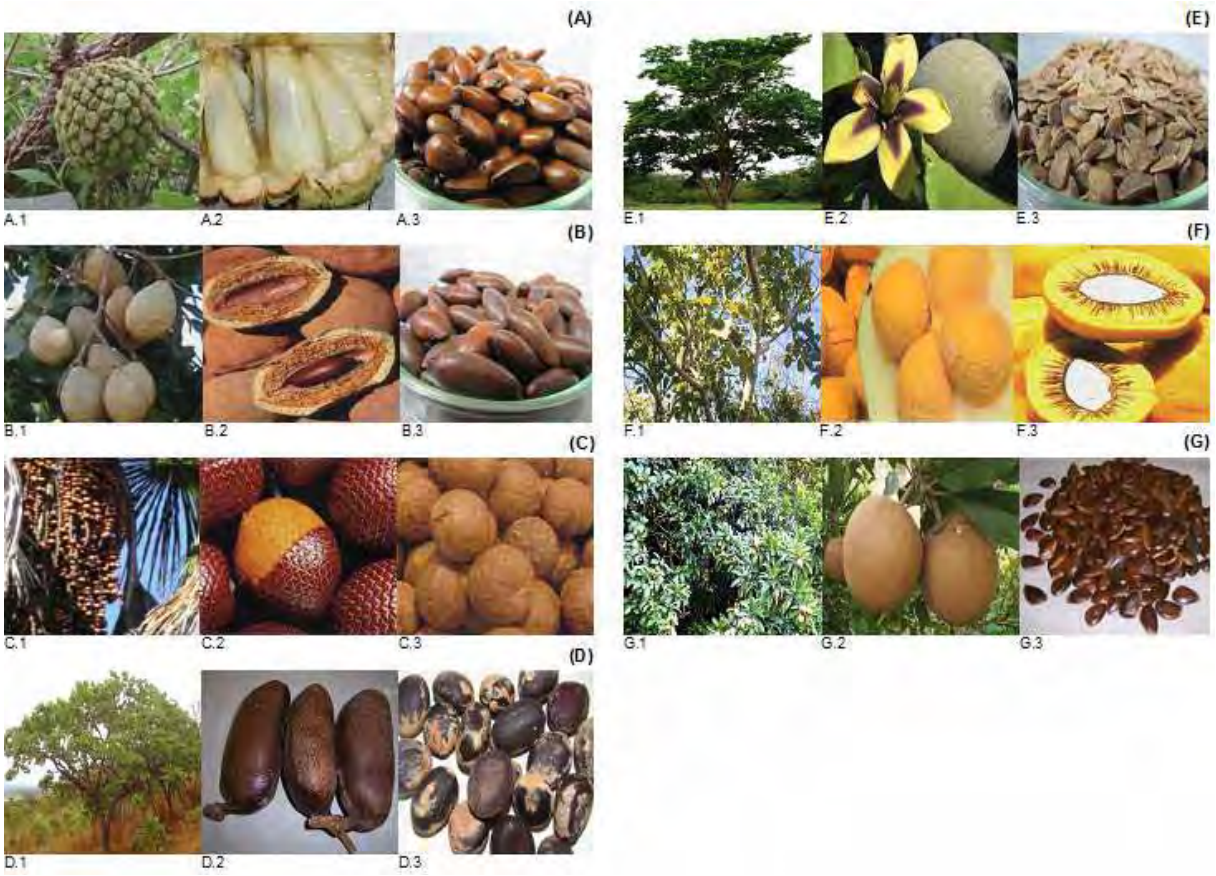
2. Material e métodos

2.1. Material

2.1.1. Coleta dos frutos

Após período de maturação, os frutos de araticum, baru, buriti, jatobá, jenipapo, pequi e sapoti foram colhidos no campo e desprezados os que apresentavam rachaduras, danificações por insetos e/ou ataques de animais ou aves. Foram coletados três lotes destes frutos de regiões representativas de sua produtividade no cerrado brasileiro, adquiridos em diferentes períodos durante as safras de 2009/2010. Os frutos de araticum, buriti, jenipapo e sapoti (Figura 1) foram coletados na região Nordeste do Brasil, município de Teresina - Piauí, sendo os frutos de araticum adquiridos nos meses de março e abril de 2009, os de buriti nos meses de janeiro e março de 2010, os de jenipapo e os de sapoti nos meses de julho de 2009 e janeiro de 2010. Os frutos de baru foram coletados na região Centro-Oeste, município de Goiânia - Goiás, durante o mês de outubro de 2009. Os frutos de jatobá foram coletados na região Sudeste do Brasil, município de Fronteira - Minas Gerais, no mês de novembro de 2009, enquanto que os de pequi foram coletados na região Centro-Oeste, município de Três Lagoas - Mato Grosso do Sul, durante os meses janeiro e março de 2010.

Figura 1 - Frutos do cerrado brasileiro. A: Araticum (*Annona crassiflora Mart*.); A.1: Árvore com o fruto maduro; A.2: Mesocarpo (polpa); A.3: Sementes. B: Baru *(Dipteryx alata* Vog.); B.1: Árvore com fruto maduro; B.2: Endocarpo; B.3: Sementes. C: Buriti *(Mauritia flexuosa* L.*)*; C.1: Palmeira com fruto maduro; C.2: Fruto inteiro; C.3: Sementes. D: Jatobá *(Hymenaea stigonocarpa* Mart.*)*; D.1: Árvore; D.2: Fruto inteiro; D.3: Sementes. E: Jenipapo *(Genipa americana* L.*)*; E.1: Árvore; E.2: Fruto inteiro; E.3: Sementes. F: Pequi *(Caryocar brasiliense* Camb.*)*; F.1: Árvore; F.2: Exocarpo (polpa esbranquiçada) e mesocarpo (polpa amarela); F.3: Mesocarpo (polpa amarela) e amêndoas (parte branca). G. Sapoti *(Achras sapota* L.*)*; G.1: Árvore com fruto maduro; G.2: Fruto inteiro; G.3: Sementes.



2.1.2. Preparo das amostras

Após o recebimento dos frutos, estes foram selecionados, cujas sementes foram retiradas manualmente e, em seguida, secas em bandejas, à temperatura ambiente para redução do teor de umidade (< 10%). Os lotes das sementes, pesando entre 600-1.000 g de cada fruto, foram homogeneizados e acondicionados, devidamente rotulados, em recipientes plásticos vedados com tampas de rosca e armazenados a tempetarura ambiente. No momento das análises, as sementes foram trituradas em moinho de faca, marca Marconi, modelo MA 340, para obtenção

de um pó homogêneo.

2.1.3. Obtenção dos óleos

Os óleos foram obtidos por extração a frio com clorofórmio, metanol e água na proporção de 2:1:0,8 (v/v/v), respectivamente, segundo o método de Bligh e Dyer (1959). Os óleos obtidos foram acondicionados em frascos de vidro âmbar, inertizados com nitrogênio gasoso, selados e armazenados em freezer (-18ºC) até o momento das análises.

2.2. Métodos

2.2.1. Índice de estabilidade oxidativa

O índice de estabilidade oxidativa foi determinado utilizando instrumento Rancimat (Metrohm Ltd., Herisau, Switzerland), modelo 743, segundo metodologia Cd 12b-92 da AOCS (2009). Amostras de óleo (3 g) foram transferidas para os tubos de reação e submetidas à oxidação a temperatura de 100°C com fluxo de ar de 20 L/h. A curva de condutividade elétrica *versus* tempo foi automaticamente registrada com o decorrer da reação de oxidação e o período de indução, expresso em horas.

2.2.2. Capacidade antioxidante

As medidas da capacidade antioxidante, listadas abaixo, foram realizadas em espetrofotômetro (Shimadzu, Chiyoda-ku, Tokyo, Japan), modelo Uv-Vis mini 1240.

- *β-caroteno/ácido linoleico,* de acordo com o método desenvolvido por Marco (1968) e modificado por Miller (1971), foi empregado ácido linoleico, Tween 40 e β-caroteno em clorofórmio. Esse sistema foi mantido a aproximadamente 50°C por 2 horas, a absorvância medida a 470 nm e o resultado expresso em porcentagem de atividade antioxidante (AA);
- *DPPH$^{\bullet}$*, determinado segundo a metodologia descrita por Kalantzakis et al. (2006), utilizando solução de DPPH$^{\bullet}$ em acetato de etila na concentração de 200 µg/mL. Após o tempo de reação de 30 minutos no escuro, a absorvância foi lida em 515 nm e o resultado foi expresso em porcentagem. A eficiência de concentração, ou seja, a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a

concentração inicial de $DPPH^{\bullet}$ em 50% (EC_{50}) foi determinada graficamente. Para tanto, amostras de óleo foram diluídas em acetato de etila em concentrações de 10, 25, 50, 75 e 100 mg/mL e lidas a 515 nm nos tempos 0 e 30 minutos. A partir dos valores de absorvância obtidos para cada concentração foram determinados os porcentuais de $DPPH^{\bullet}$ remanescentes. Em seguida, plotou-se, então, um gráfico das concentrações das amostras (mg/mL) *versus* porcentagem de $DPPH^{\bullet}$ remanescente, obtendo-se a partir da equação de regressão linear os valores de EC_{50} para cada óleo. A eficiência antirradical (EAR) dos óleos foi calculada de acordo com o método de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995);

- *FRAP,* realizado conforme metodologia descrita por Szydłowska-Czerniak et al. (2008a), empregando mistura de tampão acetato a 300 mM, solução 10 mmol/L de TPTZ a 40 mM de ácido clorídrico e 20 mmol/L de solução aquosa de cloreto férrico. Esse sistema foi mantido aproximadamente a 37°C por 30 minutos e a absorvância medida a 593 nm. Para quantificação foi gerada uma curva de calibração utilizando Trolox como padrão, em concentrações de 50 a 2.000 mmol/L, cuja equação da reta obtida foi $y = 0{,}001x + 0{,}040$ com coeficiente de determinação de 0,9900 e o resultado expresso em µmol Trolox/100 g.
- *$ABTS^{\bullet+}$,* segundo método descrito por Re et al. (1999), o radical $ABTS^{\bullet+}$ foi formado pela reação da solução a 7 mmol/L com a solução de perssulfato de potássio a 140 mmol/L, mantidos no escuro por 12-16 horas. A leitura das amostras foi realizada a 734 nm após 6 minutos de reação. Para quantificação foi gerada uma curva de calibração utilizando Trolox como padrão, em concentrações de 50 a 2.000 mmol/L, cuja equação da reta obtida foi $y = -0{,}0003x + 0{,}4887$ com coeficiente de determinação de 0,9998 e o resultado expresso em µmol Trolox/100 g.

2.3. Análise estatística

Os resultados obtidos das determinações analíticas, em triplicata, foram submetidos à análise de variância e as diferenças entre as médias foram testadas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey (BANZATTO; KRONKA, 2006), através do programa ESTAT, versão 2.0.

3. Resultados e discussão

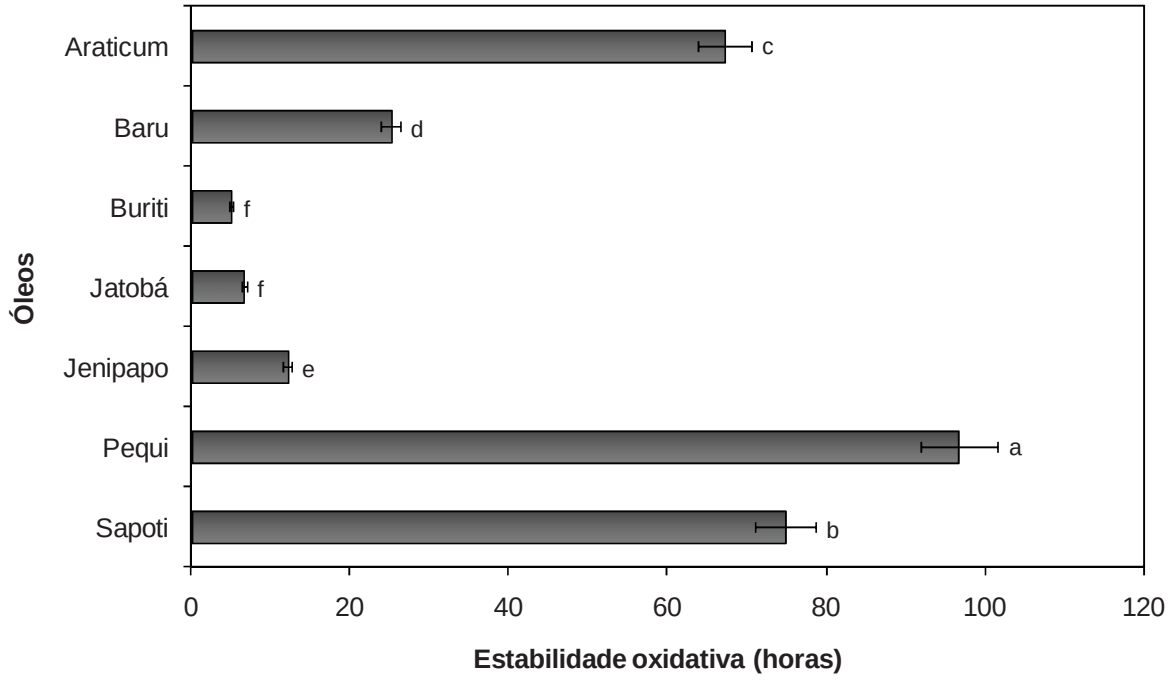
3.1. Índice de estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa é um importante parâmetro para avaliar as possíveis aplicações dos óleos em alimentos e em outros produtos comerciais.

O Apêncide 1 apresenta a análise de variância para o índice de estabilidade oxidativa dos óleos extraídos das sementes de araticum, baru, buriti, jatobá, jenipapo, pequi e sapoti. Como observado, o teste F foi significativo ($p < 0,01$) para os tratamentos estudados.

A Figura 2 mostra o resultado das médias submetidas ao teste de Tukey. Observa-se que os resultados diferiram significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) para os óleos das sementes de araticum, baru, jenipapo, pequi e sapoti, porém os óleos de buriti e jatobá não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$).

Figura 2 - Índice de estabilidade oxidativa (horas) a 100°C dos óleos extraídos das sementes de frutos do cerrado brasileiro. Médias ± desvios padrões das análises realizadas em triplicata seguidas pelas mesmas letras nas barras não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).



Com relação aos óleos analisados neste trabalho, os valores dos índices de

estabilidade oxidativa variaram entre 4,96 horas, para o óleo das sementes de buriti, a 96,7 horas, para o óleo das sementes de pequi.

Poucos dados na literatura relatam elevadas estabilidades oxidativas a 100°C como a obtida para o óleo de pequi. Rosales (1989), analisando amostras de azeite de oliva, encontrou valores entre 6,7 e 79,8 horas para a estabilidade oxidativa a 100°C com fluxo de ar de 10 L/h. Em óleos extraídos de diversas nozes foram obtidas estabilidades oxidativas a 100°C de 52,7 horas para os óleos de avelã e de 44,4 horas para pistache (ARRANZ; PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2008). Malacrida, Kimura e Jorge (2011), encontraram estabilidade oxidativa a 100°C com fluxo de ar de 20 L/h de 77,97 horas para óleo de sementes de mamão.

3.2. Capacidade antioxidante

As análises de variância para os dados β-caroteno/ácido linoleico, $DPPH^{\bullet}$, FRAP e $ABTS^{\bullet+}$ dos óleos extraídos das sementes de araticum, baru, buriti, jatobá, jenipapo, pequi e sapoti indicaram diferença significativa ($p < 0,01$) para os tratamentos estudados (Apêndice 2). A Tabela 1 mostra os resultados das médias submetidas ao teste de Tukey. Nota-se que os resultados diferiram significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Observa-se que os óleos das sementes de frutos do cerrado brasileiro apresentaram comportamento similar entre os sistemas β-caroteno/ácido linoléico, $DPPH^{\bullet}$, FRAP e $ABTS^{\bullet+}$. O óleo de buriti, seguido pelo de araticum demonstraram maior capacidade antioxidante, porém o óleo de sapoti obteve menor capacidade pelos sistemas estudados. Em estudo realizado por Szydłowska-Czerniak et al. (2011), sobre o efeito dos processos de refinação do óleo de palma, pode-se notar o mesmo comportamento para os sistemas β-caroteno/ácido linoléico e $DPPH^{\bullet}$.

A Figura 3 apresenta as curvas cinéticas dos óleos extraídos das sementes de frutos do cerrado brasileiro no sistema β-caroteno/ácido linoléico.

A presença de antioxidantes no sistema protege o ácido linoleico, prolongando o período de formação dos radicais livres (HUANG; WANG, 2004). Quanto menor a queda na absorvância da amostra, mais potente é o antioxidante em impedir a degradação do β-caroteno.

Tabela 1 - Capacidade antioxidante dos óleos extraídos das sementes de frutos do cerrado brasileiro.

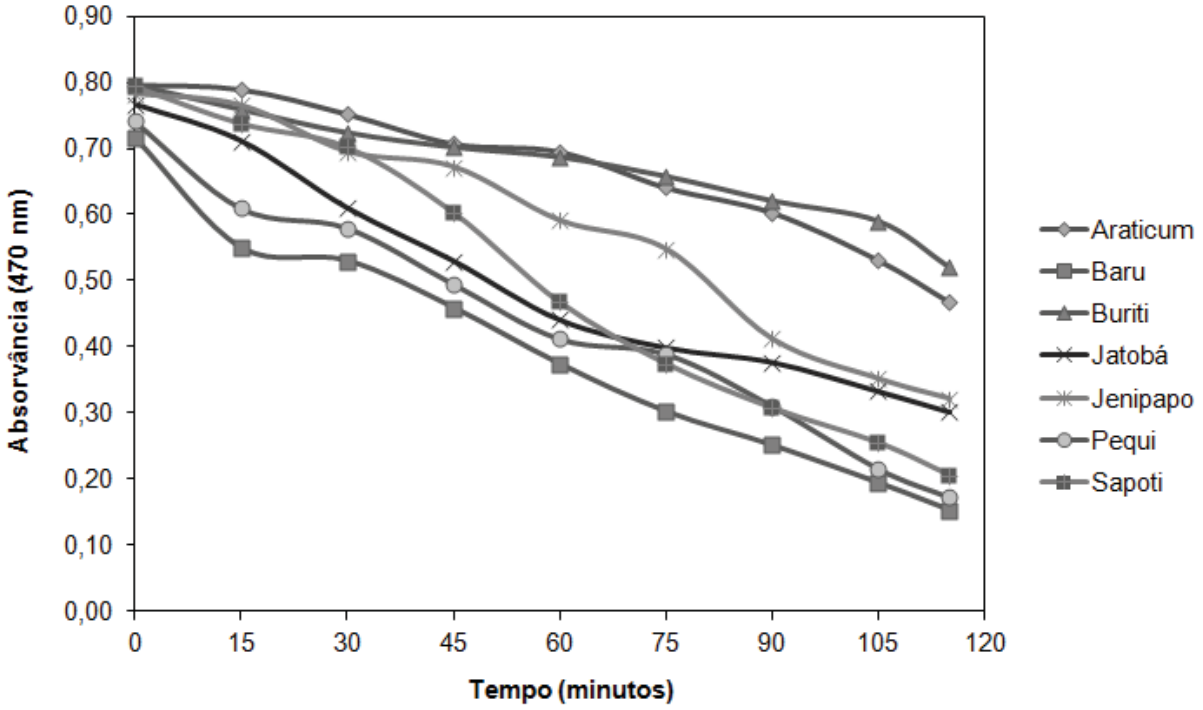
Capacidade antioxidante*	Araticum	Baru	Buriti	Jatobá	Jenipapo	Pequi	Sapoti
β-caroteno/ácido linoleico (%)	72,22 ± 0,01^{b}	44,08 ± 0,02^{g}	81,73 ± 0,03^{a}	50,87 ± 0,02^{d}	56,50 ± 0,02^{c}	46,85 ± 0,02^{f}	47,56 ± 0,02^{e}
DPPH$^{\bullet}$ (%)	87,80 ± 0,01^{b}	12,58 ± 0,06^{g}	93,18 ± 0,08^{a}	72,35 ± 0,04^{d}	86,14 ± 0,03^{c}	26,21 ± 0,09^{f}	64,48 ± 0,12^{e}
EC_{50} (mg/mL)**	8,22 ± 0,01^{f}	49,71 ± 0,03^{a}	5,16 ± 0,05^{g}	11,36 ± 0,02^{d}	9,07 ± 0,01^{e}	38,86 ± 0,04^{b}	18,22 ± 0,06^{c}
EAR (x 10^{-2})***	12,17 ± 0,01^{b}	2,01 ± 0,01^{g}	19,38 ± 0,04^{a}	8,80 ± 0,01^{d}	11,02 ± 0,01^{c}	2,57 ± 0,02^{f}	5,49 ± 0,03^{e}
FRAP (µmol Trolox/100 g)	266,47 ± 0,06^{b}	144,50 ± 0,10^{g}	379,18 ± 0,07^{a}	203,33 ± 0,06^{d}	266,02 ± 0,06^{c}	147,13 ± 0,06^{f}	159,40 ± 0,10^{e}
ABTS$^{\bullet+}$ (µmol Trolox/100 g)	65,92 ± 0,02^{b}	3,32 ± 0,03^{g}	85,71 ± 0,13^{a}	22,34 ± 0,05^{d}	34,57 ± 0,06^{c}	7,29 ± 0,03^{f}	9,46 ± 0,06^{e}

* Médias ± desvios padrões das análises realizadas em triplicata seguidas pelas mesmas letras nas linhas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

** EC_{50}, quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH$^{\bullet}$ em 50%.

*** Eficiência antirradical.

Figura 3 - Curvas cinéticas da capacidade antioxidante dos óleos extraídos das sementes de frutos do cerrado brasileiro no sistema β-caroteno/ácido linoléico.



Pode-se observar, de forma geral, que nas curvas dos óleos a degradação ocorre de forma similar, sendo que no início da reação (15 minutos) os óleos de baru e pequi têm uma queda mais acentuada, seguida pelo óleo de jatobá, que no final da reação (115 minutos), protege melhor o sistema. O óleo de sapoti apresenta uma queda mais acentuada após 30 minutos de reação. Observa-se uma queda menos acentuada nos óleos de araticum e buriti do ínício ao final da reação, mostrando que estes óleos são mais eficientes na proteção contra a degradação do β-caroteno.

Os resultados da avaliação da capacidade antioxidante, EC_{50} e eficiência antirradical dos óleos das sementes de frutos do cerrado brasileiro são apresentados na Tabela 1. Todos os óleos demonstraram capacidade sequestradora do radical $DPPH^{\bullet}$, no entanto, os óleos das sementes de baru e pequi foram os menos efetivos. Os demais óleos apresentaram atividade antioxidante superior a 50%, atingindo um valor máximo de 93,18% para o óleo de buriti.

A quantidade de óleo necessária para decrescer a concentração inicial de $DPPH^{\bullet}$ em 50% (EC_{50}) variou de 5,16 a 49,71 mg óleo/mL $DPPH^{\bullet}$.

Os óleos das sementes de buriti e araticum apresentaram os maiores

valores para a eficiência antirradical, calculada a partir do valor de EC_{50}, com 19,38 e 12,17 x 10^{-2}, respectivamente. A eficiência antirradical dos óleos analisados decresceu na seguinte ordem: buriti > araticum > jenipapo > jatobá > sapoti > pequi > baru. Em óleos de sementes de soja, girassol, canola e milho, a eficiência antirradical máxima obtida foi de 10,31 x 10^{-2} para o óleo de canola (SIGER; NOGALA-KALUCKA; LAMPART-SZCZAPA, 2008).

O sistema FRAP é comumente utilizado para estudar a capacidade antioxidante de frutos e plantas. A capacidade antioxidante dos frutos estudados variou de 144,50 µmol Trolox/100 g para o óleo de baru a 379,18 µmol Trolox/100 g para o de buriti. Szydłowska-Czerniak et al. (2008a) em estudo com diferentes óleos vegetais sobre a capacidade antioxidante pelo método de FRAP encontraram valores de 39,5-339,6 µmol Sulfato Ferroso/100 g. Além disso, outros autores encontraram resultados semelhantes para óleos de oliva e girassol, 152 e 65,3 µmol Trolox/100 g, respectivamente, e valores de 40,0, 10,8, 15,3 e 10,0 µmol Trolox/100 g foram obtidos para óleos de canola, azeite, girassol e milho, respectivamente (CHEUNG; SZETO; BENZIE, 2007; SAURA-CALIXTO, GOŇI, 2006).

Para o sistema da capacidade antioxidante por meio do $ABTS^{\bullet+}$, os óleos de frutos do cerrado brasileiro apresentaram valores de 3,32-85,71 µmol Trolox/100 g. Nakib et al. (2010), em estudo realizado com óleos de oliva extra virgem de dois cultivares da Tunisia, encontraram 2,42 µmol Trolox/kg de óleo para o cultivar *Chétoui* e 0,61 µmol Trolox/kg de óleo para o *Chemlali*.

Contreras-Calderón et al. (2011) estudaram a capacidade antioxidante de cascas, polpas e sementes de vinte e quatro frutas exóticas da Colômbia e encontraram variações de 4,93-1.690 µmol Trolox/g para o sistema FRAP e de 13,9-1.700 µmol Trolox/g para o sistema $ABTS^{\bullet+}$.

3.3. Correlação de Pearson

A análise de correlação de Pearson entre os sistemas de capacidade antioxidante (β-caroteno/ácido linoleico, $DPPH^{\bullet}$, FRAP e $ABTS^{\bullet+}$) e índice de estabilidade oxidativa, em Rancimat, estão apresentados na Tabela 2.

Embora, alguns métodos antioxidantes produzam resultados diferentes ou mesmo contraditórios, tornando-se algumas vezes impossível qualquer comparação

entre eles, a capacidade antioxidante dos óleos das sementes de frutos do cerrado, avaliada pelos diferentes sistemas, apresentaram tendências similares com correlações significativas, como observado na Tabela 2.

Porém, os sistemas de capacidade antioxidante não obtiveram correlação positiva e significativa com o índice de estabilidade oxidativa. Na literatura, apenas Arranz, Pérez-Jiménez e Saura-Calixto (2008) encontraram correlação significativa entre os métodos de DPPH$^{\bullet}$ e Rancimat, entretanto, segundo estes autores a comparação entre os dois métodos é difícil, uma vez que cada um deles foca diferentes aspectos da capacidade antioxidante dos óleos.

Tabela 2 - Coeficientes de correlação de Pearson entre os sistemas de capacidade antioxidante (β-caroteno/ácido linoleico, DPPH$^{\bullet}$, FRAP e ABTS$^{\bullet+}$) e índice de estabilidade oxidativa (IEO).

	β-caroteno/ácido linoleico	**DPPH$^{\bullet}$**	**FRAP**	**ABTS$^{\bullet+}$**
β-caroteno/ácido linoleico	1,00*	0,74*	0,92*	0,98*
DPPH$^{\bullet}$	0,74*	1,00*	0,81*	0,78*
FRAP	0,92*	0,81*	1,00*	0,96*
ABTS$^{\bullet+}$	0,98*	0,78*	0,96*	1,00*
IEO	-0,22	-0,36	-0,56	-0,34

* Significativo ($p < 0,05$).

Autores também têm encontrado correlações positivas e significativas entre os métodos de DPPH$^{\bullet}$ e ABTS$^{\bullet+}$, para análises de óleos de palma e outros óleos vegetais como oliva, canola, arroz, girassol, milho e *blendes* de óleos, obtidos por diferentes tipos de solventes (SZYDŁOWSKA-CZERNIAK et al., 2008a; SZYDŁOWSKA-CZERNIAK et al., 2011).

4. Considerações finais

Os índices de estabilidade oxidativa dos óleos das sementes de pequi, sapoti e araticum apresentam período de indução significativamente superior aos demais óleos analisados neste estudo, o que revela, além de uma longa vida de prateleira, a potencial aplicabilidade dos mesmos em processos que utilizam elevada temperatura.

Quanto à capacidade antioxidante dos óleos, estes mostram ter capacidade para inibir os radicais livres que são gerados durante a peroxidação do ácido linoleico, além de sequestrar radicais livres, pela interação com o radical $DPPH^{\bullet}$, e ainda, capacidade de redução do complexo férrico ao ferroso e do radical $ABTS^{\bullet+}$ ao ABTS.

Tais fatos levam a crer que os óleos destes frutos podem apresentar benefícios quando ingeridos, combatendo radicais livres *in vivo* e, ainda, servir de alternativa, como fontes de antioxidantes naturais, para as indústrias alimentícias, farmacêuticas e cosméticas.

5. Referências bibliográficas

ALMEIDA, M. M. B. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, Barking, v. 44, n. 7, p. 2155-2159, 2011.

AMERICAN OIL CHEMITS' SOCIETY (AOCS). **Official and tentative methods of the American Oil Chemists' Society**: including additions and revisions. 6th ed. Champaing: AOCS Press, 2009.

ARAIN, S. et al. Oxidative stability assessment of *Bauhinia purpurea* seed oil in comparison to two conventional vegetable oils by differential scanning calorimetry and Rancimat methods. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 484, n. 1-2, p. 1-3, 2009.

ARRANZ, S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant capacity of walnut (*Juglans regia* L.): contribution of oil and defatted matter. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 227, n. 2, p. 425-431, 2008.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237 p.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v*.* 37, p. 911-917, 1959.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

CHAIYASIT, W. et al. Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 47, n. 3, p. 299-317, 2007.

CHEUNG, S. C.; SZETO, Y. T.; BENZIE, I. F. Antioxidant protection of edible oils. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 62, n. 1, p. 39-42, 2007.

CONTRERAS-CALDERÓN, J. et al. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, Barking, v. 44, n. 7, p. 2047-2053, 2011.

GORDON, M., The development of oxidative rancidity in foods. In: POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. (Eds.). **Antioxidants in food**. Boca Raton: CRC Press, 2001. p. 7-21.

HUANG, L. H.; WANG, B. G. Antioxidant capacity and lipophilic content of seaweeds collected from the qingdao coastline. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 16, p. 4993-4997, 2004.

KALANTZAKIS, G. et al. Stability and radicalscavenging activity of heated olive oil and other vegetable oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 108, n. 4, p. 329-335, 2006.

MALACRIDA, C. R.; KIMURA, M.; JORGE, N. Characterization of a high oleic oil extracted from papaya (*Carica papaya* L.) seeds. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, p. 929-934, 2011.

MARCO, G. J. A rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 45, n. 9, p. 594-598, 1968.

MILLER, H. E. A simplified method for the evaluation of antioxidant. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 48, n. 2, p. 91, 1971.

NAKIB, A. et al. Evaluation of antioxidant activities of phenolic compounds from two extra virgin olive oils. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 23, n. 7, p. 711-715, 2010.

PARKER, T. D. et al. Fatty acid composition and oxidative stability of cold-pressed edible seed oils. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, n. 4, p. 1240-1243, 2003.

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

ROSALES, G. Determinacion de la estabilidad oxidativa de aceite de oliva virgenes: comparacion entre el metodo del oxigeno activo (AOM) y el metodo Rancimat. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 40, n.1, p. 1-5, 1989.

SAURA-CALIXTO, F.; GOŇI, I. Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. **Food Chemistry**, London, v. 94, n. 3, p. 442-447, 2006.

SCHMIDT, S.; POKORNÝ, J. Potential application of oilseeds as sources of antioxidants for food lipids – a review. **Czech Journal of Food Science**, Prague, v. 23, n. 3, p. 93-102, 2005.

SIGER, A.; NOGALA-KALUCKA, M.; LAMPART-SZCZAPA, E. The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. **Journal of Food Lipids**, Trumbull, v. 15, n. 2, p. 137-149, 2008.

SOUZA, W. S. M. **Termoxidação de gorduras de animais**. 2001. 79 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

SZYDŁOWSKA-CZERNIAK, A. et al. Comparison of two analytical methods for

assessing antioxidant capacity of rapeseed and olive oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago v. 85, n. 2, p. 141-149, 2008a.

SZYDŁOWSKA-CZERNIAK, A. et al. Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. **Talanta**, London, v. 76, n. 4, p. 899-905, 2008b.

SZYDŁOWSKA-CZERNIAK, A. et al. Effect of refining processes on antioxidant capacity, total contents of phenolics and carotenoids in palm oils. **Food Chemistry**, London, v. 129, n. 3, p. 1187-1192, 2011.

WU, X. et al. Development of a database for total antioxidant capacity in foods: a preliminary study. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 17, p. 407-22, 2004.

APÊNDICES

Apêndice 1 - Análise de variância para o índice de estabilidade oxidativa.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios
Tratamentos	6	4247,8342**
Resíduo	14	1,1530
Desvio padrão		1,07
Coeficiente de variação (%)		2,61

** Significativo ($p < 0,01$).

Apêndice 2 - Análises de variância para os sistemas β-caroteno/ácido linoleico, DPPH$^{\bullet}$, EC_{50}, EAR, FRAP e ABTS$^{\bullet+}$.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios					
		β-caroteno/ácido linoleico	DPPH$^{\bullet}$	EC_{50}	EAR	FRAP	ABTS$^{\bullet+}$
Tratamentos	6	618,8963**	3023,4412**	896,9875**	112,1733**	22240,6486**	3040,0263**
Resíduo	14	0,0027	0,0050	0,0007	0,0009	0,0054	0,0044
Desvio padrão		0,05	0,07	0,03	0,03	0,07	0,07
Coeficiente de variação (%)		0,10	0,11	0,13	0,35	0,03	0,20

** Significativo ($p < 0,01$).

CAPÍTULO 4.

Constituintes bioativos de óleos extraídos a frio de sementes de frutos do cerrado brasileiro

RESUMO

Os alimentos de origem vegetal constituem uma das principais fontes de compostos biologicamente ativos. Dentre as espécies, os frutos do cerrado merecem destaque, pois vêm alcançando grande aceitação popular e são consumidos *in natura* ou na fabricação de doces, sucos, sorvetes e pães. O objetivo deste estudo foi determinar os constituintes bioativos de óleos extraídos a frio das sementes de araticum (*Annona crassiflora* Mart.), baru (*Dipteryx alata* Vog.), buriti (*Mauritia flexuosa* L.), jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.), jenipapo (*Genipa americana* L.), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) e sapoti (*Achras sapota* L.), pelo interesse em melhor identificar a qualidade dessas matérias-primas do cerrado brasileiro. Os óleos dos frutos do cerrado foram caracterizados pelo conteúdo de bioativos, especialmente fitosteróis que variaram de 48,14 mg/100 g para o óleo das sementes de pequi a 3.014,45 mg/100 g para buriti. Uma tendência semelhante foi observada com o conteúdo de tocoferóis. O presente estudo também mostrou que os óleos têm boa quantidade de compostos fenólicos e carotenóides totais. O conteúdo total de ácidos graxos saturados encontrados nos óleos variou de 16,53%, para o óleo de baru a 46,28%, para o de pequi. Ácidos oleico e linoleico, respectivamente, foram detectados nos óleos de araticum (49,75 e 16,29%), baru (52,80 e 27,93%), buriti (29,12 e 41,16%), jatobá (33,22 e 40,35%), jenipapo (30,01 e 36,22%), pequi (49,99 e 2,77%) e sapoti (48,23 e 6,94%). Este trabalho demonstrou a alta qualidade dos frutos do cerrado brasileiro, e recomenda-se que os óleos destes frutos possam ser de interesse do ponto de vista funcional como uma importante fonte de bioativos a serem empregados nas indústrias farmacêuticas e cosméticas e como aditivos alimentares, a fim de desempenhar papel preventivo no aparecimento de doenças.

Palavras-chave: fitoquímicos, CG, CLAE, antioxidantes, Vitamina E, ácidos graxos.

ABSTRACT

Foods of plant origin constitute a major source of biologically active compounds. Among the species, the fruits of the cerrado are noteworthy, since they have been achieving great popular acceptance and are consumed raw or used in the manufacture of jams, juices, ice creams and breads. The aim of this study was to determine the bioactive constituents of oils cold extracted from seeds of araticum (*Annona crassiflora* Mart.), baru (*Dipteryx alata* Vog.), buriti (*Mauritia flexuosa* L.), jatoba (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) genipap (*Genipa americana* L.), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) and sapodilla (*Achras sapota* L.), for the interest of identifying the best quality of these raw materials from the Brazilian cerrado. The oils of the fruits from the cerrado were characterized by the content of bioactives, especially phytosterols, which ranged from 48.14 mg/100 g in the oil of pequi seeds, to 3014.45 mg/100 g in buriti. A similar trend was observed with the contents of tocopherols. This study also showed that the oils have great amount of polyphenols and carotenoids. The total content of saturated fatty acids found in oils ranged from 16.53% in baru oil, to 46.28% in pequi. Oleic and linoleic acids, respectively, were detected in the oils of araticum (49.75 and 16.29%), baru (52.80 and 27.93%), buriti (29.12 and 41.16%), jatoba (33.22 and 40.35%), genipap (30.01 and 36.22%), pequi (49.99 and 2.77%) and sapodilla (48.23 and 6.94%). This study demonstrated the high quality of the fruits from the Brazilian cerrado, and suggests that the oils of these fruits may be of interest from the functional point of view, as an important source of bioactives to be used in pharmaceutical and cosmetic industries and as food additives, in order to perform a preventive role in the emergence of diseases.

Keywords: phytochemicals, GC, HPLC, antioxidants, Vitamin E, fatty acids.

1. Introdução

O cerrado, bioma típico da zona tropical, é uma formação savânica que ocupa, aproximadamente, 2,0 milhões de km^2 e corresponde a 23,1% do território brasileiro, compreendendo o sul do Mato Grosso, os estados de Goiás, Tocantins, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais, o oeste da Bahia e o Distrito Federal. Estende-se ainda para fora do Brasil Central, em ilhas, como no sul do Maranhão, norte do Piauí, Rondônia e em um quinto do estado de São Paulo. Em Minas Gerais, ocupa mais de 50% do território (SILVEIRA, 1989).

Os frutos das espécies nativas do cerrado oferecem um alto valor nutricional, além de atrativos sensoriais como cor, sabor, aroma peculiares e intensos, podendo ser consumidos *in natura* ou na fabricação de doces, geleias, licores, sucos, sorvetes, bolos, pães e biscoitos (VIEIRA; COSTA, 2007).

Nos últimos anos, tem sido gerado um considerável interesse sobre a composição química de frutos e sementes silvestres. Os resultados têm demonstrado que algumas plantas são ricas em óleos e em ácido ascórbico, com a possibilidade de fontes alternativas de matéria-prima e quantidades viáveis para o processo industrial. Além de que, esses óleos extraídos de sementes podem ser fontes de nutrientes e de constituintes bioativos (HOLSER; BOST; VAN BOVEN, 2004) e, ainda, agregar valor aos alimentos processados (GARCÍA; POLO; IHA, 2003).

Compostos bioativos são constituintes extras nutricionais e ocorrem tipicamente em pequenas quantidades nos alimentos. Os constituintes bioativos têm ação funcional capazes de proporcionar benefícios à saúde, dos quais podem ser citados os fitosteróis, os tocoferóis, os compostos fenólicos, os carotenoides, os ácidos graxos essenciais, entre outros (ETTINGER, 2005; POKORNÝ, 2007).

Compostos como os fitosteróis são conhecidos por seu efeito hipocolesterolêmico (FERRETTI et al., 2010), propriedades anti-inflamatórias e antitumorais (RACETTE et al., 2009). De acordo com Weber, Weitkamp e Mukherjee (2002), o consumo de alimentos que contêm fitosteróis pode evitar a necessidade de medicamentos para indivíduos com níveis moderados de colesterol sanguíneo. Estudo clínico demonstrou que a ingestão de 1,6 a 2 g/dia de fitosteróis foi capaz de reduzir a absorção do colesterol pelo intestino em 30% e os níveis sanguíneos de lipoproteína de baixa densidade (LDL) de 8-10%. Neste estudo foi constatado que a

ingestão de até 3 g/dia de fitosteróis é segura e eficaz para se obter redução significativa da colesterolemia (MARANGONI; POLI, 2010).

Uma das principais funções da vitamina E é proteger as membranas celulares dos danos oxidativos (ESCRIVÁ et al., 2002; WANG; QUINN, 2000). Além disso, sabe-se que a vitamina E atua na prevenção de mais de 80 enfermidades, entre elas, doenças cardiovasculares, câncer e fortalecimento da função imune (CHING; MOHAMED, 2001).

Antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de radicais livres, doando um átomo de hidrogênio a um radical lipídico, e algumas vezes como quelantes de metais. Os produtos intermediários, formados pela ação destes antioxidantes, são relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentado por estas substâncias (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992). A atividade antioxidante dos compostos fenólicos é de interesse nutricional, uma vez que tem sido associada à potencialização de efeitos promotores da saúde humana pela prevenção de várias doenças, como aterosclerose e doenças cardiovasculares, diabetes, envelhecimento precoce, câncer, artrite, entre outras (GIADA; MANCINI FILHO, 2006).

Testes *in vitro* e *in vivo* sugerem que os carotenoides sequestram e inativam radicais livres. Embora teoricamente todos os carotenoides com duplas ligações conjugadas possam atuar como antioxidantes, o β-caroteno tem apresentado especial ação interagindo irreversivelmente com radicais peróxidos e formando radicais β-caroteno estáveis. Os carotenoides apresentam atividade de pró-vitamina A e antioxidante, reduzindo o risco de cânceres e doenças cardiovasculares (ROMERO et al., 2007). Possuem ainda, função antimutagênica, efeito imunomodulador, previnem degeneração macular e diminuem riscos de catarata (DIAS; CAMÕES; OLIVEIRA, 2009).

Os ácidos graxos essenciais diminuem a concentração de LDL-colesterol no sangue, sendo que os ácidos n-3 também reduzem os níveis de triglicerídios plasmáticos. Além disso, estes ácidos graxos se incorporam às membranas celulares, combinando-se com fosfolipídios, onde são precursores de eicosanóides (prostaglandinas, prostaciclinas, tromboxanos e leucotrienos), os quais interferem em inúmeros processos fisiológicos tais como a coagulação sanguínea, processos inflamatórios (asma, fibrose cística, entre outros) e imunológicos (REISMAN et al., 2006; RUBIO-RODRÍGUEZ et al., 2010).

Assim, o objetivo deste estudo foi quantificar os constituintes bioativos de óleos extraídos a frio das sementes de araticum (*Annona crassiflora* Mart.), baru (*Dipteryx alata* Vog.), buriti (*Mauritia flexuosa* L.), jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.), jenipapo (*Genipa americana* L.), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) e sapoti (*Achras sapota* L.), pelo interesse em melhor identificar a qualidade dessas matérias-primas do cerrado brasileiro.

2. Material e métodos

2.1. Material

2.1.1. Coleta dos frutos

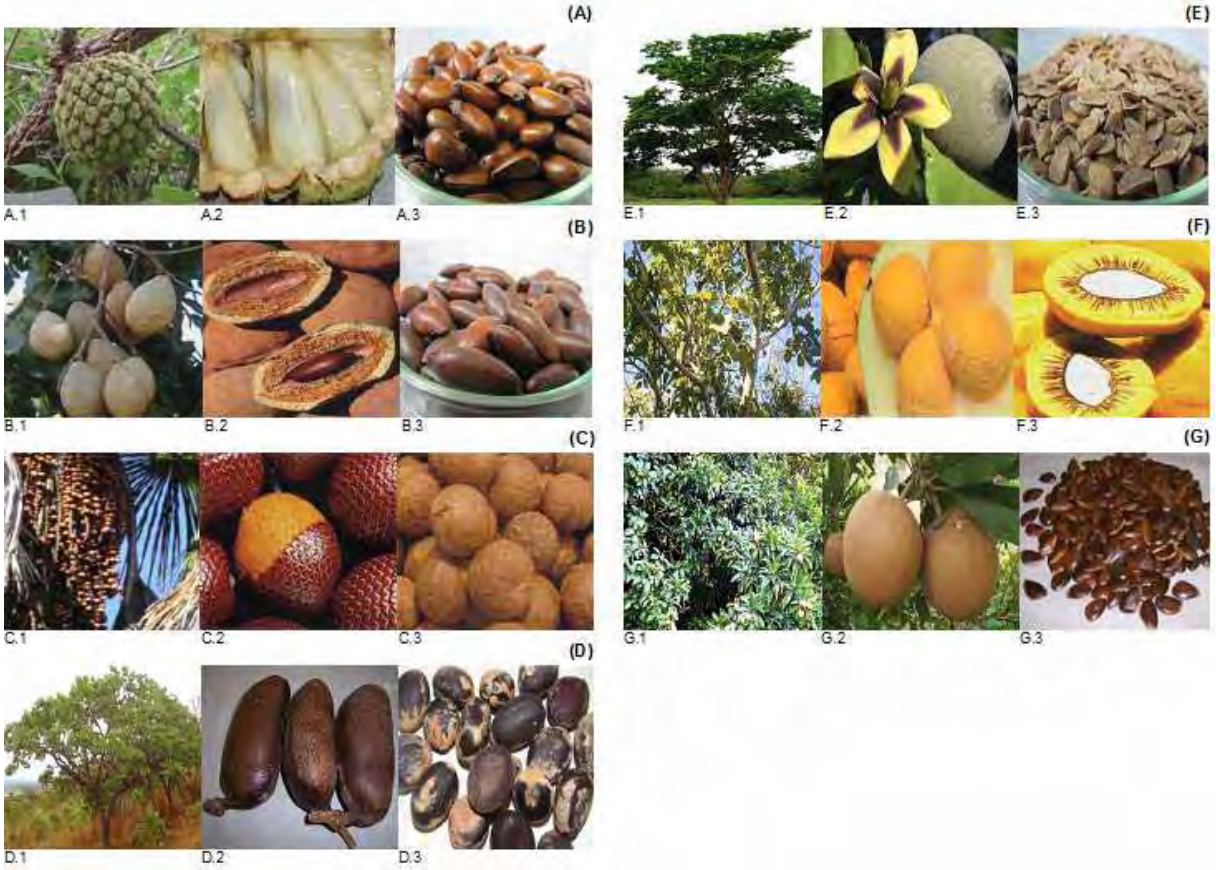
Após período de maturação, os frutos de araticum, baru, buriti, jatobá, jenipapo, pequi e sapoti foram colhidos no campo e desprezados os que apresentavam rachaduras, danificações por insetos e/ou ataques de animais ou aves. Foram coletados três lotes destes frutos de regiões representativas de sua produtividade no cerrado brasileiro, adquiridos em diferentes períodos durante as safras de 2009/2010. Os frutos de araticum, buriti, jenipapo e sapoti (Figura 1) foram coletados na região Nordeste do Brasil, município de Teresina - Piauí, sendo os frutos de araticum adquiridos nos meses de março e abril de 2009, os de buriti nos meses de janeiro e março de 2010, os de jenipapo e os de sapoti nos meses de julho de 2009 e janeiro de 2010. Os frutos de baru foram coletados na região Centro-Oeste, município de Goiânia - Goiás, durante o mês de outubro de 2009. Os frutos de jatobá foram coletados na região Sudeste do Brasil, município de Fronteira - Minas Gerais, no mês de novembro de 2009, enquanto que os de pequi foram coletados na região Centro-Oeste, município de Três Lagoas - Mato Grosso do Sul, durante os meses janeiro e março de 2010.

2.1.2. Preparo das amostras

Após o recebimento dos frutos, estes foram selecionados, cujas sementes foram retiradas manualmente e, em seguida, secas em bandejas, à temperatura ambiente para redução do teor de umidade (< 10%). Os lotes das sementes, pesando entre 600-1.000 g de cada fruto, foram homogeneizados e acondicionados, devidamente rotulados, em recipientes plásticos vedados com tampas de rosca e

armazenados a tempetarura ambiente. No momento das análises, as sementes foram trituradas em moinho de faca, marca Marconi, modelo MA 340, para obtenção de um pó homogêneo.

Figura 1 - Frutos do cerrado brasileiro. A: Araticum (*Annona crassiflora Mart*.); A.1: Árvore com o fruto maduro; A.2: Mesocarpo (polpa); A.3: Sementes. B: Baru *(Dipteryx alata* Vog.); B.1: Árvore com fruto maduro; B.2: Endocarpo; B.3: Sementes. C: Buriti *(Mauritia flexuosa* L.*)*; C.1: Palmeira com fruto maduro; C.2: Fruto inteiro; C.3: Sementes. D: Jatobá *(Hymenaea stigonocarpa* Mart.*)*; D.1: Árvore; D.2: Fruto inteiro; D.3: Sementes. E: Jenipapo *(Genipa americana* L.*)*; E.1: Árvore; E.2: Fruto inteiro; E.3: Sementes. F: Pequi *(Caryocar brasiliense* Camb.*)*; F.1: Árvore; F.2: Exocarpo (polpa esbranquiçada) e mesocarpo (polpa amarela); F.3: Mesocarpo (polpa amarela) e amêndoas (parte branca). G. Sapoti *(Achras sapota* L.*)*; G.1: Árvore com fruto maduro; G.2: Fruto inteiro; G.3: Sementes.



2.1.3. Obtenção dos óleos

A extração lipídica foi obtida a frio com clorofórmio, metanol e água na proporção de 2:1:0,8 (v/v/v), respectivamente, segundo o método de Bligh e Dyer (1959). O óleo obtido foi acondicionado em frasco de vidro âmbar, inertizado com

nitrogênio gasoso e armazenado em freezer (-18ºC) para análises posteriores.

2.2. Métodos

2.2.1. Fitosteróis

A composição de fitosteróis foi determinada por cromatografia gasosa com saponificação prévia da amostra. A saponificação foi realizada conforme a metodologia UMA 0069 publicada por Duchateau et al. (2002). Para a determinação do teor de fitosteróis foi utilizado o método Ch 6-91 da AOCS (2009) com adaptações. A análise foi realizada em CG (Shimadzu, Chiyoda-ku, Tokyo, Japan), modelo Plus-2010, com detector de ionização de chama, injetor *split* e amostrador automático. Condições de análise: coluna capilar de sílica fundida (Restek RTX 5, Shimadzu, Chiyoda-ku, Tokyo, Japan) de 30 m de comprimento, com diâmetro interno de 0,25 mm e espessura do filme de 0,25 µm. A programação de temperatura da coluna foi iniciada em 100°C por 2 minutos, aquecida a 15°C/min até 260°C e mantida em isoterma durante 35 minutos. As temperaturas utilizadas no injetor e no detector foram 280 e 320°C, respectivamente. O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio com velocidade linear de 40 mL/min. Os fitosteróis foram identificados por comparação com o tempo de retenção dos padrões puros analisados nas mesmas condições das amostras. A quantificação de cada isômero foi realizada por padronização interna (β-colestanol = 5α-cholestano-3β-ol, grau de pureza de 95%) com base nas áreas dos picos, utilizando padrões de colesterol, campesterol, estigmasterol, β-sitosterol e estigmastanol (Supelco, Bellefonte, USA) com grau de pureza de 99, 99, 95, 98 e 97,4%, respectivamente. Os teores de fitosteróis individuais foram expressos como mg por 100 g de óleo (mg/100 g).

2.2.2. Tocoferóis

O teor de tocoferóis foi determinado utilizando o método da Ce 8-89 da AOCS (2009). A análise foi realizada por CLAE (Varian Inc., Walnut Creek, CA, USA), modelo 210-263, com detector de fluorescência. Condições de análise: coluna de aço inox empacotada com sílica (Microsorb 100 Si, Varian Inc., Walnut Creek, CA, USA) de 250 x 4,6 mm com poro de 0,5 µm e comprimento de onda de excitação em 290 nm e de emissão em 330 nm. A separação cromatográfica foi realizada por eluição isocrática de fase móvel constituída de n-hexano:álcool

isopropílico (95,5:0,5 v/v) com fluxo de 1,2 mL/min. Os tocoferóis foram identificados por comparação com o tempo de retenção dos padrões puros analisados nas mesmas condições das amostras. A quantificação de cada isômero foi realizada por padronização externa com base nas áreas dos picos, utilizando padrões de α-, β-, γ- e δ-tocoferol (Supelco, Bellefonte, USA) com grau de pureza de 99,9, 98,0, 99,4 e 99,6%, respectivamente. Os teores de tocoferóis individuais foram expressos como mg por kg de óleo (mg/kg).

2.2.3. Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram extraídos das frações lipídicas seguindo procedimento descrito por Parry et al. (2005). Uma alíquota de fração lipídica (1 g) foi agitada em *vortex* com 3 mL de álcool metílico, em seguida centrifugada a 3.000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante coletado. Este procedimento foi repetido três vezes. Os sobrenadantes foram combinados e o volume completado para 10 mL com álcool metílico. Os compostos fenólicos foram quantificados no extrato resultante por espectrofotometria, utilizando reagente de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). Uma alíquota do extrato metanólico (0,1 mL) foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL e misturada a 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu. Adicionou-se 1,5 mL de solução saturada de carbonato de sódio (20%) e completou-se o volume com água destilada. Após duas horas de reação a temperatura ambiente, a absorvância da mistura foi medida a 765 nm em espectrofotômetro (Shimadzu, Chiyoda-ku, Tokyo, Japan), modelo Uv-Vis mini 1240, e utilizada para calcular o conteúdo de compostos fenólicos totais nas frações lipídicas. Para quantificação foi gerada uma curva de calibração utilizando ácido gálico como padrão, em concentrações de 0 a 500 mg/L, nas mesmas condições descritas acima. A equação da curva de calibração obtida foi $y = 0,001x + 0,015$ com coeficiente de determinação de 0,9974. Os teores de compostos fenólicos totais foram expressos como mg de equivalentes de acido gálico por grama de óleo (mg EAG/g).

2.2.4. Carotenoides totais

O conteúdo de carotenoides totais foi realizado por espectrofotometria de varredura (Shimadzu, Chiyoda-ku, Tokyo, Japan), modelo Uv-Vis mini 1240, segundo metodologia descrita por Rodriguez-Amaya (2001). A quantificação foi

efetuada pela absorção no comprimento de onda de absorção máxima e com o valor de A de 2592, em éter de petróleo. Os valores foram expressos como µg de β-caroteno por grama de óleo (µg β-caroteno/g).

2.2.5. Ácidos graxos

A composição de ácidos graxos foi determinada por meio dos ésteres metílicos dos ácidos graxos presentes na fração lipídica segundo procedimento descrito pela Ce 2-66 da AOCS (2009). Para a determinação dos ácidos graxos foi utilizado o método Ce 1-62 da AOCS (2009) com adaptações. A análise foi realizada em CG (Varian Inc., Walnut Creek, CA, USA), modelo 3900, com detector de ionização de chama, injetor *split* e amostrador automático. Condições de análise: coluna capilar de sílica fundida (CP-Sil 88, Microsorb, Varian Inc., Walnut Creek, CA, USA) de 60 m de comprimento, com diâmetro interno de 0,25 mm e espessura do filme de 0,20 µm. A programação de temperatura da coluna foi iniciada em 90°C por 4 minutos, aquecida a 10°C/min até 195°C e mantida em isoterma durante 16 min. As temperaturas utilizadas no injetor e no detector foram 230 e 250°C, respectivamente. O gás de arraste foi o hidrogênio com velocidade linear de 30 mL/min. Os ácidos graxos foram identificados pela comparação dos tempos de retenção de padrões puros de ésteres metílicos de ácidos graxos com os componentes separados das amostras e a quantificação foi feita por normalização de área. Utilizou-se como padrão uma mistura composta de 37 ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco, Bellefonte, USA) de C4:0 a C24:1, com pureza entre 99,1 e 99,9%.

2.3. Análise estatística

Os resultados obtidos das determinações analíticas, em triplicata, foram submetidos à análise de variância e as diferenças entre as médias foram testadas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey (BANZATTO; KRONKA, 2006), através do programa ESTAT, versão 2.0.

3. Resultados e discussão

3.1. Fitosteróis e tocoferóis

Os Apêncides 1 e 2 apresentam as análises de variância para os conteúdos de esteróis e tocoferóis dos óleos extraídos das sementes de araticum, baru, buriti, jatobá, jenipapo, pequi e sapoti. Como observado, o teste F foi significativo ($p < 0,01$) para os tratamemntos estudados.

A concentração de óleo e a identificação detalhada e quantificada dos constituintes bioativos, esteróis e tocoferóis, presentes nos óleos extraídos de diferentes frutos do cerrado brasileiro estão apresentadas na Tabela 1, que mostra o resultado das médias submetidas ao teste de Tukey. Observa-se que os resultados diferiram significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) para os óleos das sementes estudadas.

As porcentagens de óleos nas sementes variaram de 3,81 a 51,58%. As sementes de araticum, baru e pequi foram as que apresentaram maiores teores, 28,84, 38,47 e 51,58%, respectivamente. Outros autores também encontraram elevadas quantidades de óleos em sementes de baru e pequi (AQUINO et al., 2009; LIMA et al., 2007; TAKEMOTO et al., 2001).

Elevado teor de lipídios totais encontrados nas sementes pode ser considerado economicamente atraente para a extração industrial, especialmente quando comparado com outras oleaginosas, como milho e soja, que mostram um conteúdo lipídico de 3,1-5,7% e 18-20%, respectivamente (O'BRIEN, 2004).

Os fitosteróis são os constituintes que estão presentes na fração insaponificável da matéria vegetal. A maioria dos óleos vegetais contém de 100-1.500 mg/100 g de óleo, sendo o β-sitosterol presente em maior quantidade. A Tabela 1 mostra os resultados obtidos das médias submetidas ao teste de Tukey. Verifica-se, que os dados diferiram significativamente ($p < 0,05$) para os óleos extraídos das sementes estudadas.

Tabela 1. Conteúdo de óleo e concentrações de esteróis e tocoferóis de óleos extraídos de diferentes frutos do cerrado brasileiro.

Bioativos	Araticum	Baru	Buriti	Jatobá	Jenipapo	Pequi	Sapoti
Óleo (%)*	28,84 ± 0,06^{c}	38,47 ± 0,08^{b}	3,81 ± 0,09^{g}	5,71 ± 0,04^{f}	11,51 ± 0,11^{e}	51,58 ± 0,10^{a}	12,40 ± 0,18^{d}
Esteróis (mg/100 g)*							
Colesterol	1,65 ± 0,02^{e}	1,52 ± 0,03^{f}	9,32 ± 0,14^{a}	4,53 ± 0,02^{b}	2,06 ± 0,11^{d}	2,12 ± 0,02^{c}	1,68 ± 0,02^{e}
Campesterol	20,43 ± 0,01^{e}	27,20 ± 0,02^{d}	311,81 ± 0,47^{a}	158,75 ± 0,50^{b}	156,32 ± 0,75^{c}	8,48 ± 0,05^{f}	5,29 ± 0,03^{g}
Estigmasterol	17,92 ± 0,14^{f}	23,89 ± 1,40^{e}	606,04 ± 0,57^{a}	82,35 ± 1,35^{b}	77,39 ± 0,64^{c}	28,24 ± 1,12^{d}	5,32 ± 0,03^{g}
β-sitosterol	30,00 ± 1,30^{f}	69,12 ± 0,47^{d}	998,14 ± 0,99^{a}	982,63 ± 0,29^{b}	490,90 ± 1,00^{c}	9,30 ± 0,52^{g}	58,61 ± 0,08^{e}
Estigmastanol	nd	nd	962,17 ± 0,80^{a}	33,55 ± 1,07^{b}	30,51 ± 0,94^{c}	nd	nd
Δ-5-avenasterol	nd	nd	61,63 ± 0,01^{a}	nd	nd	nd	nd
Δ-7-avenasterol	nd	nd	65,34 ± 0,04^{c}	71,89 ± 0,04^{b}	151,79 ± 0,08^{a}	nd	nd
Totais	70,00^{e}	121,73^{d}	3.014,45^{a}	1.333,70^{b}	908,97^{c}	48,14^{f}	70,90^{e}
Tocoferóis (mg/kg)*							
α-	22,02 ± 0,13^{e}	20,36 ± 0,22^{f}	992,30 ± 0,38^{a}	810,21 ± 0,36^{b}	520,10 ± 0,03^{c}	32,06 ± 0,30^{d}	32,22 ± 0,03^{d}
(β + γ)-	126,72 ± 0,40^{e}	339,64 ± 0,32^{b}	353,92 ± 0,31^{a}	223,42 ± 0,19^{c}	128,38 ± 0,18^{d}	40,25 ± 0,35^{g}	69,10 ± 0,01^{f}
δ-	nd	15,29 ± 0,23^{e}	nd	81,94 ± 0,09^{a}	40,25 ± 0,17^{b}	20,26 ± 0,18^{d}	22,40 ± 0,12^{c}
Totais	148,74^{e}	375,29^{d}	1.346,22^{a}	1.115,57^{b}	688,73^{c}	92,57^{g}	123,72^{f}
Vitamina E**	24,69^{g}	44,90^{d}	1.027,69^{a}	833,37^{b}	533,34^{c}	36,29^{f}	39,35^{e}

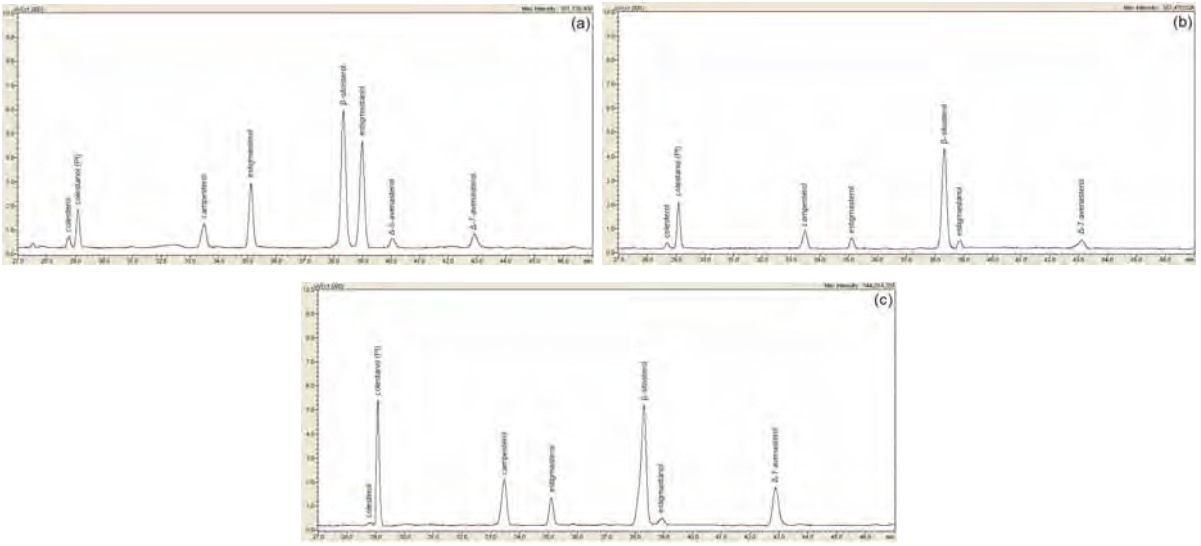
* Médias ± desvios padrões das análises realizadas em triplicata seguidas pelas mesmas letras nas linhas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

** Quantidade de Vitamina E expressa como equivalentes de α-tocoferol (mg/kg). Os fatores de conversão para a Vitamina E foram os seguintes: α-tocoferol x 1,00; β-tocoferol x 0,40; γ-tocoferol x 0,1; δ-tocoferol x 0,01 (MCLAUGHLIN; WEIHRAUCH, 1979).

nd - não detectado (estigmastanol ≤ 4,25 mg/100 g; Δ-5-avenasterol ≤ 5,60 mg/100 g; Δ-7-avenasterol ≤ 5,92 mg/100 g; δ-tocoferol ≤ 2,30 mg/kg).

Os valores de esteróis totais variaram de 48,14 mg/100 g para o óleo das sementes de pequi a 3.014,45 mg/100 g para buriti. O colesterol, campesterol, estigmasterol e β-sitosterol foram encontrados em todos os óleos, sendo o β-sitosterol o esterol mais abundante destacando-se nos óleos de buriti, jatobá e jenipapo, onde foram detectados teores de aproximadamente 998, 983 e 491 mg/100 g, respectivamente (Figura 2). Nesses óleos também foram identificados teores significativos de estigmastanol e Δ-7-avenasterol. Dentre as amostras estudadas, o Δ-5-avenasterol foi detectado somente na amostra de buriti com 61,63 mg/100 g.

Figura 2 - Cromatogramas da composição de fitosteróis dos óleos extraídos das sementes de buriti (a), jatobá (b) e jenipapo (c).



Nos óleos extraídos das sementes, o colesterol representou de 0,23-4,40% do total de esteróis, o campesterol de 7,46-29,19%, o estigmasterol de 6,17-58,66%, o β-sitosterol de 19,32-82,67%, o estigmastanol de 2,52-31,92% e o Δ-7-avenasterol de 2,17-16,70%. Os valores totais obtidos são comparáveis àqueles reportados pelo *Codex Alimentarius Commission* (2009) para óleos vegetais como o de gergelim (450-1.900 mg/100 g), milho (700-2.210 mg/100 g) e farelo de arroz (1.050-3.100 mg/100 g).

De acordo com os resultados obtidos, os óleos das sementes de buriti, jatobá e jenipapo apresentaram composições de esteróis totais significativamente superiores aos demais óleos analisados neste estudo.

Segundo estudos, óleos extraídos de frutos apresentam significantes fontes

de fitosteróis. Masson, Camilo e Torija (2008) caracterizaram o óleo extraído de coco de palma chileno (*Jubae chilensis*) e obtiveram teores de fitosteróis totais de 1.005 mg/kg. Em óleos extraídos de castanhas de frutas brasileiras, Costa et al. (2010) encontraram 250 mg/kg de fitosteróis totais para sementes extraídas de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) e 2.330 mg/kg nas sementes de jenipapo (*Genipa americana* L.).

Marangoni e Poli (2010), em revisão sobre o conteúdo de fitosteróis em diversos alimentos, constataram que os teores de fitosteróis totais decresceram de 300 a 180 mg/kg na seguinte ordem: arroz (*Oryza sativa)* > laranja (*Citrus sinensis* L.) > limão (*Citrus limon*). Já, Kalogeropoulos et al. (2010) analisaram os compostos bioativos de legumes consumidos em países do Mediterrâneo e obtiveram teores de 229 mg/kg de fitosteróis totais para lentilhas grandes (*Lens culinaris*).

Djenontin et al. (2012), em estudo sobre a composição de óleo extraído de sementes de andiroba (*Carapa procera*), encontraram 249 mg/100 g de fitosteróis totais.

Na Tabela 1 também estão apresentadas as composições de tocoferóis dos óleos extraídos das sementes de frutos do cerrado. As concentrações de tocoferóis totais variaram de 92,57 a 1.346,22 mg/kg nos óleos analisados. Os isômeros, β- e δ-tocoferol, foram encontrados em baixas quantidades nos óleos, entretanto, os teores de α- e γ-tocoferol foram predominantes em todos os óleos extraídos das sementes de frutos do cerrado brasileiro.

Enquanto o α-tocoferol apresenta a maior atividade biológica como vitamina E, o γ- e o δ-tocoferol possuem maior atividade antioxidante (SHAHIDI; NACZK, 1995; SCHMIDT; POKORNÝ, 2005).

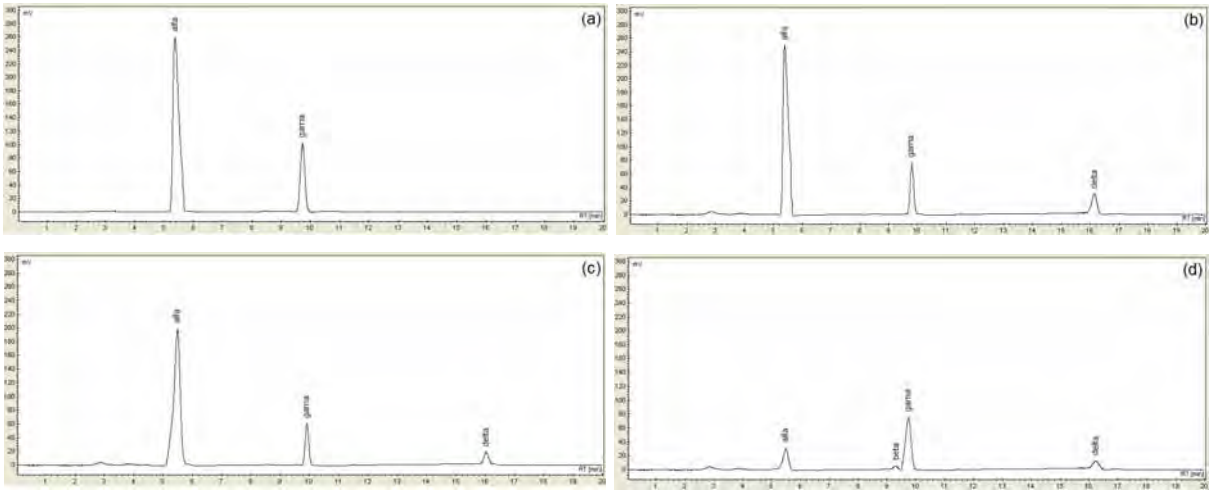
Embora o δ-tocoferol seja encontrado naturalmente em pequenas quantidades nos lipídios, foi quantificado nos óleos analisados em concentrações de nd a 81,94 mg/kg. O óleo de jatobá foi o que apresentou maior quantidade de δ-tocoferol, representando cerca de 7% do total de tocoferóis.

Conforme mostra a Tabela 1, os óleos extraídos das sementes apresentaram perfis de tocoferóis semelhantes. Nesses óleos, o α-tocoferol representou de 5,42-75,52% do total de tocoferóis e o γ-tocoferol de 18,64-90,12%. De acordo com o *Codex Alimentarium Commission* (2009), os óleos que apresentam teor de α-tocoferol predominante são: girassol (403-935 mg/kg), palma (30-280

mg/kg) e uva (16-38 mg/kg). Já os óleos de milho (268-2.468 mg/kg), soja (89-2.307 mg/kg) e gergelim (521-983 mg/kg) têm o γ-tocoferol como predominante.

Os óleos extraídos das sementes de buriti, jatobá, jenipapo e baru foram os que apresentaram as maiores concentrações de tocoferóis totais com valores de 1.346,22, 1.115,57, 688,73 e 375,29 mg/kg, respectivamente (Figura 3). Estas concentrações são semelhantes às encontradas, segundo o *Codex Alimentarium Commission* (2009), em óleos de algodão (380-1.200 mg/kg), uva (240-410 mg/kg) e açafrão (240-670 mg/kg). Por outro lado, o óleo de sementes de pequi foi o que apresentou a menor concentração de tocoferóis totais (92,57 mg/kg) entre os óleos analisados, sendo o γ-tocoferol predominante com 41,29%, seguido pelo α-tocoferol com 34,63%.

Figura 3 - Cromatogramas da composição de tocoferóis dos óleos extraídos das sementes de buriti (a), jatobá (b), jenipapo (c) e baru (d).



Em estudos realizados sobre constituintes bioativos encontrados em sementes oleaginosas, Bozan e Temelli (2008) obtiveram valor de 141 mg/kg de tocoferóis em sementes de linhaça (*Linum usitatissimum*) e Alasalvar et al. (2009) detectaram quantidades significantes de tocoferóis totais em avelãs (*Corylus avellana* L.) com valor de 463 mg/kg.

Em revisão sobre os benefícios das castanhas relacionados com a saúde, Yang (2009) encontrou 122 mg/kg de tocoferóis totais para a macadâmia (*Macadamia integrifolia)* e 291 mg/kg para o pistache (*Pistacia vera* L.).

Em relação ao conteúdo de Vitamina E, expresso como α-tocoferol presente

nos óleos extraídos das sementes de frutos do cerrado brasileiro, os resultados variaram de 24,69 mg/kg para o óleo de araticum a 1.027,69 mg/kg para o de buriti. De acordo com a RDC n°. 269, de 22 de setembro de 2005, a Ingestão Diária Recomendada (IDR) para a Vitamina E é de 10 mg/dia de α-tocoferol (BRASIL, 2005). Diante disso, os óleos extraídos das sementes dos frutos do cerrado são uma excelente fonte dessa vitamina, podendo atender às necessidades diárias de adultos e gestantes.

3.2. Compostos fenólicos e carotenoides totais

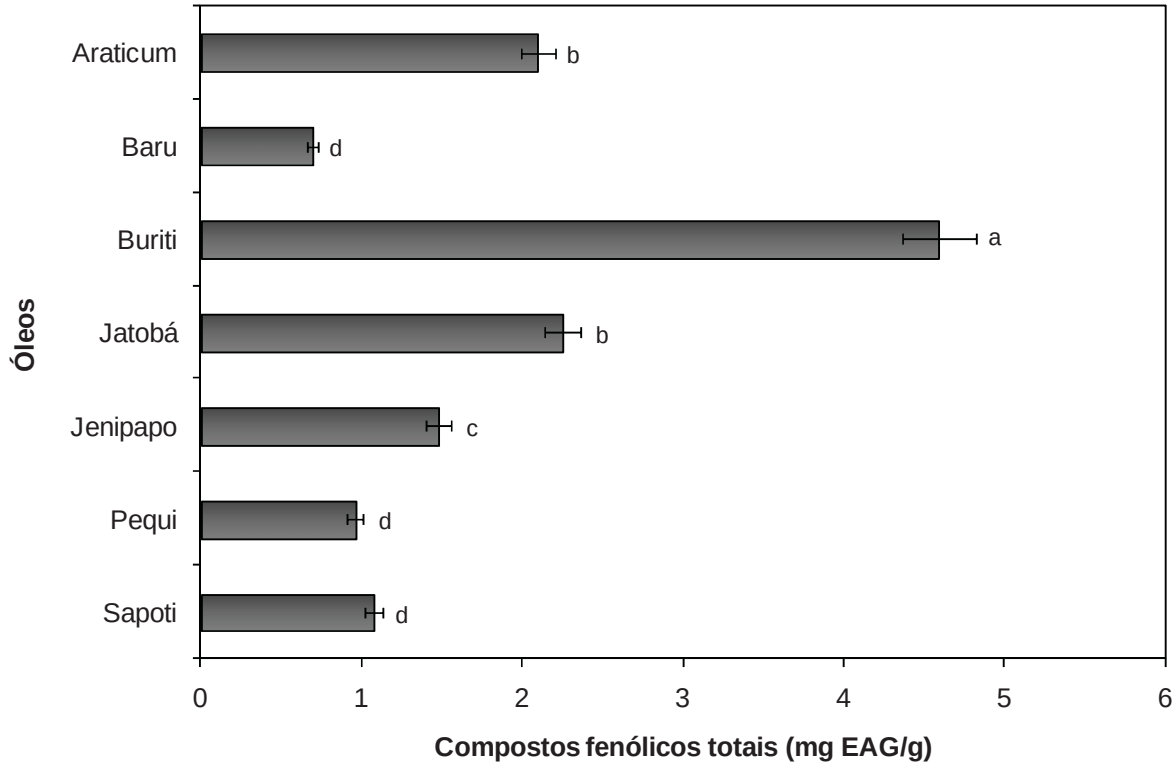
As análises de variância para os teores de compostos fenólicos totais e carotenoides totais dos óleos extraídos das sementes de araticum, baru, buriti, jatobá, jenipapo, pequi e sapoti estão apresentadas no Apêndice 3. Como observado, o teste F foi significativo ($p < 0,01$) para os tratamentos estudados, cujos resultados estão apresentados nas Figuras 4 e 5.

Conforme a Figura 4, as quantidades de compostos fenólicos totais nos óleos de frutos do cerrado brasileiro variaram entre 0,70 mg EAG/g, para o óleo de sementes de baru a 4,59 mg EAG/g, para o óleo de sementes de buriti.

Os valores de compostos fenólicos totais obtidos no presente trabalho são comparáveis aos encontrados em outros tipos de óleos. Em óleos extraídos de sementes de condimentos (cebola, salsa, cardamomo, verbasco e cardo) foram detectados valores de compostos fenólicos totais de 1,50 a 3,35 mg EAG/g (PARRY et al., 2006) e em óleos de sementes de mirtilo, framboesa e amora de 1,73 a 2,00 mg EAG/g (PARRY et al., 2005). Segundo os autores, o solvente de extração apresenta forte influência na determinação de compostos fenólicos totais, uma vez que a polaridade do solvente interfere nos tipos de compostos extraídos (EROL; SARI; VELIOGLU, 2010).

Lutterodt et al. (2010) estudando o conteúdo de óleos de cominho preto extraído por seis diferentes métodos a frio obtiveram em média 1,18 mg EAG/g de compostos fenólicos totais.

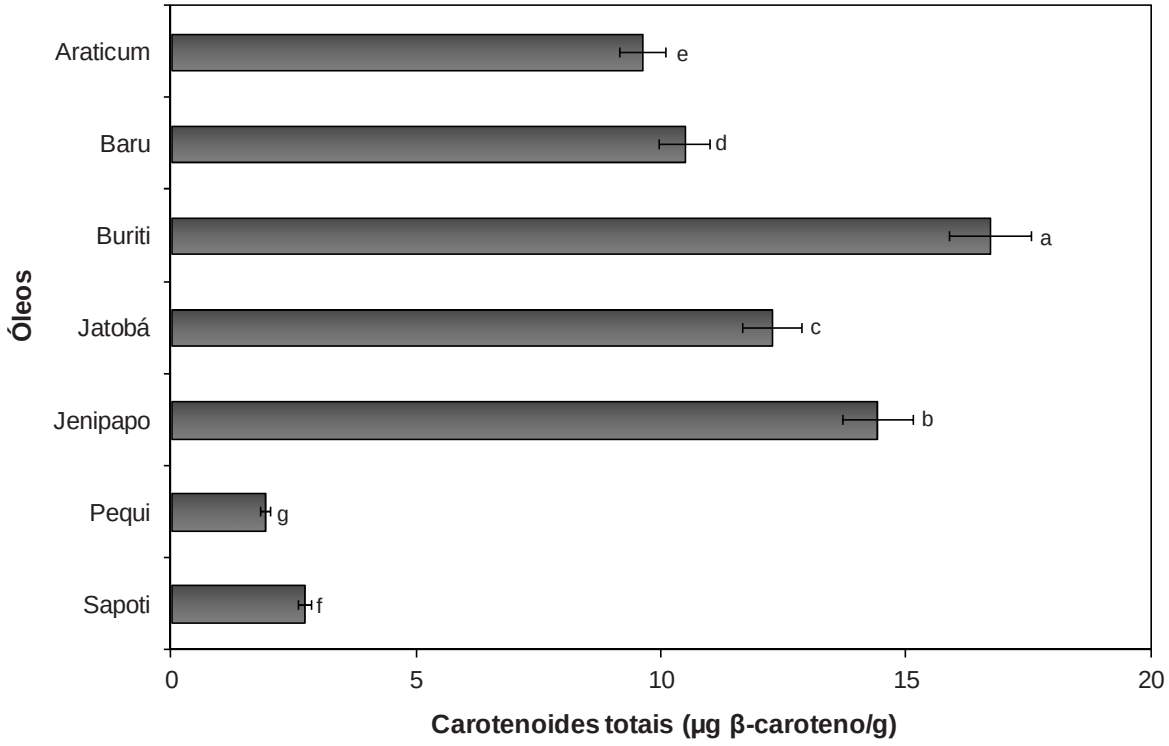
Figura 4 - Conteúdo de compostos fenólicos totais de óleos extraídos de diferentes frutos do cerrado brasileiro.



A quantidade de carotenoides totais nos óleos de frutos do cerrado brasileiro está apresentada na Figura 5. Dentre os diversos frutos do cerrado, o buriti foi o apresentou maior teor de carotenoides totais, 16,70 µg de β-caroteno/g, seguido pelo jenipapo, com 14,41 µg de β-caroteno/g.

Em óleo extraído de polpa de tucumã (*Astrocaryum vulgare* M.) foi quantificado valor de 1.637,10 µg/g de carotenóides totais (BONY et al., 2012). Girish, Pratape e Prasada Rao (2012) analisaram a composição de carotenoides em óleo extraído de feijão-da-índia (*Vigna Mungo* L.) e quantificaram 0,42 µg/g de carotenóides totais.

Figura 5 - Conteúdo de carotenoides totais de óleos extraídos de diferentes frutos do cerrado brasileiro.



3.3. Ácidos graxos

As análises de variância para os dados da composição de ácidos graxos dos óleos extraídos das sementes de araticum, baru, buriti, jatobá, jenipapo, pequi e sapoti indicaram diferença significativa ($p < 0,01$) para os tratamentos estudados (Apêndices 4 e 5). A Tabela 2 mostra os resultados das médias submetidas ao teste de Tukey. Nota-se, que os dados diferiram significativamente ($p < 0,05$) para os óleos extraídos das sementes estudadas.

Dentre os ácidos graxos saturados, o ácido palmítico (C16:0) foi predominante em todos os óleos, seguido pelo ácido esteárico (C18:0). Este resultado é coerente com o fato de que o ácido palmítico é o ácido graxo saturado mais abundante nos lipídios vegetais, sendo o ácido esteárico menos comum. Embora o ácido araquídico (C20:0) tenha sido encontrado em todos os óleos analisados, as concentrações variaram de 0,39% no óleo das sementes de pequi a 2,93% no óleo das sementes de jatobá.

Tabela 2. Perfil de ácidos graxos de óleos extraídos de diferentes frutos do cerrado brasileiro.

Ácidos graxos (%)*	Araticum	Baru	Buriti	Jatobá	Jenipapo	Pequi	Sapoti
Saturados	32,23^{d}	16,53^{g}	28,76^{e}	25,58^{f}	33,09^{c}	46,28^{a}	44,39^{b}
C14:0	0,72 ± 0,02^{a}	tr	0,35 ± 0,01^{c}	tr	tr	0,41 ± 0,01^{b}	0,24 ± 0,01^{d}
C16:0	18,07 ± 0,13^{c}	6,94 ± 0,05^{f}	18,00 ± 0,08^{c}	12,01 ± 0,13^{d}	10,81 ± 0,03^{e}	41,77 ± 0,25^{a}	25,95 ± 0,06^{b}
C17:0	0,11 ± 0,03^{e}	0,16 ± 0,01^{d}	0,48 ± 0,04^{a}	0,28 ± 0,02^{b}	0,24 ± 0,01^{bc}	0,12 ± 0,01^{e}	0,23 ± 0,01^{c}
C18:0	11,02 ± 0,04^{b}	5,17 ± 0,03^{e}	7,94 ± 0,02^{cd}	8,65 ± 0,22^{c}	7,65 ± 0,01^{d}	3,47 ± 0,02^{f}	16,23 ± 0,02^{a}
C20:0	1,59 ± 0,03^{d}	2,52 ± 0,12^{c}	0,59 ± 0,07^{f}	2,93 ± 0,17^{a}	2,71 ± 0,01^{b}	0,39 ± 0,01^{g}	1,25 ± 0,01^{e}
C22:0	0,72 ± 0,01^{d}	1,67 ± 0,19^{b}	1,39 ± 0,16^{c}	1,64 ± 0,07^{b}	11,60 ± 0,05^{a}	0,11 ± 0,02^{f}	0,49 ± 0,01^{e}
Monoinsaturados	50,76^{b}	52,86^{a}	29,54^{f}	33,31^{d}	30,05^{e}	50,85^{b}	48,23^{c}
C16:1	1,01 ± 0,01^{a}	tr	0,42 ± 0,01^{c}	tr	tr	0,86 ± 0,01^{b}	nd
C18:1 n-9	49,75 ± 0,08^{b}	52,80 ± 0,39^{a}	29,12 ± 0,08^{f}	33,22 ± 0,15^{d}	30,01 ± 0,02^{e}	49,99 ± 0,21^{b}	48,23 ± 0,04^{c}
Poli-insaturados	17,00^{e}	30,61^{d}	41,70^{a}	41,11^{b}	36,86^{c}	2,87^{g}	7,37^{f}
C18:2 n-6	16,29 ± 0,02^{e}	27,93 ± 0,18^{d}	41,16 ± 0,12^{a}	40,35 ± 0,10^{b}	36,22 ± 0,02^{c}	2,77 ± 0,02^{g}	6,94 ± 0,01^{f}
C18:3 n-3	0,72 ± 0,01^{c}	2,68 ± 0,03^{a}	0,54 ± 0,01^{e}	0,76 ± 0,08^{b}	0,65 ± 0,01^{d}	0,10 ± 0,01^{g}	0,43 ± 0,01^{f}
OLE/LIN**	1/0,33	1/0,53	1/1,41	1/1,21	1/1,21	1/0,05	1/0,14
SAT/INS***	1/2,10	1/5,05	1/2,48	1/2,91	1/2,02	1/1,16	1/1,25

* Médias ± desvios padrões das análises realizadas em triplicata seguidas pelas mesmas letras nas linhas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

** Relação entre o total de ácidos oleico e linoleico.

*** Relação entre o total de ácidos graxos saturados e insaturados.

tr - traço (< 0,1%).

nd - não detectado (valores ≤ 0,01%).

O ácido behênico (C22:0) também foi encontrado, variando de 0,11 a 11,60% para os óleos de pequi e jenipapo, respectivamente. Baixas porcentagens de ácido behênico são desejáveis, uma vez que óleos com altas concentrações podem ser de difícil digestão para humanos e animais, representando sérias implicações para utilização nutricional (AKPINAR; AKPINAR; TÜRKOGLU, 2001).

Os óleos de pequi e sapoti foram os que apresentaram maiores porcentagens de ácidos graxos saturados com 46,28 e 44,39%, respectivamente. Estes óleos apresentam estabilidade suficiente para serem usados na pulverização de *snacks*, biscoitos *crackers*, cereais, frutas secas e produtos de panificação, onde o óleo é usado para manter a qualidade do produto e aumentar a palatabilidade (CORBETT, 2003).

Conforme a Tabela 2, quantidades significantes de ácidos graxos insaturados foram encontradas nos óleos analisados, cujos resultados variaram de 53,72% (pequi) a 83,47% (baru).

Com exceção dos óleos das sementes de buriti, jatobá e jenipapo, o ácido oleico (C18:1 n-9) foi predominante nos demais com concentrações variando entre 48,23%, no óleo das sementes de sapoti, e 52,80%, no óleo das sementes de baru.

Elevadas porcentagens de ácido oleico nos óleos fazem com que estes sejam desejáveis em termos de nutrição e culinária, representando alta estabilidade em óleos utilizados para aquecimento. Pois, o elevado grau de insaturação dos óleos permite que se oxidem facilmente quando usados em elevadas temperaturas. Por exemplo, o ácido linoleico oxida aproximadamente 50 vezes mais rápido que o ácido oleico (BRINKMANN, 2000). Dessa forma, as indústrias de óleos comestíveis têm procurado processar óleos vegetais com teor elevado de ácido oleico.

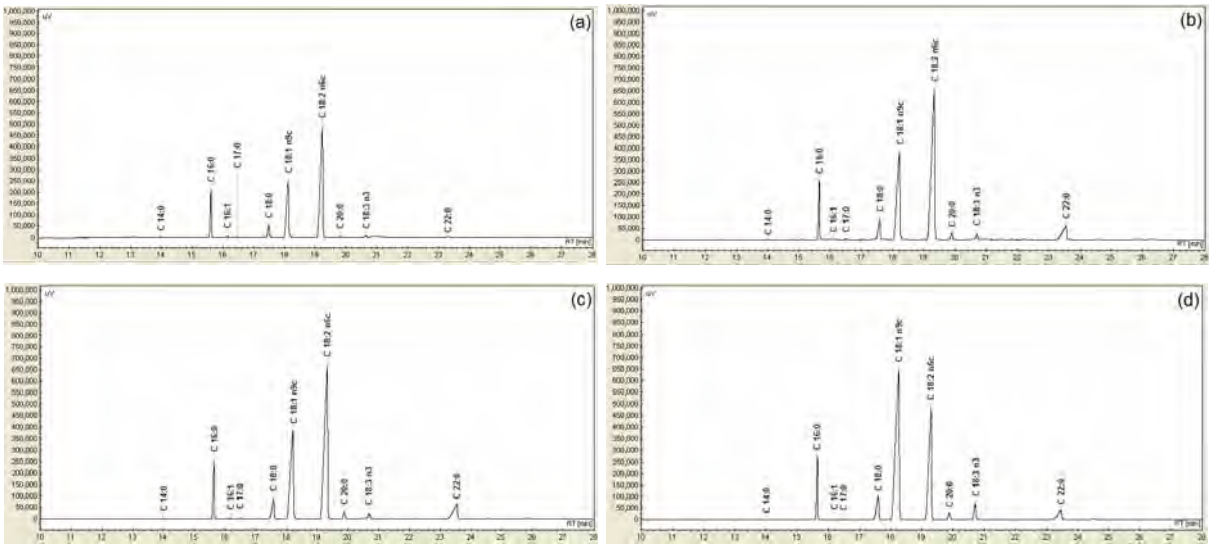
Os óleos das sementes dos frutos de baru, pequi e araticum podem ser classificados como monoinsaturados, já que mais de 50% de suas composições devem-se a esta classe de ácidos graxos.

Os óleos das sementes de buriti, jatobá e jenipapo apresentaram como ácido graxo principal, o ácido linoleico (C18:2 n-6) com 41,16, 40,35 e 36,22%, respectivamente. Costa (2007) também encontrou, em óleo extraído das sementes de buriti, que o ácido linoleico foi o majoritário com 44,26%, seguido pelos ácidos palmítico, oléico e esteárico com 23,04, 21,95 e 3,63%, respectivamente.

Com relação ao ácido graxo α-linolênico (C18:3 n-3), o óleo das sementes de baru foi o que apresentou maior porcentagem com, 2,68% (Figura 6). Nos demais

óleos, foram encontrados valores entre 0,10 e 0,76%. Levando em consideração a porcentagem desse ácido graxo em óleos comestíveis como canola (5-13%) e soja (4,5-11%) (CODEX ALIMENTARIUM COMMISSION, 2009), os óleos analisados neste estudo apresentam quantidades consideravelmente baixas deste ácido graxo essencial.

Figura 6 - Cromatogramas da composição de ácidos graxos dos óleos extraídos das sementes de buriti (a), jatobá (b), jenipapo (c) e baru (d).



As porcentagens de ácido α-linolênico encontradas no presente trabalho também foram similares às obtidas por Lima et al. (2007) em óleo de sementes de pequi (0,09%). Segundo Beardsell et al. (2002), o perfil de ácidos graxos de óleo comestível considerado ideal deveria ter 80-90% de ácidos graxos monoinsaturados e o restante, principalmente, constituído de ácidos poli-insaturados. Estes últimos são mais susceptíveis à oxidação e isomerização quando aquecidos. Assim, óleos submetidos a altas temperaturas deveriam apresentar quantidade mínima de ácido α-linolênico.

Os óleos das sementes de buriti e jatobá apresentaram quantidades significativas de ácidos graxos essenciais (C18:2 n-6 + C18:3 n-3), contendo cerca de 41%, enquanto que os demais óleos obtiveram quantidades abaixo de 37%.

Estudos sobre as composições de óleos extraídos de sementes e grãos não convencionais têm encontrado altas quantidades de ácidos graxos insaturados. Em óleo de sementes de kiwi (*Actinidia chinensis*), Piombo et al. (2006) encontraram elevada porcentagem de ácidos graxos poli-insaturados (78,4%), com 62,3% de

ácido α-linolênico e 16,1% de ácido linoleico.

Em estudo realizado por Ryan et al. (2007) sobre a composição de ácidos graxos de óleos extraídos de várias sementes, grãos e legumes observou-se quantidades elevadas de ácido α-linolênico para o feijão (*Phaseolus vulgaris*) (45,69%). Já na quinoa (*Chenopodium quinoa*) e no feijão manteiga (*Phaseolus lunatus*) obtiveram-se maiores quantidades de linoleico, 48,07 e 42,43%, respectivamente.

Bozan e Temelli (2008) determinaram a composição de ácidos graxos de óleos extraídos das sementes de linhaça (*Linum usitatissimum*), açafrão (*Carthamus tinctorius* L.) e papoula (*Papaver somniferum* L.). O principal ácido graxo do óleo de linhaça foi o ácido α-linolênico (58,31%), enquanto que os óleos de açafrão e papoula apresentaram maiores porcentagens de ácido linoleico, 70,46 e 74,47%, respectivamente.

Em óleos de sementes de pitaia vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) e branca (*Hylocereus undatus*), Ariffin et al. (2009) obtiveram cerca de 51% de ácidos graxos essenciais, 50% de C18:2 e 1% de C18:3.

Rezig et al. (2012) estudaram a composição química e a caracterização do perfil de óleo de sementes de abóbora (*Curcubita maxima*). Os principais ácidos graxos detectados foram os ácidos oleico e linoleico com 44,11 e 34,77%, respectivamente.

A qualidade e digestibilidade de óleos vegetais comestíveis são determinadas pela quantidade e composição em ácidos graxos insaturados. Quanto maior a quantidade de ácido linoleico em relação ao oleico, melhor é a qualidade do óleo vegetal em evitar a formação do LDL-colesterol (EL-ADAWY; TAHA, 2001). Conforme a Tabela 2, os maiores valores de ácido linoleico comparados ao oleico foram obtidos para os óleos das sementes de buriti, jatobá e jenipapo que apresentaram relações ácido oleico/linoleico de 1/1,41, 1/1,21 e 1/1,21, respectivamente.

Comparando-se a relação entre o total de ácidos graxos saturados e insaturados analisados neste trabalho com os citados por Zambiazi et al. (2007) para óleos de arroz e girassol, verificou-se que os óleos das sementes de pequi (1/1,16), sapoti (1/1,25), jenipapo (1/2,02), araticum (1/2,10), buriti (1/2,48) e jatobá (1/2,91) aproximaram-se mais ao óleo de arroz (1/2,04) e o óleo das sementes de baru (1/5,05) ao óleo de girassol (1/5,80).

3.4. Correlação de Pearson

A análise de correlação de Pearson entre os constituintes bioativos (β-sitosterol, fitosteróis totais, α-tocoferol, γ-tocoferol, tocoferóis totais, compostos fenólicos totais, carotenoides totais) e ácidos graxos (saturados, monoinsaturados, poli-insaturados e linoleico) dos óleos estudados está apresentada na Tabela 3.

Tabela 3 - Coeficientes de correlação de Pearson entre os constituintes bioativos (β-sitosterol (β-s), fitosteróis totais (FT), α-tocoferol (α-t), γ-tocoferol (γ-t), tocoferóis totais (TT), compostos fenólicos totais (CFT), carotenoides totais (CT)) e ácidos graxos (saturados, monoinsaturados, poli-insaturados e linoleico).

Ácidos Graxos	β-s	FT	α-t	γ-t	TT	CFT	CT
Saturados	-0,37	-0,29	-0,31	-0,86*	-0,34	-0,20	-0,70*
Monoinsaturados	-0,90	-0,83*	-0,93*	-0,32	-0,88*	-0,66	-0,75*
Poli-insaturados	0,83*	0,73*	0,82*	0,77*	0,89*	0,56	0,95*
Linoleico	0,85*	0,75*	0,84*	0,74*	0,90*	0,59	0,95*

* Significativo ($p < 0,05$).

Observa-se que os óleos extraídos das sementes de frutos do cerrado obtiveram correlações significativas, porém inversamente proporcionais, entre os teores de γ-tocoferol e carotenoides totais em relação aos ácidos graxos saturados (-0,86 e -0,70), indicando que os óleos que contêm maiores quantidades de ácidos graxos saturados apresentam menores teores desses bioativos.

Como apresentado na Tabela 3, obteve-se correlação significativa entre os teores de β-sitosterol, fitosteróis totais, α-tocoferol, γ-tocoferol, tocoferóis totais e carotenoides totais em relação aos ácidos graxos poli-insaturados (0,83, 0,73, 0,82, 0,77, 0,89 e 0,95) e ácido linoleico (0,85, 0,75, 0,84, 0,74, 0,90 e 0,95). Observou-se que um aumento nas porcentagens de ácidos graxos poli-insaturados e ácido linoleico foi acompanhado por um aumento desses bioativos. Isso indica a presença de bioativos nos óleos mais insaturados.

Kamal-Eldin e Andersson (1997) realizaram estudo de correlação entre a quantidade de tocoferóis e a composição em ácidos graxos de 101 amostras de óleos vegetais. Os resultados demonstraram correlação positiva entre o ácido

linoleico e o α-tocoferol.

No entando, as melhores correlações foram entre os teores de carotenoides totais e perfil de ácidos graxos poli-insaturados e ácido linoleico. Constatou-se que o conteúdo de carotenóides é inversamente proporcional aos teores de ácidos graxos saturados e monoinsaturados, enquanto os ácidos graxos poli-insaturados e ácido linoleico são diretamente proporcionais.

4. Considerações finais

O consumo de óleos vegetais já não é apenas uma questão de gosto, custo e preferências pessoais, mas tornou-se uma preocupação com a saúde humana devido aos teores de compostos bioativos. Dentre os diversos atributos dos compostos funcionais, a propriedade antioxidante é considerada uma das mais importantes porque reduz os processos de oxidação do organismo e desempenha um papel importante na manutenção da saúde, prevenindo o aparecimento de doenças crônico-degenerativas. Os resultados obtidos no presente estudo demonstram as propriedades funcionais de cada óleo de frutos do cerrado brasileiro. Em particular, o óleo de buriti, obteve melhores conteúdos de compostos bioativos apresentados pelos teores de fitosteróis, tocoferóis, compostos fenólicos, carotenóides e ácidos graxos essenciais. Em conclusão, os dados mostram que os óleos dos frutos do cerrado podem ser utilizados não só para consumo alimentar, mas também como uma importante fonte de bioativos a ser empregadas nas indústrias farmacêuticas e cosméticas.

5. Referências bibliográficas

AKPINAR, N.; AKPINAR, M. A.; TURKOGLU, S. Total lipid content and fatty acid composition of the seeds of some *Vicia* L. species. **Food Chemistry**, London, v. 74, n. 4, p. 449-453, 2001.

ALASALVAR, C. et al. Lipid characteristics and essential minerals of native Turkish hazelnut varieties (Corylus avellana L.). **Food Chemistry**, London, v. 113, n. 4, p., 919-925, 2009.

AMERICAN OIL CHEMITS' SOCIETY (AOCS). **Official and tentative methods of the American Oil Chemists' Society**: including additions and revisions. 6th ed. Champaing: AOCS Press, 2009.

AQUINO, L. P. et al. Influência da secagem do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) na qualidade do óleo extraído. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 354-357, 2009.

ARIFFIN, A. A. et al. Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil. **Food Chemistry**, London, v. 114, n. 2, p. 561-564, 2009.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237 p.

BEARDSELL, D. et al. Health promoting constituents in plant derived edible oils. **Journal of Food Lipids**, Trumbull, v. 9, n. 1, p. 1-34, 2002.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v. 37, p. 911-917, 1959.

BONY, E. et al. Awara (*Astrocaryum vulgare* M.) pulp oil: chemical characterization, and anti-inflammatory properties in a mice model of endotoxic shock and a rat model of pulmonary inflammation. **Fitoterapia**, Milano, v. 83, n. 1, p. 33-43, 2012.

BOZAN, B.; TEMELLI, F. Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, n. 14, p. 6354-6359, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n°. 269, de 22 de setembro de 2005. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 23 de setembro de 2005. Aprova o **Regulamento técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais**. Brasília, 2005.

BRINKMANN, B. Quality criteria of industrial frying oils and fats. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 102, n. 8-9, p. 539-541, 2000.

CHING, L. S.; MOHAMED, S. Alpha-tocopherol content in 62 edible tropical plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 6, p. 3101-3105, 2001.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Codex-Stan 210**: codex standard for named vegetable oils. Rome, 2009.

CORBETT, P. It's time for an oil change! Opportunities for high-oleic vegetable oils. **Inform**, Boulder, v. 14, p. 480-481, 2003.

COSTA, P. A. **Caracterização de ácidos graxos, tocoferóis e fitosteróis em frutas e castanhas das regiões Norte e Nordeste do Brasil.** 2007. 183 f. Tese de Doutorado – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2007.

COSTA, P. A. et al. Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits. **Food Research International**, Barking, v. 43, n. 6, p. 1603-1606, 2010.

DIAS, M. G.; CAMÕES, M. F. G. F. C.; OLIVEIRA, L. Carotenoids in traditional portuguese fruits and vegetables. **Food Chemistry**, London, v. 113, n. 1, p. 808-815, 2009.

DJENONTIN, T. S. et al. Composition of *Azadirachta indica* and *Carapa procera*

(Meliaceae) seed oils and cakes obtained after oil extraction. **Industrial Crops and Products**, [S.I.], v. 38, n. 1, p. 39-45, 2012.

DUCHATEAU, G. S. M. J. E. et al. Fast and accurate method for total 4-desmethyl sterol(s) content in spreads, fat-blends, and raw materials. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 79, n. 3, p. 273-278, 2002.

EL-ADAWY, T. A.; TAHA, K. M. Characteristics and composition of different seed oils and flours. **Food Chemistry**, London, v. 74, n. 1, p. 47-54, 2001.

EROL, N. T.; SARI, F.; VELIOGLU, S. Polyphenols, alkaloids and antioxidant activity of different grades turkish black tea. **GIDA**, [S.I.], v. 35, n. 3, p. 161-168, 2010.

ESCRIVÁ, A. et al. Determination of liposoluble vitamins in cooked meals, milk and milk products by liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 947, n. 2, p. 313-318, 2002.

ETTINGER, S. Macronutrientes: carboidratos, proteínas e lipídes. In: MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. (Eds.). **Alimentos, nutrição & dietoterapia.** 11. ed. São Paulo: Roca; 2005. p. 35-71.

FERRETTI, G. et al. Effect of phytosterols on copper lipid peroxidation of human lowdensity lipoproteins. **Nutrition**, New York, v. 26, n. 3, p. 296-304, 2010.

GARCÍA, C. G.; POLO, A. S.; IHA, N. Y. M. Photoelectrochemical solar cell using extract of *Eugenia jambolana* Lam as a natural sensitizer. **Annals of the Brazilian Academic of Sciences**, Rio de Janeiro, v. 75, n. 2, p. 163-165, 2003.

GIADA, M. L. R.; MANCINI FILHO, J. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. **UEPG Ciências Biológicas e da Saúde**, Ponta Grossa, v. 12, n. 4, p. 7-15, 2006.

GIRISH, T. K.; PRATAPE, V. M.; PRASADA RAO, U. J. S. Nutrientdistribution, phenolic acid composition, antioxidant and alpha-glucosidase inhibitory potentials of black gram (*Vigna mungo* L.) and its milled by-products. **Food Research International**, Barking, v. 46, n. 1, p. 370-377, 2012.

HOLSER, R. A.; BOST, G.; VAN BOVEN, M. Phytosterol composition of hybrid Hibiscus seed oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 9, p. 2546-2548, 2004.

KALOGEROPOULOS, N. et al. Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries. **Food Chemistry**, London, v. 121, n. 3, p. 682-690, 2010.

KAMAL-ELDIN, A.; ANDERSSON, R. A multivariate study of the correlation between tocopherol content and fatty acid composition in vegetable oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 74, n. 4, p. 375-380, 1997.

LIMA, A. et al. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 695-698, 2007.

LUTTERODT, H. et al. Fatty acid profile, thymoquinone content, oxidative stability, and antioxidant properties of cold-pressed black cumin seed oils. **LWT - Food**

Science and Technology, London, v. 43, n. 9, p. 1409-1413, 2010.

MARANGONI, F.; POLI, A. Phytosterols and cardiovascular health. **Pharmacological Research**, London, v. 61, n. 3, p. 193-199, 2010.

MASSON, L.; CAMILO, C.; TORIJA, M. E. Caracterización del aceite de coquito de palma chilena *(Jubaea chilensis).* **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 59, n. 1, p. 33-38, 2008.

PARRY, J. et al. Characterization of cold-pressed onion, parsley, cardamom, mullein,roasted pumpkin, and milk thistle seed oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 83, n. 10, p. 847-854, 2006.

PARRY, J. et al. Fatty acid composition and antioxidant properties of cold-pressed marionberry, boysenberry, red raspberry, and blueberry seed oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 3, p. 566-573, 2005.

PIOMBO, G. et al. Characterization of the seed oils from kiwi (*Actinidia chinensis*), passion fruit (*Passiflora eulis*) and guava (*Psidium guajava*). **Oléagineux, Corps Gras, Lipides**, Montrouge, v. 13, n. 2-3, p. 195-199, 2006.

POKORNÝ, J. Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants? **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 109, n. 6, p. 629-642, 2007.

RACETTE, S. B. et al. Phytosterol-deficient and high-phytosterol diets developed for controlled feeding studies. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 109, n. 12, p. 2043-2051, 2009.

REISMAN, J. et al. Treating asthma with omega-3 fatty acids: where is the evidence? A systematic review. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 6, n. 26, p. 26-34, 2006.

REZIG, L. et al. Chemical composition and profile characterisation of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed oil. **Industrial Crops and Products**, [S.I.], v. 37, n. 1, p. 82-87, 2012.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid anlysis in food**. Washington: ILSI Press, 2001.

ROMERO, N. et al. Effect of α-tocopherol, α-tocotrienol and Rosa mosqueta shell extract on the performance of antioxidants stripped canola oil (*Brassica* sp.) at high temperature. **Food Chemistry**, London, v. 104, n. 1, p. 383-389, 2007.

RUBIO-RODRÍGUEZ, N. et al. Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates: a review. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Netherlands, v. 11, n. 1, p. 1-12, 2010.

RYAN, E. et al. Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. **Plant Foods for Human Nutrition**, Elmsford, v. 62, n. 3, p. 85-91, 2007.

SCHMIDT, S.; POKORNÝ, J. Potential application of oilseeds as sources of antioxidants for food lipids – a review. **Czech Journal of Food Science**, Prague, v. 23, n. 3, p. 93-102, 2005.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants.

Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Boca Raton, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

SILVEIRA, F. A. **Abelhas silvestres (*Hymenoptera*: *Apoidea*) e suas fontes de alimento no cerrado na Estação de experimentação de Paraopeba, Minas Gerais**. 1989. 50 f. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1989.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic and phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

TAKEMOTO, E. et al. Composição química da semente e do óleo de baru (*Dipteryx alata* Vog.) nativo do Município de Pirenópolis, Estado de Goiás. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 60, n. 2, p. 113-117, 2001.

VIEIRA, R. F.; COSTA T. A. **Frutas nativas do cerrado: qualidade nutricional e sabor peculiar**. Brasil: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007.

WANG, X. Y.; QUINN, P. J. The location and function of vitamin E in membranes (review). **Molecular Membrane Biology**, [S.I.], v. 17, n. 3, p. 143-156, 2000.

WEBER, N.; WEITKAMP, P.; MUKHERJEE, K. D. Cholesterol-lowering food additives: lipase-atalysed preparation of phytosterol and phytostanol esters. **Food Research International**, Barking, v. 35, n. 2-3, p. 177-181, 2002.

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: a review. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 42, n. 10, p. 1573-1580, 2009.

ZAMBIAZI, R. C. et al. Fatty acid composition of vegetable oils and fats. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 25, n. 1, p. 111-120, 2007.

APÊNDICES

Apêndice 1 - Análises de variância para os teores de colesterol, campesterol, estigmasterol, β-sitosterol, estigmastanol, Δ-7-avenasterol e esteróis totais.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios						
		Colesterol	Campesterol	Estigmasterol	β-sitosterol	Estigmastanol	Δ-7-avenasterol	Esteróis totais
Tratamentos	6	24,5964**	40223,3697**	140347,3209**	608679,8188**	865161,1499**	6949,4585**	36,5407**
Resíduo	14	0,0004	0,1559	0,8290	0,6380	0,8819	0,0010	0,0002
Desvio padrão		0,02	0,39	0,91	0,80	0,94	0,03	0,02
Coeficiente de variação (%)		0,63	0,40	0,76	0,21	0,27	0,03	0,39

** Significativo (p < 0,01).

Apêndice 2 - Análises de variância para os teores de α-, (β + γ)-, δ-tocoferóis, tocoferóis totais e vitamina E.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios				
		α-tocoferol	(β + γ)-tocoferol	δ-tocoferol	Tocoferóis totais	Vitamina E
Tratamentos	6	377557,9130**	198150,4346**	2242,5117**	697310,1028**	390169,7200**
Resíduo	14	0,0562	0,0726	0,0440	0,1834	0,0599
Desvio padrão		0,24	0,27	0,21	0,43	0,24
Coeficiente de variação (%)		0,11	0,10	0,58	0,08	0,09

** Significativo ($p < 0,01$).

Apêndice 3 - Análises de variância para compostos fenólicos totais (CFT) e carotenoides totais (CT).

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios	
		CFT	CT
Tratamentos	6	5,2803**	93,5848**
Resíduo	14	0,0589	0,0276
Desvio padrão		0,14	0,16
Coeficiente de variação (%)		7,51	1,71

** Significativo ($p < 0,01$).

Apêndice 4 - Análises de variância para a composição de ácidos graxos.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios									
		C14:0	C16:0	C17:0	C18:0	C20:0	C22:0	C16:1	C18:1 n-9	C18:2 n-6	C18:3 n-3
Tratamentos	6	0,0504**	541,8801**	4,2168**	3,3302**	712,8600**	2325,3891**	295,8228**	25,0922**	780,4441**	1085,4150**
Resíduo	14	0,0001	0,0030	0,0004	0,0010	0,6469	0,0019	0,0002	0,0018	0,0007	0,0007
Desvio padrão		0,01	0,06	0,02	0,03	0,80	0,04	0,13	0,04	0,03	0,0271
Coeficiente de variação (%)		0,71	0,3	0,83	0,44	0,29	0,16	0,17	0,30	0,12	0,07

** Significativo ($p < 0,01$).

Apêndice 5 - Análises de variância dos valores da quantidade total de ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos monoinsaturados (AGM) e ácidos graxos poli-insaturados (AGP).

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios		
		AGS	AGM	AGP
Tratamentos	6	324,3939**	342,6057**	787,3101**
Resíduo	14	0,0269	0,0303	0,0127
Desvio padrão		0,16	0,17	0,11
Coeficiente de variação (%)		0,51	0,41	0,44

** Significativo ($p < 0,01$).

CONCLUSÕES GERAIS

Levando-se em consideração o conjunto das análises realizadas, algumas conclusões podem ser extraídas quanto à composição química centesimal e nutricional das sementes e dos óleos analisados de alguns frutos do cerrado:

1) As sementes de araticum, baru e pequi constituem fontes significativas de lipídios, indicando a extração de óleo das mesmas como alternativa para o aproveitamento comercial;
2) As sementes apresentam elevadas porcentagens de fibras insolúveis, assim como quantidades consideráveis de proteínas, carboidratos totais e boas fontes calóricas. Além de teores significativos de minerais como Ca, K, Mg, Na e P, podendo, assim, ser utilizadas na alimentação humana e animal;
3) As propriedades físico-químicas dos óleos das sementes são comparáveis às de óleos convencionais e de boa qualidade;
4) Os índices de estabilidade oxidativa dos óleos das sementes de pequi, sapoti e araticum revelam, além de uma longa vida de prateleira, potencial aplicabilidade em processos que utilizam elevada temperatura;
5) Os óleos extraídos das sementes estudadas mostram ter capacidade para inibir os radicais livres que são gerados durante a peroxidação do ácido linoleico, além de sequestrar radicais livres, pela interação com o radical $DPPH^{\bullet}$, e ainda, capacidade de redução do complexo férrico ao ferroso e do radical $ABTS^{\bullet+}$ ao ABTS. Tais fatos levam a crer que os óleos destes frutos podem apresentar benefícios quando ingeridos, combatendo radicais livres *in vivo*;
6) Os óleos de buriti, jatobá e jenipapo constituem fontes relevantes de β-sitosterol, α-tocoferol e carotenoides totais. Para os teores de compostos fenólicos totais, maiores quantidades foram encontradas nos óleos de buriti, jatobá e araticum. Já os demais óleos apresentam fontes significativas de β-sitosterol e γ-tocoferol, porém com menores teores de compostos fenólicos totais e carotenoides totais. Dos óleos estudados, o de buriti obteve maior teor dos compostos bioativos analisados.
7) Com relação à composição em ácidos graxos, os ácidos palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oléico (C18:1 n-9) e linoléico (C18:2 n-6) são quantificados em maiores porcentagens em todos os óleos analisados. Nenhum dos óleos

analisados apresenta elevadas quantidades de ácido linolênico (C18:3 n-3), sendo a maior porcentagem encontrada no óleo extraído da semente de baru;

8) Altas porcentagens de ácidos graxos insaturados são detectadas em todos os óleos com predominância do ácido oléico, nos óleos das sementes de araticum, baru, pequi e sapoti, e linoléico nos demais. Tal fato favorece o uso dos mesmos para fins alimentícios e como matéria-prima para as indústrias farmacêutica e cosmética.

Finalmente, analisando a caracterização química centesimal e nutricional, bem como a composição dos óleos obtidos das sementes de frutos do cerrado brasileiro, pode-se constatar importantes fontes de compostos bioativos a serem empregadas como fins alimentícios, desempenhando função preventiva na saúde humana.

Autorizo a reprodução xerográfica para fins de pesquisa.

São José do Rio Preto, _____/_____/____

_____
Assinatura