

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

DANIELLI DOS SANTOS BAETA

**AVALIAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E
BIOQUÍMICAS DO PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.) EM SUAS
DIVERSAS FORMAS DE ARMAZENAMENTO**

Araraquara – SP

2013

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

DANIELLI DOS SANTOS BAETA

**AVALIAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E BIOQUÍMICAS DO
PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.) EM SUAS DIVERSAS FORMAS DE
ARMAZENAMENTO**

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Olga Maria Mascarenhas de Faria Oliveira

Coorientador: Dr. Marcos Barros de Souza

Araraquara – SP

2013

FICHA CATALOGRÁFICA

B142a	<p>Baeta, Danielli dos Santos</p> <p>Avaliação de características físico-químicas e bioquímicas do pequi (<i>Caryocar brasiliense</i> Camb.) em suas diversas formas de armazenamento / Danielli dos Santos Baeta. – Araraquara: [s.n], 2013 123 f. : il.</p> <p>Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química Orientador: Olga Maria Mascarenhas de Faria Oliveira Coorientador: Marcos Barros de Souza</p> <p>1. Biotecnologia. 2. Pequi. 3. Enzimas. 4. Metabólitos secundários. I. Título.</p>
-------	--

Elaboração: Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação do Instituto de Química de Araraquara

Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação

DANIELLI DOS SANTOS BAETA

AVALIAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E BIOQUÍMICAS DO
PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.) EM SUAS DIVERSAS FORMAS DE
ARMAZENAMENTO

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos
requisitos para a obtenção do título de
Mestre em Biotecnologia.

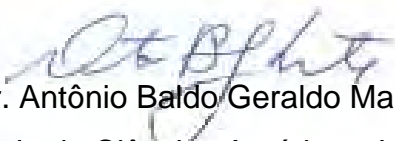
APROVADO

Araraquara, 13 de junho de 2013

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Olga Maria Mascarenhas de Faria Oliveira
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Prof. Dr. Antônio Baldo Geraldo Martins
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal.



Prof. Dr. Flávio Luís Schmidt
Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP, Campinas.

DADOS CURRICULARES

DADOS PESSOAIS

Nome	Danielli dos Santos Baeta.
Filiação	Adão dos Santos Baeta Filho e Vani F. dos Santos Baeta.
Nascimento	05/08/1985 - Campinas/SP – Brasil.
Carteira de Identidade	42.379.815-7 – SSP/SP - 29/12/2009.
CPF	332.094.628-52.
Endereço residencial	Rua Maria Aparecida, 142 – Fundos, Vila Santa Helena, CEP: 19.015-620 Presidente Prudente, SP – Brasil.
Endereço eletrônico	e-mail para contato: danielli.baeta@gmail.com e-mail alternativo: danielli@fct.unesp.br

FORMAÇÃO ACADÊMICA

- 2006 - 2010** Graduação em Química (Licenciatura).
Faculdade de Ciências e Tecnologia da UNESP – Campus de Presidente Prudente, Brasil.
Bolsista da: Universidade Estadual Paulista/Pró-Reitoria de Administração.
- 2002 - 2003** Ensino Profissional de Nível Técnico em Química.
Escola Técnica Estadual "Conselheiro Antônio Prado", ETECAP, Brasil.

PROJETOS DE PESQUISA

- i. *Nome*: Avaliação de características físico-químicas e bioquímicas do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) em suas diversas formas de armazenamento; *Período*: 2011 – 2013; *Agência Financiadora*: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Bolsa de Mestrado; *Situação*: concluído.

ii. *Nome*: Imobilização e avaliação eletroanalítica do corante reactive blue 4 em suporte orgânico e inorgânico. *Período*: 2007; *Agência Financiadora*: Pró-Reitoria de Administração da UNESP – Bolsa de Apoio Acadêmico e Extensão I; *Situação*: concluído.

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Artigos completos publicados em periódicos

1. OLIVEIRA, E. T.; BAETA, D. S.; SOUZA, M. B., OLIVEIRA, O. M. M. F. O pequi no noticiário: análise dos resultados de uma pesquisa na busca do site Folha de S.Paulo. **Comunicação & Informação**, v. 15, n. 2, p. 4-15, jul./dez. 2012.

Trabalhos publicados em anais de eventos (completo)

1. BAETA, D. S.; MARTINS, A. P.; PEREIRA, M. J. V.; BARBOSA, V. F.; SOUZA, M. B.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Capacidad antioxidante y contenido fenólico de pequi. In: CONFERENCIA INTERNACIONAL SOBRE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS, 12., 2013, La Habana. **Memorias...** La Habana: Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia, 2013. p. 768-777. 1 CD-ROM.

2. OLIVEIRA, O. M. M. F.; MARTINS, A. P.; BAETA, D. S.; PEREIRA, M. J. V.; BARBOSA, V. F.; LEITE, K. M. S. C. Caracterización bioquímica de frutas producidas en Brasil. In: CONFERENCIA INTERNACIONAL SOBRE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS, 12., 2013, La Habana. **Memorias...** La Habana: Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia, 2013. p. 782-790. 1 CD-ROM.

3. BAETA, D. S.; RODRIGUES, L. A.; MARTINS, A. P.; PEREIRA, M. J. V.; BARBOSA, V. F.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Pruebas de acción antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en el cultivo de la fruta pasion hybrid amarillo. In: CONFERENCIA INTERNACIONAL SOBRE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS, 12., 2013, La Habana. **Memorias...** La Habana: Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia, 2013. p. 1176-1182. 1 CD-ROM.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. BARBOSA, V. F.; BAETA, D. S.; MARTINS, A. P.; REGASINI, L. O.; VELLOSO, J. C. R.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Action of gallic acid and its derivatives about free radicals. In: ANNUAL MEETING OF THE BRAZILIAN BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY SOCIETY, 42., 2013, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: SBBq, 2013.

2. OLIVEIRA, O. M. M. F.; BAETA, D. S.; BARBOSA, V. F.; RODRIGUES, L. A.; LEITE, K. M. S. C.; SOUZA, M. B. Content of pectin in araçá (*Psidium cattleianum* Sabine). In: ANNUAL MEETING OF THE BRAZILIAN BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY SOCIETY, 42., 2013, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: SBBq, 2013.

3. BAETA, D. S.; BARBOSA, V. F.; MARTINS, A. P.; PEREIRA, M. J. V.; SOUZA, M. B.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Evaluation of antioxidant activity present in pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). In: ANNUAL MEETING OF THE BRAZILIAN BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY SOCIETY, 42., 2013, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: SBBq, 2013.
4. BARBOSA, V. F.; MARTINS, A. P.; BAETA, D. S.; PEREIRA, M. J. V.; VELLOSA, J. C. R.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Ação do ácido gálico e seus derivados na inibição da enzima mieloperoxidase (MPO) e horse radish peroxidase (HRP). In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE TECNOLOGIA ENZIMÁTICA, 10., 2012, Blumenau. **Anais...** Blumenau: FURB, 2012. 1 CD-ROM.
5. BARBOSA, V. F.; MARTINS, A. P.; BAETA, D. S.; REGASINI, L. O.; VELLOSA, J. C. R.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Ação do ácido gálico e seus derivados sobre radicais livres: radical DPPH e radical óxido nítrico. In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 4., 2012, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBCTA, 2012. 1 CD-ROM.
6. MARTINS, A. P.; PEREIRA, M. J. V.; BAETA, D. S.; TADIOTTI, A. C.; LEITE, K. M. S. C.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Análise bioquímica de híbridos da cultivar maracujá amarelo azedo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener), com vistas ao processamento industrial: vitamina C, proteína e compostos fenólicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 23., 2012, Campinas. **Anais...** Campinas: SBCTA, 2012. 1 CD-ROM.
7. RODRIGUES, L. A.; MARTINS, A. P.; BAETA, D. S.; PEREIRA, M. J. V.; BARBOSA, V. F.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Análise do conteúdo de açúcares em frutas do gênero *Spondias*. In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 4., 2012, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBCTA, 2012. 1 CD-ROM.
8. SOUZA, M. B.; MARTINS, A. P.; BAETA, D. S.; RODRIGUES, L. A.; PEREIRA, M. J. V.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Análise quantitativa de pectina e açúcares em bunchosia (*Bunchosia argentea*) com vistas ao processamento industrial. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PLANTAS MEDICINAIS E NUTRACÊUTICOS e CONFERÊNCIA DO INSTITUTO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE FRUTOS TROPICAIS, 3., 2012, Aracaju. **Anais...** Aracaju: 3ISMNP, 2012. 1. CD-ROM.
9. MARTINS, A. P.; BAETA, D. S.; PEREIRA, M. J. V.; TADIOTTI, A. C.; LEITE, K. M. S. C.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Atividade antioxidante, vitamina C e cinética da ascorbato oxidase em polpa de híbridos da cultivar maracujá amarelo azedo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener). In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 4., 2012, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBCTA, 2012. 1 CD-ROM.

10. MARTINS, A. P.; PEREIRA, M. J. V.; BAETA, D. S.; LEITE, K. M. S. C.; TADIOTTI, A. C.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Atividade enzimática da polifenoloxidase e potencial antioxidante em polpa de híbridos da cultivar maracujá amarelo azedo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener). In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE TECNOLOGIA ENZIMÁTICA, 10., 2012, Blumenau. **Anais...** Blumenau: FURB, 2012. 1 CD-ROM.
11. SOUZA, M. B.; PEREIRA, M. J. V.; COSTA, M. P.; BAETA, D. S.; MARTINS, A. P.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Avaliação da atividade antioxidante da atemóia (*Annona atemoya* Mabb.). In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PLANTAS MEDICINAIS E NUTRACÊUTICOS e CONFERÊNCIA DO INSTITUTO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE FRUTOS TROPICAIS, 3., 2012, Aracaju. **Anais...** Aracaju: 3ISMNP, 2012. 1. CD-ROM.
12. COSTA, M. P.; MARTINS, A. P.; BAETA, D. S.; PEREIRA, M. J. V.; BARBOSA, V. F.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Avaliação da atividade antioxidante da bunchósia (*Bunchosia armeniaca*), carissa (*Carissa grandiflora*) e jambo-vermelho (*Syzygium malaccense*). In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 4., 2012, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBCTA, 2012. 1 CD-ROM.
13. COSTA, M. P.; MARTINS, A. P.; BAETA, D. S.; PEREIRA, M. J. V.; BARBOSA, V. F.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Avaliação da atividade antioxidante do canistel (*Pouteria campechiana*), jujuba (*Ziziphus jujuba*) e mangostão (*Garcinia Mangostana*). In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 4., 2012, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBCTA, 2012. 1 CD-ROM.
14. COSTA, M. P.; MARTINS, A. P.; BAETA, D. S.; PEREIRA, M. J. V.; BARBOSA, V. F.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Avaliação da atividade antioxidante do jatobá (*Hymenaea courbaril* L), jenipapo (*Genipa americana* L) e massala (*Strychnus Spinosa*). In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 4., 2012, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBCTA, 2012. 1 CD-ROM.
15. BAETA, D. S.; MARTINS, A. P.; COSTA, M. P.; SOUZA, M. B.; PEREIRA, M. J. V.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Avaliação da atividade antioxidante e fenóis totais do araçá (*Eugenia Stipitata*). In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PLANTAS MEDICINAIS E NUTRACÊUTICOS e CONFERÊNCIA DO INSTITUTO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE FRUTOS TROPICAIS, 3., 2012, Aracaju. **Anais...** Aracaju: 3ISMNP, 2012. 1. CD-ROM.
16. BAETA, D. S.; MARTINS, A. P.; PEREIRA, M. J. V.; BARBOSA, V. F.; SOUZA, M. B.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Avaliação do potencial antioxidante relacionado com o teor de vitamina C em pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 4., 2012, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBCTA, 2012. 1 CD-ROM.
17. RODRIGUES, L. A.; MARTINS, A. P.; BAETA, D. S.; PEREIRA, M. J. V.; BARBOSA, V. F.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Avaliação dos teores de pectina, açúcar e proteína em cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 4., 2012, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBCTA, 2012. 1 CD-ROM.

18. BAETA, D. S.; PEREIRA, M. J. V.; MARTINS, A. P.; SOUZA, M. B.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Biochemical analysis of pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.) aiming industrial processing. In: WORD CONGRESS OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY, 16., 2012, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: IUFoST, 2012. 1 CD-ROM.
19. BARBOSA, V. F.; MARTINS, A. P.; BAETA, D. S.; REGASINI, L. O.; VELLOSA, J. C. R.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Caracterização do perfil da ação do ácido gálico e seus derivados sobre processos oxidativos *in vitro*. In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 4., 2012, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBCTA, 2012. 1 CD-ROM.
20. COSTA, M. P.; MARTINS, A. P.; BAETA, D. S.; PEREIRA, M. J. V.; BARBOSA, V. F.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da pitaya (*Hylocereus undatus*). In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 4., 2012, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBCTA, 2012. 1 CD-ROM.
21. MARTINS, A. P.; PEREIRA, M. J. V.; BAETA, D. S.; LEITE, K. M. S. C.; TADIOTTI, A. C.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Correlação da enzima peroxidase com o conteúdo de compostos fenólicos em híbridos da cultivar maracujá amarelo azedo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener). In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE TECNOLOGIA ENZIMÁTICA, 10., 2012, Blumenau. **Anais...** Blumenau: FURB, 2012. 1 CD-ROM.
22. BAETA, D. S.; MARTINS, A. P.; PEREIRA, M. J. V.; BARBOSA, V. F.; SOUZA, M. B.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Correlação entre o conteúdo de vitamina C, potencial antioxidante e atividade enzimática da Ascobato oxidase em polpa de pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.) em conserva. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE TECNOLOGIA ENZIMÁTICA, 10., 2012, Blumenau. **Anais...** Blumenau: FURB, 2012. 1 CD-ROM.
23. BAETA, D. S.; MARTINS, A. P.; PEREIRA, M. J. V.; BARBOSA, V. F.; SOUZA, M. B.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Efeito do processamento na polifenoloxidase do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.): comportamento cinético frente à variação do pH. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE TECNOLOGIA ENZIMÁTICA, 10., 2012, Blumenau. **Anais...** Blumenau: FURB, 2012. 1 CD-ROM.
24. SOUZA, M. B.; BAETA, D. S.; OLIVEIRA, E. T. Ensino a distância como ferramenta no processo de educação continuada de professores do ensino fundamental: perspectiva a partir de um curso de extensão universitária. In: ENCONTRO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 2012, Presidente Prudente. **Anais...** Presidente Prudente: UNOESTE, 2012. p.1100-1100.
25. MARTINS, A. P.; PEREIRA, M. J. V.; BAETA, D. S.; TADIOTTI, A. C.; LEITE, K. M. S. C.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Enzyme study of pectinmetylesterase, peroxidase and polyphenoloxidase of hybrid cultivars pulp on sour yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener). In: WORD CONGRESS OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY, 16., 2012, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: IUFoST, 2012. 1 CD-ROM.

26. MARTINS, A. P.; BAETA, D. S.; LEITE, K. M. S. C.; RODRIGUES, L. A.; BARBOSA, V. F.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Estudo de novo método de extração de pectina em goiaba (*Psidium guajava* L). In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 4., 2012, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBCTA, 2012. 1 CD-ROM.
27. SOUZA, M. B.; BAETA, D. S.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Frutos do cerrado brasileiro: o pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.) como alternativa de produção sustentável. In: CONGRESO DE BIODIVERSIDAD Y ECOLOGÍA TROPICAL, 3., 2012, La Habana. **Memorias...** La Habana: Instituto de Ecología y Sistemática, 2012. P. 105-106. 1 CD-ROM.
28. PEREIRA, M. J. V.; MARTINS, A. P.; BAETA, D. S.; TADIOTTI, A. C.; LEITE, K. M. S. C.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Influence of ascorbic acid on the kinetics of polyphenoloxidase yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener). In: WORD CONGRESS OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY, 16., 2012, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: IUFoST, 2012. 1 CD-ROM.
29. BARBOSA, V. F.; MARTINS, A. P.; BAETA, D. S.; PEREIRA, M. J. V.; VELLOSA, J. C. R.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Inibição da enzima mieloperoxidase (MPO) e horse radish peroxidase (HRP) pelo ácido gálico, galato de isopropila e galeto de isobutila. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE TECNOLOGIA ENZIMÁTICA, 10., 2012, Blumenau. **Anais...** Blumenau: FURB, 2012. 1 CD-ROM.
30. BAETA, D. S.; OLIVEIRA, E. T.; SOUZA, M. B.; OLIVEIRA, O. M. M. F. O pequi no noticiário: análise dos resultados de uma pesquisa na busca do site Folha de S. Paulo. In: ENCONTRO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 2012, Presidente Prudente. **Anais...** Presidente Prudente: UNOESTE, 2012. p.856 - 856
31. BAETA, D. S.; PEREIRA, M. J. V.; MARTINS, A. P.; SOUZA, M. B.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Parâmetro físico-químico determinante na atividade da ascorbato oxidase de pequi (*Caryocar brasiliense*, Camp.) em conserva. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 23., 2012, Campinas. **Anais...** Campinas: SBCTA, 2012. 1 CD-ROM.
32. BAETA, D. S.; PEREIRA, M. J. V.; SOUZA, M. B.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Propriedades físico-químicas de polifenoloxidase de pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 9., 2011, Campinas. **Anais...** Campinas: SLACA, 2011. CD-ROM.
33. BAETA, D. S.; TEIXEIRA, M. F. S.; ZANONI, M. V. B. Avaliação eletroquímica de um eletrodo modificado com reactive blue 4 imobilizado em sílica gel. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 30., 2007, Aguas de Lindóia. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2007. CD-ROM.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo expandido)

1. BAETA, D. S.; MARTINS, A. P.; PEREIRA, M. J. V.; BARBOSA, V. F.; SOUZA, M. B.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa in natura e em conserva de pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PLANTAS MEDICINAIS E NUTRACÊUTICOS e CONFERÊNCIA DO INSTITUTO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE FRUTOS TROPICAIS, 3., 2012, Aracaju. **Anais...** Aracaju: 3ISMNP, 2012. 1. CD-ROM.

2. BAETA, D. S.; TEIXEIRA, M. F. S.; ZANONI, M. V. B. Imobilização e avaliação eletroanalítica do corante reactive blue 4 em suporte orgânico e inorgânico. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 19., 2007, Presidente Prudente. **Anais...** São Paulo: UNESP, 2007. CD-ROM.

*Aos meus pais, **Adão** e **Vani**, por todos os ensinamentos, pelo grande incentivo, por todo o apoio, pela confiança e pelo amor incondicional.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora, *Profa. Olga*, por todo o ensinamento, pelas colaborações científicas, pela confiança a mim depositada para execução deste trabalho, pela amizade e compreensão em todos momentos e, também, por se tornar minha mãe científica.

Ao *Marcos Barros*, meu coorientador, por toda sua dedicação e confiança, sem sua ajuda não teria executado 50% deste trabalho. Agradeço por sempre ter acreditado em meu potencial e por toda a sua disponibilidade em ajudar. Pela sua amizade e todo seu carinho. Meu imenso agradecimento é pouco perto de toda a gratidão que tenho por ele.

Agradeço aos membros e amigos do Laboratório de Enzimologia: *Danilo, Juliana, Kamila, Kátia, Mauro*, em especial à *Ângela* e *Vanessa*, pelos momentos divididos juntos, pelo aprendizado, apoio, carinho, auxílio e sem esquecer as risadas e as palhaçadas.

Ao *Édison* pelas infinitas correções ortográficas, pelo incentivo em todas as horas, pelas gargalhadas, pela diversão e, principalmente, por sua amizade.

Agradeço ao “*Cocada*” (*Rodrigo*), primeiramente, pela sua grande amizade, por me ouvir e me aconselhar sempre, além de sua infinita paciência comigo. Agradeço, também, por ter me fornecido o objeto de estudo da minha pesquisa, você é um dos responsáveis por esse trabalho.

À *Juliana Volpi* por estar ao meu lado, por sempre me incentivar, por me fazer acreditar que posso mais que imagino e por ser a irmã que escolhi. Muito obrigada!

Às minhas amigas: *Thi, Vivi* e *Xuxu*, por sempre me apoiarem e quererem o meu bem. Obrigada pela amizade!

Agradeço aos meus amigos do Duplex, onde me tornei agregada: *Ana Ka, Maiara Carlos, Kauê Gufere* e *Amanda Cris*, por toda a amizade e carinho. Sem palavras para os momentos de alegrias vivenciados.

À *Família Atlética*, em especial a gestão 2011: *Rafael “Adib”, Renan, Rafael “Bixo”, Ana Ka, Pablo, Walter, Rodrigo “Cocada”, Carolina, Denilton “Vadia”, Lidiane, Paulo, Ronaldo “Gobbi”, Lucas “K-zé”, Aline, Bruno “Bircol”, Camila “Barretos”, Evelyn, João Lucas “Pedrinho”, Júlio, Lucas “Tietê”* e *Luiz Felipe “Anão”,*

que me acompanharam e apoiaram no início dessa fase, que me suportaram nos meus momentos de estresse e, não esquecendo, nos momentos de alegrias. Pelo crescimento e ensinamento adquiridos nessa associação. “*Um por todos, todos por um. 1, 2, 3. Atlético UNESP Prudente!*”.

Não posso me esquecer da *Patrícia Raquel* e *Mariana Gois*, por terem sido grandes incentivadoras ao meu ingresso no mestrado. Muito obrigada!

Ao *Júlio* por toda a sua cumplicidade, dedicação, paciência, compreensão e amizade.

Ao meu irmão, *Lucas*, que mesmo distante sempre me apoia e como ele mesmo diz: “*que se não for sofrido não é nosso!*”.

Aos meus pais, *Adão* e *Vani*, que sempre acreditaram em minha capacidade o que me fortaleceu e me fez tentar ser sempre a melhor. Obrigada pelo amor incondicional!

Agradeço a *Deus* por ter colocado tudo em seu devido lugar e na hora certa, por iluminar e acompanhar todo o caminho que tenho percorrido. “*Nunca me deixes esquecer, que tudo o que tenho, tudo o que sou, o que vier a ser, vem de Ti Senhor*”.

*“O mundo está nas mãos daqueles que tem coragem
de sonhar e correr o risco de viver seus sonhos”.*

(Paulo Coelho)

RESUMO

BAETA, D. S. **Avaliação de características físico-químicas e bioquímicas do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) em suas diversas formas de armazenamento.** 2013. 123 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2013.

O Cerrado ocupa aproximadamente 22% do território nacional e compreende uma grande variabilidade tanto de clima e de solo, quanto de fauna e de flora. Dentre suas espécies típicas, o pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) é conhecido, consumido e cultivado principalmente por populações nativas desse bioma, sendo considerado como “rei do Cerrado” devido ao seu valor alimentício, nutricional e socioeconômico. Possui índices altos de carboidratos, proteínas, vitaminas e sais minerais, além de um sabor peculiar. Tem na culinária sua principal utilização. É um fruto sazonal, cuja carência na entressafra é suprida utilizando-se a polpa, parte do fruto comestível, em conservas, em pastas e congelada. Dessa forma, esse trabalho teve como proposta avaliações físico-químicas e bioquímicas do pequi em duas diferentes formas de armazenamento: *in natura* e em conserva. Dados obtidos mostraram o pH da polpa *in natura* de 5,4, sendo considerado pouco ácido, e o em conserva de 3,8, considerado muito ácido, evitando assim a deterioração e o crescimento de bactérias, fungos e leveduras. Extratos aquosos e etanólicos das amostras apresentaram conteúdo proteico de 0,19 g.100g⁻¹ à 11,88 g.100g⁻¹, sendo a extração aquosa mais eficiente e os valores para a polpa *in natura* estão de acordo com a literatura. Em relação ao teor de compostos fenólicos, da polpa *in natura* liofilizada, foi superior aos encontrados em várias frutas brasileiras e, neste caso, a extração etanólica foi a mais eficiente. Os valores de vitamina C da polpa de pequi *in natura* (76,53 mg.100g_{polpa}⁻¹) e em conserva (99,17 mg.100g_{polpa}⁻¹) indicaram que este fruto é fonte média desta vitamina, sendo que o teor no fruto *in natura* foi superior ao de algumas frutas cítricas e tropicais, como do limão e da goiaba. A atividade antioxidante, das amostras liofilizadas, pode estar relacionada com o conteúdo de fenóis e com o teor de vitamina C, ambos determinados neste estudo. Amostras *in natura* e em conserva apresentaram, em extratos aquoso e etanólico, respectivamente: ABTS^{•+} - IC₅₀ de 0,29 mg.mL⁻¹ e 0,19-0,34 mg.mL⁻¹; DPPH[•] - dados qualitativos, sem IC₅₀; e HOCl - IC₅₀ de 0,30-0,70 mg.mL⁻¹ e 1,21-2,17 mg.mL⁻¹. A análise cinética da PPO mostrou valores de unidade de atividade na polpa *in natura* (1.577,40 UA.mL⁻¹) o dobro em relação a em conserva (744,03 UA.mL⁻¹), que pode estar associada com a quantidade de fenóis. No caso da AO, foram encontrados valores da polpa *in natura* e em conserva de 717,00 UA/mmol.L⁻¹.min⁻¹ e 756,9 UA/mmol.L⁻¹.min⁻¹, respectivamente, que pode estar relacionado com o teor de vitamina C. Os valores de pH ótimo, de catálise, para as amostras *in natura* e em conserva, foram respectivamente: AO - 5,0 e 6,0; PPO - 7,0 e 5,0. Em relação a temperatura ótima, amostra de pequi em conserva foi 40 °C. A enzima PPO da polpa em conserva mostrou ser termoinstável, até 30 minutos de estocagem, nas temperaturas 55 °C, 65 °C, 75 °C, 85 °C e 95 °C. Os resultados mostraram variações das propriedades entre as amostras estudadas, podendo indicar condições de processamento industrial e armazenamento, mantendo as propriedades organolépticas e valor nutricional do pequi.

Palavras-Chaves: Pequi. Ascorbato oxidase. Polifenoloxidase. Proteínas. Compostos fenólicos. Vitamina C. Capacidade antioxidante.

ABSTRACT

BAETA, D. S. **Evaluation of physicochemical and biochemical characteristics of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) in its various forms of storage.** 2013. 123 f. Dissertation (Master of Biotechnology) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2013.

The Cerrado occupies approximately 22% of the national territory and it comprises a large variability both in climate and soil, as of fauna and flora. Among its typical species, the pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) is known, consumed and grown mainly by native populations of this biome, being considered as "King of the Cerrado" due to its nutritional and socioeconomic values. It has high levels of carbohydrates, proteins, vitamins and minerals, plus a peculiar flavor. It has its main use in culinary. It is a seasonal fruit, and in the offseason the demand is supplied with the pulp, the part of the fruit that is edible, in preserves, paste and frozen. Thus, this work had the purpose to perform physicochemical and biochemical analysis of pequi in two different storage forms: fresh and preserved. Data obtained showed pH of fresh pulp of 5.4, being considered slightly acidic, and pickled of 3.8, considered too acidic, thus avoiding deterioration and the growth of bacteria, fungi and yeasts. Water and ethanol extracts of samples presented protein content of 0.19 g.100g⁻¹ to 11.88 g.100g⁻¹, with an aqueous extraction more efficient and the values for the fresh pulp are consistent with the literature. In relation the phenolic content, of fresh pulp lyophilized, they are superior to those found in several Brazilian fruits and, in this case, the ethanolic extract was the most effective. The values of vitamin C from fresh pulp pequi (76.53 mg.100g_{pulp}⁻¹) and preserved (99.17 mg.100g_{pulp}⁻¹) indicated that this fruit is an average source of this vitamin, and the content in fresh fruit was higher than in some tropical and citrus fruits such as lemon and guava. The antioxidant activity, of lyophilized samples, can be related to the phenolic content and the content of vitamin C, both determined in this study. Fresh samples and preserved presented, in aqueous and ethanol extracts, respectively: ABTS⁺ - IC₅₀ of 0.29 mg.mL⁻¹ and from 0.19-0.34 mg.mL⁻¹; DPPH[•] - qualitative data, without IC₅₀; and HOCl - IC₅₀ of 0.30-0.70 mg.mL⁻¹ and 1.21-2.17 mg.mL⁻¹. Kinetic analysis of PPO showed values of unit activity in fresh pulp (1,577.40 UA.mL⁻¹) twice with amount compared to preserved (744.03 UA.mL⁻¹), which can be associated with the amount of phenols. In the case of AO, values of the fresh pulp and into preserved 717.00 UA/mmol.L⁻¹.min⁻¹ and 756.9 UA/mmol.L⁻¹.min⁻¹ were found, respectively, which can be related to the content of vitamin C. The values of optimum pH, from catalysis, for fresh and preserved samples, were respectively: AO - 5.0 and 6.0; PPO - 7.0 and 5.0. In relation to optimum temperature, sample preserved pequi was 40 °C. The enzyme PPO pulp preserved showed to be thermoinstable up to 30 minutes of storage at temperatures 55 °C, 65 °C, 75 °C, 85 °C and 95 °C. The results showed variation of properties among the samples may indicate conditions of industrial processing and storage, maintaining the organoleptic and nutritional value of pequi.

Key Words: Pequi. Ascorbate oxidase. Polyphenoloxidase. Proteins. Phenolic compounds. Vitamin C. Antioxidant capacity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Mapa de ocorrência do bioma Cerrado no Brasil.....	28
Figura 2	– Pequizeiro adulto.....	32
Figura 3	– Locais de ocorrência natural de pequizeiro (<i>Caryocar brasiliense Camb</i>) no Brasil.....	33
Figura 4	– Utilizações do pequizeiro.....	36
Figura 5	– Pequi (<i>Caryocar brasiliense Camb.</i>).....	37
Figura 6	– Frutos do pequizeiro.....	38
Figura 7	– Estrutura cristalográfica da enzima ascorbato oxidase.....	46
Figura 8	– Estrutura cristalográfica da enzima polifenoloxidase.....	49
Figura 9	– Estrutura química do ácido ascórbico.....	51
Figura 10	– Estrutura química básica dos flavonoides.....	53
Figura 11	– Estrutura química básica dos principais ácidos hidroxibenzoicos.....	53
Figura 12	– Estrutura química básica dos principais ácidos hidroxicinâmicos.....	54
Figura 13	– Estrutura química da flavan-3-ol.....	54
Figura 14	– Estrutura química da flavan-3,4-diol.....	55
Figura 15	– Estrutura química básica do tocoferol.....	55
Figura 16	– Estrutura química básica do tocotrienol.....	56
Figura 17	– Pequi <i>in natura</i>	63
Figura 18	– Pequi em conserva.....	64
Figura 19	– Esquema para obtenção de extrato de pequi.....	66
Figura 20	– Estrutura química do ABTS.....	70
Figura 21	– Estrutura química do radical DPPH [•]	71
Figura 22	– Esquema para obtenção do pó cetônico de polpa de pequi.....	73
Figura 23	– Pequizeiro localizado na cidade de Cardoso – SP.....	78
Figura 24	– Pequizeiro localizado no Sítio Pérola II.....	79
Figura 25	– Interações dos íons Cu ²⁺ com ligações peptídicas presentes em proteínas.....	82
Figura 26	– Reação das amostras de pequi com DPPH [•]	92

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	– Curva analítica para determinação do coeficiente de absorvidade de proteínas.....	67
Gráfico 2	– Curva analítica para determinação do coeficiente de absorvidade de fenóis.....	68
Gráfico 3	– Curva analítica para determinação do coeficiente de absorvidade do ácido ascórbico.....	69
Gráfico 4	– Comportamento da extração aquosa e etanólica das proteínas totais das polpas de pequi.....	83
Gráfico 5	– Comportamento da extração aquosa e etanólica de fenóis das polpas de pequi.....	85
Gráfico 6	– Conteúdo de vitamina C encontrado nas amostras de pequi.....	88
Gráfico 7	– Potencial antioxidante de pequi <i>in natura</i> e em conserva utilizando ABTS ⁺	90
Gráfico 8	– Potencial antioxidante de pequi <i>in natura</i> e em conserva utilizando HOCl.....	93
Gráfico 9	– Comportamento enzimático da AO <i>in natura</i>	95
Gráfico 10	– Atividade enzimática da AO de pequi <i>in natura</i> e em conserva....	96
Gráfico 11	– Comportamento enzimático da PPO em conserva.....	97
Gráfico 12	– Atividade enzimática da PPO de pequi <i>in natura</i> e em conserva..	98
Gráfico 13	– Efeito do pH na atividade da AO de pequi <i>in natura</i>	100
Gráfico 14	– Efeito do pH na atividade da AO de pequi em conserva.....	101
Gráfico 15	– Efeito do pH na atividade da PPO de pequi <i>in natura</i>	102
Gráfico 16	– Efeito do pH na atividade da PPO de pequi em conserva.....	103
Gráfico 17	– Efeito da temperatura na atividade da PPO de pequi em conserva.....	104
Gráfico 18	– Efeito da estabilidade térmica na atividade da PPO de pequi em conserva.....	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– pH das polpas de pequi a 25°C.....	80
Tabela 2	– Comparação do pH encontrado por diversos autores.....	81
Tabela 3	– Conteúdo de proteína total nas amostras de pequi.....	81
Tabela 4	– Comparação do conteúdo proteico encontrado por diversos autores.....	82
Tabela 5	– Conteúdo de fenóis totais nas amostras de pequi.....	84
Tabela 6	– Conteúdo de vitamina C encontrado nas amostras de pequi.....	86
Tabela 7	– Potencial antioxidante de pequi <i>in natura</i> e em conserva utilizando ABTS ⁺	89
Tabela 8	– Potencial antioxidante de pequi <i>in natura</i> e em conserva utilizando HOCl.....	92
Tabela 9	– Atividade enzimática da AO de pequi <i>in natura</i> e em conserva.....	95
Tabela 10	– Atividade enzimática da PPO de pequi <i>in natura</i> e em conserva....	98
Tabela 11	– Atividade específica da AO e da PPO de pequi <i>in natura</i> e em conserva.....	99

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a	Coeficiente de absorvidade
A	Absorbância
ABTS	2,2'-azinobis-(3etilbenzotiazolin-6-ácido sulfônico)
ABTS ^{•+}	Cátion radical do ABTS
AE	Atividade específica
AO	Ascorbato Oxidase
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
BHA	Butil-hidroxi-anisol
BHT	Butil-hidroxi-tolueno
BSA	Soro albumina bovina
c	Concentração da amostra
c.o.	Caminho óptico
cm	Centímetros
DCFH	2,6-diclorofenolindofenol
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazina
DPPH [•]	Radical do DPPH
EC	Comissão de Enzimas
EGA	Equivalentes de ácido gálico
ERO	Espécies reativas de oxigênio
g	Gramas
g.(100g de polpa) ⁻¹	Gramas por cem gramas de polpa
g.100g ⁻¹	Gramas por cem gramas
g.mL ⁻¹	Gramas por mililitros
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
IBDF	Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal
IUBMB	União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular
m	Metro
mg.(100g de polpa) ⁻¹	Miligrama por cem gramas de polpa
mg.100g ⁻¹	Miligrama por cem gramas
mg.mL ⁻¹	Miligrama por mililitro
min	Minutos

mL	Mililitros
mm	Milímetros
mmol	Milimol
mmol.L ⁻¹	Milimol por litro
mmol ⁻¹ .L.cm ⁻¹	Por milimol por litros por centímetros
mmol _{trolox} .g _{amostra} ⁻¹	Milimol de trolox por grama de amostra
mol.L ⁻¹	Mol por litro
mol ⁻¹ .cm ⁻¹	Por mol e centímetro
n=3	Número de repetições igual a 3
nm	Nanômetro
pH	Potencial hidrogeniônico
pHmetro	Peagâmetro
POD	Peroxidases
PPO	Polifenoloxidase
s	Segundos
TBHQ	terc-butil-hidroquinona
TMB	Tetrametilbenzidina
UA	Unidade de atividade
UA.mg de proteína ⁻¹	Unidade de atividade por miligramas de proteína
UA.mL ⁻¹	Unidade de atividade por mililitros
UA/mmol.L ⁻¹ .min ⁻¹	Unidade de atividade por milimol por litros por minuto
UV	Ultravioleta
UV/VIS	Ultravioleta/visível
V _v	Volume por volume
µmHg	Microlitro de mercúrio
µg.mL ⁻¹	Micrograma por mililitro
µL	Microlitro
µmol.L ⁻¹	Micromol por litro

LISTA DE SÍMBOLOS

1:1	Um para um
1:2	Um para dois
1:5	Um para cinco
1:20	Um para vinte
<	Menor que
>	Maior que
±	Mais ou menos
%	Por cento
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
ε	Coeficiente de extinção molar
O ₂	Gás oxigênio
CH ₃	Metila
Cu ²⁺	Cátion cobre de valência dois
H	Hidrogênio
HOCl	Ácido hipocloroso
OCH ₃	Metoxilo
OH	Hidroxila
EC 1.10.3.1	<i>p</i> -difenol oxirredutase
EC 1.10.3.2	<i>o</i> -difenol oxirredutase
EC: 1.10.3.2	Lacase
EC: 1.10.3.3	Ascorbato oxidase
EC 1.14.18.1	Monofenol monoxigenase
EC: 1.16.3.1	Ceruloplasmina
<i>g</i>	Força relativa de centrifugação
k _M	Constante de Michaelis-Menten
°C	Graus Celsius
IC ₅₀	Índice de antioxidante necessária para inibir 50% de radical
TEAC	Capacidade antioxidante equivalente ao trolox

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	24
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	27
2.1	Cerrado brasileiro.....	28
2.2	Frutos do Cerrado brasileiro.....	30
2.3	Pequi.....	32
2.4	Pequi.....	37
2.5	Propriedades bioquímicas e físico-químicas.....	40
2.6	Proteínas.....	41
2.7	Enzimas.....	42
2.7.1	Ascorbato oxidase.....	45
2.7.2	Polifenoloxidase.....	47
2.8	Vitamina C.....	50
2.9	Compostos fenólicos.....	51
2.10	Compostos antioxidantes.....	56
3	OBJETIVOS.....	58
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	60
4.1	Materiais.....	61
4.1.1	Reagentes.....	61
4.1.2	Equipamentos.....	62
4.1.3	Obtenção da matéria-prima.....	62
4.1.4	Tratamento e obtenção das polpas.....	63
4.2	Métodos.....	64
4.2.1	Obtenção da polpa liofilizada.....	64
4.2.2	Obtenção de extratos das polpas em diferentes solventes.....	65
4.2.3	Determinação do pH.....	66
4.2.4	Determinação do conteúdo de proteína.....	66
4.2.5	Determinação do conteúdo de compostos fenólicos.....	67
4.2.6	Determinação do conteúdo de vitamina C.....	69
4.2.7	Investigação do potencial antioxidante.....	70
4.2.7.1	Ensaio de sequestro do cátion radical ABTS ⁺	70
4.2.7.2	Ensaio de sequestro do radical DPPH [•]	71
4.2.7.3	Ensaio de sequestro do HOCl.....	72

4.2.8	Isolamento da enzima AO.....	72
4.2.9	Isolamento da enzima PPO.....	73
4.2.10	Estudos cinético-enzimáticos da AO.....	74
4.2.11	Estudos cinético-enzimáticos da PPO.....	75
4.2.12	Determinação da atividade específica das enzimas AO e PPO.....	75
4.2.13	Determinação de parâmetros cinéticos da AO e da PPO.....	75
4.2.13.1	Efeito do pH na atividade da AO.....	75
4.2.13.2	Efeito do pH na atividade da PPO.....	76
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	77
5.1	Determinação do pH.....	80
5.2	Determinação do conteúdo de proteína.....	81
5.3	Determinação do conteúdo de compostos fenólicos.....	83
5.4	Determinação do conteúdo de vitamina C.....	86
5.5	Investigação do potencial antioxidante.....	88
5.5.1	Ensaio de sequestro do cátion radical ABTS ⁺	89
5.5.2	Ensaio de sequestro do radical DPPH [•]	91
5.5.3	Ensaio de sequestro do HOCl.....	92
5.6	Estudos cinético-enzimáticos da AO.....	94
5.7	Estudos cinético-enzimáticos da PPO.....	96
5.8	Determinação da atividade específica das enzimas AO e PPO.....	98
5.9	Determinação dos parâmetros cinéticos da AO e da PPO.....	99
5.9.1	Determinação do pH ótimo da AO.....	100
5.9.2	Determinação do pH ótimo da PPO.....	101
5.9.3	Determinação da temperatura ótima de ensaio da PPO.....	103
5.9.4	Efeito da estabilidade térmica da PPO.....	104
6	CONCLUSÃO.....	107
	REFERÊNCIAS.....	109

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado é o segundo bioma brasileiro em extensão geográfica, ultrapassado apenas pela Floresta Amazônica, e ocupa mais de dois milhões de quilômetros quadrados e uma extensa área contínua localizada no Brasil Central, além de algumas penínsulas e áreas disjuntas periféricas que se estendem por outros Estados, inclusive no Estado de São Paulo (PROENÇA; OLIVEIRA; SILVA, 2006).

É caracterizado por apresentar fisionomias e composições florísticas variáveis e abrange uma diversidade de fauna e flora (PINTO; LENZA; PINTO, 2009) e, por ser um recurso natural renovável, se preservado e/ou manejado adequadamente, pode garantir a conservação de sua fauna e flora nativa, resguardando sua biodiversidade, além de gerar matéria-prima para a indústria e ocupação para um grande número de pessoas das regiões em que é encontrado (POZO, 1997).

Nesta região há um considerável número de espécies com frutos comestíveis que são utilizados há muito tempo pelas populações locais. Esses frutos nativos, provenientes de atividades extrativistas, são comercializados e consumidos *in natura* ou na produção de doces, geleias, sucos e entre outros produtos (VILAS BOAS, 2009; SILVA et al., 2008). Apesar da maioria desses frutos possuir alto teor nutricional (SILVA et al., 2008), atualmente, existem poucos estudos sobre esta característica (LIMA, 2008).

Entre as espécies típicas do Cerrado, o pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) é amplamente aproveitado pela população, considerado como “rei do Cerrado” (LIMA, 2008) devido aos seus valores alimentício, nutricional, ornamental, medicinal e, sobretudo, socioeconômico (KERR; SILVA; TCHCARRAMAE, 2007).

O pequizeiro é uma árvore com múltiplas aplicações desde sua raiz até seu fruto, utilizado nas indústrias: alimentícia; artesanal; cosmética; de combustíveis; de construções civil, rural e naval; de limpeza; de lubrificantes; medicinal; de ração animal; e siderúrgica. Entretanto, o maior aproveitamento do pequizeiro está no uso do fruto na alimentação, devido ao seu grande valor nutritivo (VILAS BOAS, 2009).

Na culinária regional, os pratos com o pequi são o ponto alto de interesse, com odor forte e característico (OLIVEIRA et al., 2008), consumido principalmente pelas populações que habitam as regiões em que são encontrados, sendo o Estado de Minas Gerais seu principal produtor e consumidor (LIMA et al., 2007).

A exploração do pequi é considerada uma prática ambientalmente sustentável, desde sua coleta, transporte, beneficiamento, comercialização até o consumo, tanto do fruto *in natura* quanto dos produtos derivados (LIMA et al., 2007).

O pequi é um fruto sazonal e possui um período de ocorrência de floração, de frutificação e de maturação muito variáveis, devido à abrangência geográfica de dispersão, associada aos gradientes geográficos que ocorrem no Brasil. Verificam-se pequenas variações desses períodos nas diversas regiões onde os frutos são cultivados. Dependendo do local, sua floração inicia-se principalmente entre os meses de julho a novembro. Já sua maturação segue a mesma tendência, ocorrendo entre os meses de setembro a fevereiro (OLIVEIRA et al., 2008).

Por ser um fruto sazonal e possuir um processo de maturação de aproximadamente três meses, existe uma carência do pequi na entressafra. Assim, para dispor do fruto neste período, há em desenvolvimento meios de beneficiamento, de comercialização e de produção de subprodutos dessa frutífera, tais como polpa congelada e pequi em conserva (OLIVEIRA et al., 2008). Portanto, o estudo sobre as propriedades físico-químicas e bioquímicas do pequi, em suas diferentes formas (polpa *in natura* e polpa em conserva), visa melhores condições de processamento e de armazenamento para que as propriedades organolépticas do fruto sejam mantidas e que possam ser aplicadas no ramo alimentício.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cerrado brasileiro

O Brasil possui a maior variedade biológica do planeta distribuída em seus diferentes ecossistemas, onde estão cerca de 30% das espécies de plantas e de animais conhecidas em todo o mundo (AVIDOS; FERREIRA, 2000).

O Cerrado (Figura 1) é encontrado, principalmente, nos Estados de Goiás, Tocantins e Distrito Federal, porções nos Estados da Bahia, Ceará, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Piauí, Rondônia e algumas áreas disjuntas nos Estados do Amapá, Amazônia, Pará, Roraima e São Paulo (ALMEIDA et al., 1998; RIBEIRO; WALTER, 1998), abrange mais de 200 milhões de hectares (SANO et al., 2007; MACHADO et al., 2004), ocupando cerca de 22% do território nacional (MENDONÇA et al., 1998).

Figura 1 – Mapa de ocorrência do bioma Cerrado no Brasil.



Fonte: IBGE (2004).

No Estado de São Paulo, essa vegetação apresenta-se em manchas fragmentadas, localizada principalmente na Depressão Periférica e no Planalto Ocidental Paulista e em algumas áreas no Vale do Paraíba. Em meados do século XX, essas manchas correspondiam aproximadamente a 14% do território paulista (SÃO PAULO, 1997) e, devido principalmente ao intenso e rápido desmatamento,

atualmente é encontrada em menos de 1% (DURIGAN; FRANCO; SIQUEIRA, 2004).

O Cerrado possui clima predominantemente tropical, apresentando duas estações definidas, um inverno seco e um verão chuvoso, com precipitação anual de aproximadamente 1.500 mm (FERREIRA, 2008). As temperaturas dessa região ficam, em média, entre 22 a 27°C durante o ano, sendo que a máxima pode passar dos 40°C (PORTAL BRASIL, 2012; GOMES, 2008). Além disso, encontram-se neste bioma as nascentes de 6 das 8 grandes bacias hidrográficas brasileiras, ressaltando entre elas a do Tocantins, a do São Francisco e a do Paraná, destacando os recursos hídricos presentes no Cerrado (PORTAL BRASIL, 2012; LIMA; SILVA, 2002).

O relevo das áreas de Cerrado é plano ou suave ondulado, predominando planaltos ou chapadões. Em torno de 50% de sua área possui altitudes entre 300 a 600 m (PORTAL BRASIL, 2012). É caracterizado por apresentar árvores de baixo porte de troncos tortuosos, ramos retorcidos, cascas espessas e folhas grossas, dispersas e espalhadas em meio a arbustos e a uma vegetação rala e rasteira (PORTAL BRASIL, 2012; GOMES, 2008).

O Cerrado abrange uma vasta variação de fitofisionomias¹ de vegetação, como: campo limpo, campo sujo, campo cerrado, cerrado típico e cerradão (RIBEIRO; WALTER, 1998). O solo desse bioma apresenta cores que variam entre o vermelho escuro a amarelo, predominando o tipo Latossolo Vermelho, que é profundo, bem drenado, possui baixa fertilidade, com acidez elevada, com alto teor de ferro e de alumínio e baixa concentração de matéria orgânica, de cálcio, de magnésio, de fósforo e de potássio. Podem ser encontrados também os tipos Argissolo e Neossolo Quartzarênico (PORTAL BRASIL, 2012; SILVA et al., 2001; EMBRAPA, 1999; REATTO; CORREIA; SPERA, 1998; ADÂMOLI et. al, 1986).

Compreende uma diversidade de fauna e flora que são parcialmente conhecidas, porém riquíssimas, sendo que várias espécies já foram identificadas (MENDONÇA et al., 1998). Estima-se que sua biodiversidade ultrapasse 10 mil espécies, superior a outras floras mundiais (PORTAL BRASIL, 2012), sendo o tipo de savana mais rico mundialmente (RATTER; BRIDGEWATER; RIBEIRO, 2006).

¹ Aspecto da vegetação de um lugar.

É um dos ambientes mais ameaçados do mundo, restando apenas 20% de cobertura original de vegetação nativa, sendo que as áreas remanescentes dessa vegetação são cada vez mais pressionadas pela expansão da atividade agropecuária (CONSERVAÇÃO INTERNACIONAL, 2012).

Todavia, pesquisas que vêm sendo realizadas mostram o alto potencial econômico do Cerrado, especialmente nas áreas de: alimentos (já se conhece cerca de 80 espécies vegetais que fornecem frutos, sementes ou palmitos que servem para a alimentação do homem); produção de fibras; produção de cortiça (há cerca de 20 espécies que já são utilizadas para esse fim); produção de tanino; produção de gomas, resinas e látex; produção de óleos e gorduras; uso medicinal (mais de 100 espécies vegetais são usadas para a cura e prevenção de doenças); plantas ornamentais; artesanato; e plantas apícolas (DIAS, 1992).

2.2 Frutos do Cerrado brasileiro

O Cerrado possui inúmeras espécies com frutos comestíveis que são fonte alimentícia e base de sustentação para as populações locais, provenientes de atividade extrativista e predatória. Normalmente, uma ampla quantidade de frutos nativos encontra-se sendo comercializada em margens de rodovias, em feiras regionais, em bares, em mercados e em supermercados a preços competitivos, alcançando grande aceitação popular, com existência de mercado potencial e emergente (PARTELLI et al., 2010; ALMEIDA, 1998).

São muito usados para o consumo *in natura* ou beneficiados por indústrias caseiras em diversas formas, como doces, geleias, sorvetes, bolos, mingaus, biscoitos, pães e licores, com uma boa aceitação popular (VILAS BOAS, 2009; SILVA et al., 2008).

Essas espécies, por estarem adaptadas às limitações encontradas no Cerrado, como as secas, a resistência ao sol e as queimadas, o que permite seu desenvolvimento e estabilidade em solos pobres em nutrientes, também são utilizadas no enriquecimento da flora, no plantio em parques e jardins, em áreas de proteção ambiental, na recuperação de áreas desmatadas ou degradadas, no plantio intercalado com reflorestas e em áreas acidentadas, para controle da erosão, além de serem usadas na formação de pomares domésticos e comerciais (VIEIRA et al., 2010).

Algumas frutíferas encontradas no Cerrado já são usadas há muitos anos, como: a mangaba na produção de látex; o palmito da guariroba na produção de conservas; a polpa e o óleo da macaúba na fabricação de sabão de coco; o babaçu e a macaúba na utilização em motores de combustão, em substituição ao óleo diesel (PARTELLI et al., 2010). Segundo Avidos e Ferreira (2000) há cerca de 60 espécies conhecidas e utilizadas pela população local e até mesmo por de outros estados.

A maioria desses frutos possui altos teores de carboidratos, proteínas, vitaminas e sais minerais, além de possuírem propriedades peculiares, sabores muito característicos, cores atrativas e formas variadas (SILVA et al., 2001). Não há muitos estudos sobre as propriedades nutricionais dos frutos do Cerrado, todavia estudos sobre essas características, bem como sobre o desenvolvimento e aprimoramento de técnicas para agregação de valores nutricionais e econômicos, são fundamentais para a divulgação desses produtos e para a expansão da culinária local em níveis nacional e internacional, gerando meios sustentáveis de renda para as populações dessas regiões (VILAS BOAS, 2009; LIMA, 2008).

Ultimamente, várias pesquisas estão sendo realizadas com espécies frutíferas do bioma Cerrado (MALTA, 2011; RAMOS, 2010; ROESLER, 2007), porém, há uma carência de informações sobre os processos de produção de mudas, de cultivo, da composição nutricional e, principalmente, do processamento desses frutos, além da falta de divulgação dessas técnicas e dos resultados das pesquisas aos agricultores e indústrias, principais interessados nessas tecnologias e responsáveis diretamente pela produção desse tipo de alimento (PARTELLI et al., 2010).

Muitos agricultores e empresas produzem e comercializam os frutos do Cerrado de forma eficiente para o mercado nacional e internacional, necessitando de constantes atualizações de avanços tecnológicos, tendo em vista as exigências do mercado.

A exploração agropecuária acelerada no Cerrado teve consequências no desenvolvimento socioeconômico e ambiental desta região. Assim, a conservação do ambiente de plantio de árvores frutíferas nativas é de suma importância para promover um sistema de produção economicamente viável, ecologicamente sustentável, socialmente justo e culturalmente aceitável.

Contudo, para alcançar metas de desenvolvimento sustentável, a utilização de recursos naturais de forma racional é indispensável, o que demandará o emprego de novas tecnologias. Dentre essas tecnologias que apresentam potencial para contribuição de formas sustentáveis destaca-se a Biotecnologia, especialmente nos campos de produção de alimentos, além de geração de energia, da prevenção da poluição ambiental e de biorremediação² (SCHENBERG, 2010).

2.3 Pequizeiro

O pequizeiro (Figura 2) pertence à família *Caryocaraceae*, que possui dois gêneros *Caryocar* L. e *Anthodiscus* G. Mey e aproximadamente 25 espécies. No território brasileiro é possível encontrar 13 delas, em que 10 são do gênero *Caryocar* e 3 do gênero *Anthodiscus* (SOUZA, 2005).

Figura 2 – Pequizeiro adulto.



Fonte: Vieira et al. (2010).

As plantas da família *Caryocaraceae* ocorrem, no Brasil, no Distrito Federal e nos Estados da Bahia, do Ceará, de Goiás, do Maranhão, do Mato

² Uso de organismos vivos (algas verdes, fungos, microrganismos, plantas ou suas enzimas) na limpeza ou descontaminação de áreas ambientais afetadas por poluentes diversos.

Grosso, do Mato Grosso do Sul, de Minas Gerais, do Pará, do Paraná, do Piauí, de São Paulo e do Tocantins (SILVA JÚNIOR, 2005). Podem ser encontradas também em outros países da América do Sul, como na Colômbia, na Guiana, na Guiana Francesa, no Paraguai, no Peru e na Venezuela (MELO JUNIOR et al., 2004; SANO; ALMEIDA, 1998).

Apesar de grande parte da família *Caryocaraceae* ser proveniente da Região Amazônica, a espécie *Caryocar brasiliense* é a mais incidente no Brasil Central (Figura 3) se adaptando a uma maior variedade de ambiente, sendo a mais característica da vegetação do Cerrado (SILVA et al., 2001). Essa espécie é encontrada nas áreas de Cerrado no Distrito Federal e nos Estados da Bahia, de Goiás, do Maranhão, do Mato Grosso, do Mato Grosso do Sul, de Minas Gerais, do Paraná, de Rondônia, de São Paulo e do Tocantins (CARVALHO, 2008; SILVA JÚNIOR, 2005; RIBEIRO, 2000) e considerada a mais importante devido sua maior ocorrência no Brasil e do ponto de vista socioeconômico, sendo as demais espécies de ocorrência restritas a algumas áreas do Cerrado (SOUZA JÚNIOR, 2012; LOPES et al., 2010; BRASIL, 2007).

Figura 3 – Locais de ocorrência natural de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) no Brasil.



Fonte: Carvalho (2008).

O pequizeiro é uma árvore arbustiva³ a arbórea⁴, de altura variável que, quando adulta, pode ultrapassar 10 m, ou ter porte pequeno, isso devido à baixa fertilidade do solo ou de fatores genéticos. Possui o tronco tortuoso com casca áspera, com fendas, espessa, rugosa e os ramos angulosos, grossos com ramificação cimosa⁵, resultando numa copa espalhada e arredondada. As folhas são opostas, trifolioladas⁶ pubescentes⁷. As inflorescências⁸ são racemos⁹ terminais, contendo de 10 a 30 flores. As flores são hermafroditas, vistosas, de simetria radial com 5 sépalas¹⁰ verde-avermelhadas e 5 pétalas de coloração amarelo-claro (VIEIRA et al., 2010; CARVALHO, 2008). A partir do oitavo ano, floresce e frutifica num período de 12 meses (ARAÚJO, 1994).

A grande parte dos eventos fenológicos¹¹ dessa árvore acontecem durante a estação de seca, porém na estação de chuvas as atividades morfogênicas¹², exceto o desenvolvimento e a maturação¹³ dos frutos, aparentemente cessam. Na estação de seca, inicia-se a queda das folhas, intensificando-se, geralmente, no mês de junho ou julho, e no final desta, normalmente, começa a floração, que pode se prolongar até o início das chuvas. Após a floração, os frutos alcançam a maturidade, cerca de 3 a 4 meses. A maturação ocorre em meados de novembro, prolongando-se até o início de fevereiro (GRIBEL, 1986). Os frutos de pequi geralmente são coletados no chão, quando caem das árvores após seu amadurecimento. Caso não sejam coletados após a queda natural, os frutos podem se deteriorar rapidamente, em cerca de 2 ou 3 dias (BRAIT, 2008).

É uma planta considerada autocompatível¹⁴. Entretanto, produz frutos, em quantidade significativamente maior por fecundação cruzada¹⁵, na qual estão ligados, principalmente, morcegos, de no mínimo 5 espécies, neste processo, podendo ocorrer, também, através de abelhas, aves, mariposas e até pelo vento

³ Planta compacta, de caule lenhoso e ramificado, menor que uma árvore que ramifica desde o solo.

⁴ Planta de tronco firme, galhos se expandindo e algumas muito altas.

⁵ Quando os ramos laterais crescem mais que o eixo inicial ou central terminando todos com uma flor.

⁶ Folha composta que apresenta 3 folíolos, ou seja, subdivisões das folhas das plantas vasculares.

⁷ Parte da planta que é coberta por pelos finos, curtos e macios.

⁸ Disposição dos ramos florais e das flores sobre eles.

⁹ Tipo de disposição dos ramos em cacho.

¹⁰ Parte constituinte da flor.

¹¹ Fenômenos periódicos dos seres vivos e suas relações com as condições ambientais.

¹² Desenvolvimento do organismo.

¹³ Amadurecimento.

¹⁴ Capazes de se autofertilizar com pólen da própria planta.

¹⁵ Consiste em duas plantas se fecundarem simultaneamente.

(GRIBEL; HAY, 1993; GRIBEL, 1986; RIBEIRO, 1979/1980; BARRADAS, 1972). Possui dispersão zoocórica¹⁶ e dentre os consumidores dos frutos, a ema (*Rhea americana*), espécie de elevado potencial como agente dispersor, é capaz de espalhar os propágulos¹⁷ a longa distância por endozoocoria¹⁸, seguida da gralha (*Cyanocorax crostatellus*) e da cotia (*Drasyprocta* sp) que dispersam a curta distância por sinzoocoria¹⁹ (GRIBEL, 1986).

O pequizeiro é uma árvore de diversas utilidades desde sua madeira até seu fruto (Figura 4), com múltiplas aplicações, indo da indústria artesanal até à culinária regional, além de apresentar potencial de uso para a produção de combustíveis e lubrificantes (OLIVEIRA et al., 2008).

O extrato das folhas do pequizeiro apresenta atividade moluscicida²⁰ e antifúngica²¹, *in vitro*, em diversos organismos. A indústria cosmética se beneficia das propriedades do óleo, tanto da polpa como da amêndoa. Porém, na culinária local os pratos com esse fruto são o ponto alto de interesse, com odor forte e característico (OLIVEIRA et al., 2008).

É, também, uma árvore ornamental, isso devido a seu porte e a beleza de suas flores, que atraem diversas espécies de abelhas, sendo considerada uma árvore melífera (ALMEIDA et al., 1998). Além disso, é uma planta que pode ser empregada na recuperação de áreas degradadas, no enriquecimento de extensões de Cerrado, em sistemas agroflorestais e na arborização de pastagens representando uma alternativa para o combate à degeneração da vegetação do Cerrado que ainda resistem aos impactos antrópicos (VIEIRA et al., 2010; CARVALHO, 1994).

O pequizeiro é protegido por lei (Portaria nº 54, de 05 de março de 1987, do Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal – IBDF), impedindo o corte e a comercialização desta árvore no Brasil. Porém, o extrativismo, a exploração florestal dos Cerrados para a produção de carvão siderúrgico e a expansão das fronteiras agrícolas, entre outros motivos, contribuem para a diminuição da espécie, o que tem levado a uma severa diminuição dos exemplares, apesar da significativa produção de frutos (SANTOS et al., 2006; VILELA, 1998; ARAÚJO, 1994).

¹⁶ Modo de dispersão das sementes de uma planta pelos animais, normalmente por aves e roedores.

¹⁷ Estrutura que se desprende de uma planta adulta para dar origem à uma nova planta.

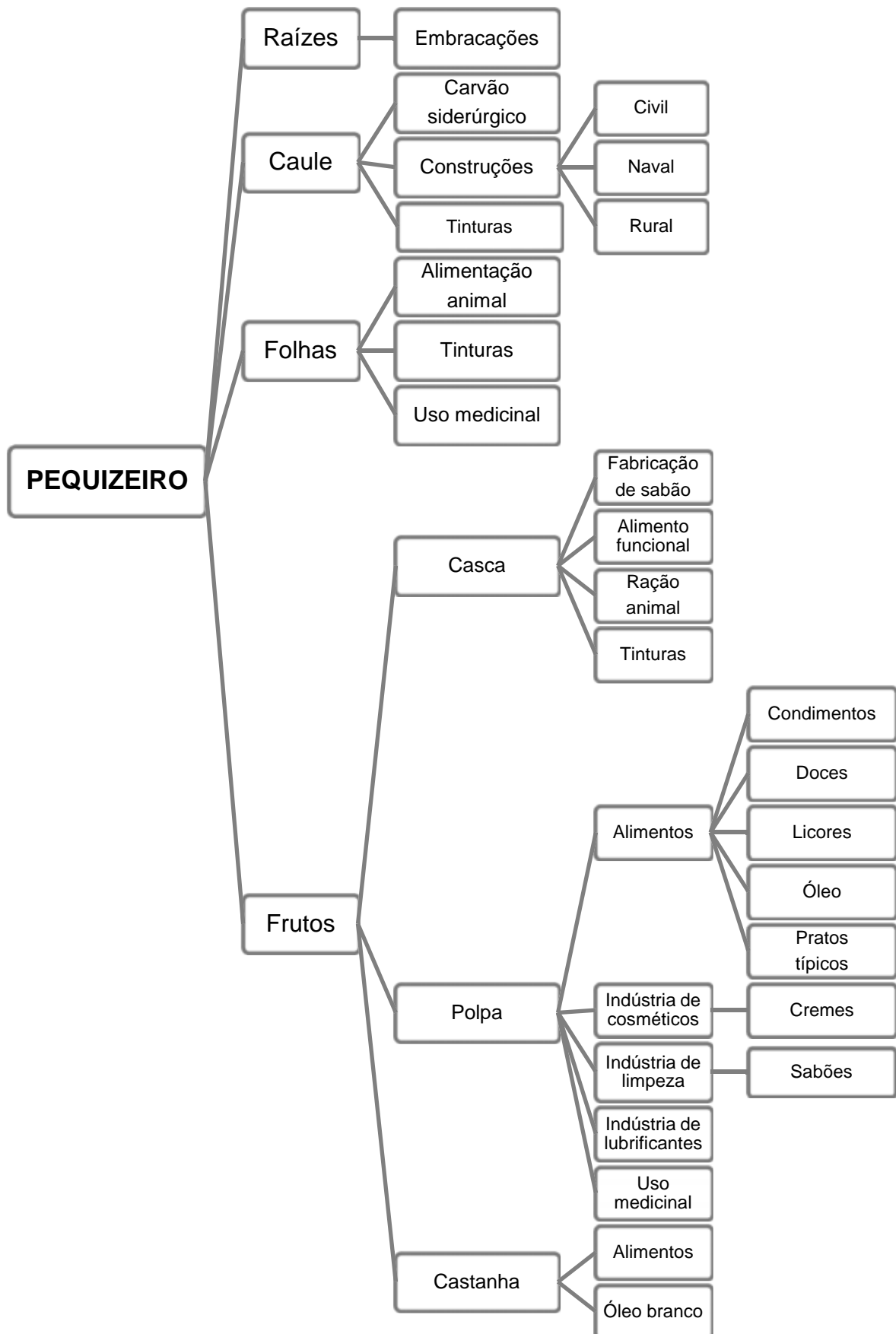
¹⁸ A dispersão se faz através da ingestão e posterior liberação do diásporo.

¹⁹ Os diásporos são deliberadamente carregados, principalmente na boca.

²⁰ Pesticidas usados no controle de moluscos, como as lesmas e caracóis.

²¹ Agentes que previnem ou inibem a proliferação dos fungos ou os destrói.

Figura 4 – Utilizações do pequizeiro.



Fonte: Organizado pelo pesquisador usando a ferramenta SmartArt do Microsoft Word.

Nota: Setores e produtos onde são empregados o pequizeiro.

2.4 Pequi

O nome pequi (Figura 5) é de origem tupi, em que *py* significa casca ou pele e *qui* corresponde a espinho, originando “casca espinhosa”, isso devido aos espinhos do endocarpo²² lenhoso ou do caroço (CARVALHO, 2008). O pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) é conhecido também, conforme o local de sua ocorrência, como almendro, amêndoa-de-espinho, amêndoa-do-Brasil, barbasco, grão de cavalo, pequerim, pequi-do-cerrado, pequiá, pequiá-pedra, pequiá-verdadeiro, pequiá-vermelho, piqui, piquiá, piqui-vinagreiro, piquiá-bravo, pitiá, saco-de-bode ou suari (CARVALHO, 2008; RIBEIRO, 2000).

Figura 5 – Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.).



Fonte: Vieira et al. (2010).

O fruto é do tipo drupa²³, com cerca de 5 a 7 cm de diâmetro, podendo ultrapassar 10 cm, cujo peso varia entre 30 g a 400 g e possui de 1 a 6 pirênios²⁴ (Figura 6) por fruto (CARVALHO, 2008). É constituído: pelo epicarpo²⁵, que possui

²² Camada interna do fruto que protege a semente.

²³ Tipo de fruto carnoso.

²⁴ Caroços.

²⁵ Camada externa do fruto, normalmente, chamado de casca.

coloração esverdeada ou marrom-esverdeada; pelo mesocarpo²⁶ externo, rico em tanino, fibroso e de coloração verde clara ou levemente amarela; pelo mesocarpo interno, porção comestível do fruto que possui geralmente coloração amarelada, mas pode apresentar cor laranja, rósea ou esbranquiçada, e é pastosa e oleaginosa; e pelo endocarpo, parte espinhosa que protege a semente ou amêndoa. A semente, que também pode ser comestível, é revestida por um tegumento fino de coloração marrom (CARVALHO, 2008; RIBEIRO, 2000; ARAÚJO, 1995). A casca deste fruto é responsável por aproximadamente 84% do peso do pequi, sendo que a polpa corresponde a 10% e as sementes a 6% (BARBOSA; AMANTE, 2002; FERREIRA et al., 1988).

Figura 6 – Frutos de pequizeiro.



Fonte: Leandro (2008).

Nota: Observa-se na figura que os frutos contêm 1 a 4 caroços.

A polpa do fruto, parte mais importante em termos de utilização, possui alto valor energético, provindos de lipídios (SEGAL et al., 2006) e é onde se encontram teores médios de vitaminas A (retinol), B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B3 (niacina) e C (ácido ascórbico) (GONÇALVES et al., 2011; ALMEIDA; COSTA; SILVA, 2008; FRANCO, 1999; SANO; ALMEIDA, 1998). Há a presença de diversos carotenoides, porém somente alguns possuem atividade provitamina A, tanto na

²⁶ Camada intermediária do fruto, normalmente, corresponde a polpa.

polpa crua quanto cozida (AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2004; RAMOS et al., 2001).

A polpa e a amêndoa deste fruto são fontes consideráveis de minerais como cálcio, cobre, ferro, fósforo, magnésio, manganês, potássio, sódio e zinco (OLIVEIRA et al., 2010; ALMEIDA; SILVA, 1994). Quanto às proteínas, os teores encontrados na polpa variam de 6,71% a 13,5%; na amêndoa, variam de 24% a 54%; e no óleo, de 42,2% a 47% (OLIVEIRA et al., 2006).

A polpa contém alto teor de fibra bruta, valores médios de carboidratos (VILAS BOAS, 2004) e diversos compostos antioxidantes, como a vitamina C e os compostos fenólicos (ALMEIDA; COSTA; SILVA, 2008; ROESLER, 2007; OLIVEIRA et al., 2006). O óleo da polpa de pequi é constituído, principalmente, pelos ácidos oleico e palmítico, porém apresenta os ácidos palmitoléico, linoleico, esteárico, entre outros (ALMEIDA; COSTA; SILVA, 2008; SEGAL et al., 2006; ALMEIDA, 1998)

O fruto é utilizado mais frequentemente na culinária, sendo raro o seu consumo *in natura*. Sua polpa é utilizada na elaboração de diferentes pratos, como arroz com pequi, feijão com pequi, frango com pequi, cuscuz com pequi e o tradicional baião de três (arroz, feijão e pequi). Também é utilizado na produção de geleias, doces, bolos, farinhas, temperos (líquido e tabletes), cosméticos, sabão artesanal, sucos e sorvetes, ração para porcos e galinhas e na obtenção de óleo (OLIVEIRA et al., 2008).

A polpa fermentada produz um tipo de licor bastante conhecido e apreciado em algumas regiões brasileiras (OLIVEIRA et al., 2008). Também é utilizada para combater diversos tipos de afecções, principalmente as do sistema respiratório (RAMOS et al., 2001; ALMEIDA; SILVA, 1994).

O óleo é rico em ácido graxo oleico, vitaminas A e C, tiamina, proteínas e sais minerais, além de ótima qualidade para o consumo culinário (PEREZ, 2004). É utilizado na medicina popular, atuando contra bronquites, gripes e resfriados, além de possuir efeito tonificante. Usado, também, para sanar problemas oftalmológicos ligados a deficiência de vitamina A, comprovado cientificamente devido ao seu alto teor de carotenoides com atividade provitamina A (ALMEIDA; COSTA; SILVA, 2008; OLIVEIRA et al., 2006, BRANDÃO; LACA-BUENDIA; MACEDO, 2002; RIBEIRO, 1996). É um dos ingredientes de cremes para pele na indústria de cosméticos e de sabões na de limpeza (ALMEIDA et al., 1998). Tem potencial de uso na produção de combustíveis e lubrificantes (OLIVEIRA et al., 2008).

Usa-se a amêndoa como ingrediente de farofas, doces e paçocas, além de ser consumida salgada como petisco (RIBEIRO, 2000; ARAÚJO, 1995).

O pequi é pouco industrializado, sendo explorado, ainda, de forma artesanal. A extração do óleo dos frutos é sua principal forma de processamento. A conserva de pequi, que vem se destacando nas regiões produtoras, recentemente exportada, e a fabricação do licor são outros tipos de processamento (VIEIRA et al., 2010).

Por se tratar de um fruto de fácil produção e com boas características quanto ao sabor e valor nutritivo, pode representar uma potencial fonte na alimentação e sobrevivência de uma parcela da população brasileira (RIBEIRO, 2000; ARAÚJO, 1995).

Exerce grande influência na renda dos agricultores habitantes do Cerrado, além de ter importante papel na sua alimentação, sendo muito consumido pelas populações nativas em que são encontrados (BRAIT, 2008).

Com a demanda por pequis na época de safra, muitos coletores os derrubam direto da árvore (“pequi de vara”), sem que o processo de maturação esteja totalmente completo. Isso afeta a qualidade dos frutos, sendo esse um dos principais problemas do extrativismo atual do pequi (BRAIT, 2008).

Devido ao processo de período de floração, frutificação e maturação do pequi ser de aproximadamente três meses, existe, assim, uma carência desse fruto na entressafra. Dessa forma, para dispor dessa espécie na entressafra, são desenvolvidos processos de produção, de beneficiamento e de comercialização de diversos produtos desse fruto, tais como polpa congelada e diversos tipos de pequi em conserva. Ações dessa natureza agregam cerca de 50% do valor em relação ao produto *in natura* (OLIVEIRA et al., 2008).

2.5 Propriedades bioquímicas e físico-químicas

Um dos critérios utilizados na aceitação ou rejeição do produto pelo consumidor é a cor (BATISTA, 1994). Assim, a coloração tem fundamental importância na avaliação da qualidade de um alimento, pois a percepção visual é o primeiro dos sentidos a ser utilizado na decisão de aceitação do produto.

Durante o processamento e armazenamento de frutos podem ocorrer modificações de cor, o que implica na não aceitação do alimento pelo consumidor,

além de uma significativa perda na qualidade do produto. Essas transformações são decorrentes de reações bioquímicas, sejam enzimáticas ou não, provocando, além da mudança de coloração do fruto, outras alterações indesejáveis, como rancidez, perda de aroma e de valor nutricional.

Em alimentos, naturais ou processados, ocorrem reações enzimáticas que apresentam resultados altamente desejáveis e, também, podem ter consequências indesejáveis.

2.6 Proteínas

As proteínas são constituídas de moléculas de α -aminoácidos ligados entre si por ligações peptídicas covalentes. São as macromoléculas mais abundantes e mais importantes encontradas em todas as partes de todas as células. Há uma grande variedade de tipos de proteínas, sendo encontradas desde pequenos peptídeos até macromoléculas com alta massa molecular. Segundo Nelson e Cox (2006) apresentam uma diversidade de funções biológicas no organismo, como:

- i. Função contrátil ou de motilidade: atuam na contração de células e produção de movimento;
- ii. Função de defesa ou protetora: realizam a defesa do organismo, especializados no reconhecimento e neutralização de vírus, bactérias e outras substâncias estranhas;
- iii. Função enzimática: atuam como catalisador das reações bioquímicas, que ocorrem nas células e/ou em tecidos dos seres vivos;
- iv. Função estrutural: participam da estrutura dos tecidos, conferindo-lhes consistência, elasticidade, forma, rigidez e suporte;
- v. Função hormonal ou reguladora: exercem função específica sobre algum órgão ou estrutura de um organismo;
- vi. Função nutritiva ou de armazenamento: fonte de α -aminoácidos, necessários para a biossíntese de proteínas das células ou dos seres vivos;
- vii. Função de transporte: responsáveis pelo transporte de íons ou moléculas através das membranas celulares ou de um órgão para outro.

As frutas, normalmente, apresentam baixa concentração de proteína, e, no contexto, tem-se de grande importância as enzimas, os catalisadores biológicos.

Essas proteínas estão localizadas, em geral, nos tecidos vegetais, especificamente na parede celular e desempenham um papel sobre a fisiologia e *post-mortem* das frutas (DUCKWORTH, 1966).

As enzimas são as responsáveis pela maioria das mudanças químicas que ocorrem nos tecidos vivos. Nos frutos, a ação enzimática pode ocorrer durante seu amadurecimento e processamento industrial, assim o estudo dessas proteínas é de suma importância para garantir a estabilidade do produto final (DUCKWORTH, 1966).

2.7 Enzimas

As enzimas são macromoléculas proteicas, biossintetizadas no interior das células vivas, com atividade intracelular ou extracelular, que atuam como catalisadores biológicos e que participam de várias reações bioquímicas, tendo como papel fundamental o controle metabólico. Estas moléculas aceleram a velocidade das reações bioquímicas, que ocorrem no meio celular e nos tecidos, sendo versáteis, estereoespecíficas e de elevada importância nos processos biotecnológicos (COELHO; SALGADO; RIBEIRO, 2008; NELSON; COX, 2006).

De acordo com Coelho, Salgado e Ribeiro (2008) podem ser classificadas de diferentes formas, como:

i. Quanto ao modo de ação: endoenzimas, atuam clivando as ligações químicas nas regiões internas da molécula; ou exoenzimas, atuam clivando as ligações a partir das extremidades da molécula a ser biotransformada (substrato);

ii. Quanto à origem: intracelulares, produzidas no interior das células necessitando de uma etapa de rompimento celular para serem liberadas; ou extracelulares, produzidas e secretadas para o meio externo à célula;

iii. Quanto à reação química catalisada: critério mais importante e mais utilizado, normatização estabelecida pela Comissão de Enzimas (EC) da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (IUBMB), que classifica as enzimas em seis grandes classes: as oxidorreductases, catalisam as reações de oxirredução; as transferases, catalisam as reações de transferência de grupos funcionais; as hidrolases, catalisam as reações de hidrólise; as liases, catalisam as reações de remoção de grupos para formar ligações duplas; as isomerases, catalisam as reações de isomerização do substrato; e as ligases, catalisam as reações de

formação de ligações covalentes entre duas moléculas (COELHO; SALGADO; RIBEIRO, 2008).

Atuam sob condições moderadas, sendo catalisadores ideais para utilização na tecnologia de alimentos. São usadas há anos pela indústria alimentícia, para fabricação de cerveja, vinho, queijo e pão, por exemplo (ENZIMAS..., 2011).

Estão envolvidas, nas vias metabólicas, primárias e secundárias, nas frutas e vegetais em geral. Cada classe enzimática desempenha funções específicas, que variam para cada espécie, de acordo com as condições que atuará na biotransformação de seu substrato natural (DUCKWORTH, 1966).

As reações enzimáticas são muito importantes em alimentos. As reações catalisadas por enzimas ocorrem não só no alimento natural, mas também durante seu processamento e armazenamento. A formação de aromas devido à ação enzimática sobre substratos específicos, precursores de aroma, é uma das ações benéficas das enzimas em frutas e vegetais (BOBBIO; BOBBIO, 1992).

A ativação e a inativação enzimática são meios utilizados no processamento de vários produtos na indústria alimentícia. A inativação enzimática visa, principalmente, o impedimento da ação catalítica, quer seja temporária (reação reversível) como permanente (reação irreversível), na regulação metabólica. (EVANGELISTA, 1998).

A indústria alimentícia, atualmente, é uma das principais favorecidas pela ação enzimática tornando os alimentos mais digestivos, nutritivos, saborosos e até mais bonitos. Sua ação catalítica pode ser desejável (AS ENZIMAS..., 2012).

As enzimas podem atuar como auxiliares no processamento de alimentos, e quando adicionadas no processo não são consideradas como aditivos alimentares, como os adoçantes, os espessantes, os antioxidantes, entre outros (AS ENZIMAS..., 2012).

A importância da utilização de enzimas no processamento de alimentos deve-se a diversos fatores, destacando a ação rápida e eficiente em baixas concentrações, a atividade em condições moderadas de pH, temperatura e pressão, a especificidade de ação, a probabilidade de controlar a reação catalítica e a possível toxicidade (AS ENZIMAS..., 2012).

No processamento de alimentos, as principais enzimas envolvidas são as oxidorreduções e as hidrolases. Nas frutas, podem se destacar algumas enzimas que influenciam em sua qualidade, como:

i. As peroxidases (POD) catalisam a degradação peroxidativa dos ácidos graxos insaturados, formando produtos que favorecem o aparecimento de sabor ranço. A POD pode oxidar o ácido ascórbico presente em alimentos e ocasionar mudanças de cor e de sabor. Por ter grande estabilidade, é utilizada como indicador no processamento térmico de produtos enlatados e congelados. E por ser resistente, a atividade desta enzima é, também, usada como indicador de branqueamento e de outros processos industriais, térmicos, envolvendo vegetais e frutas. Estão presentes nos tecidos dos vegetais em geral (CLEMENTE; PASTORE, 1998);

ii. As amilases catalisam a hidrólise do amido, liberando moléculas menores e glicose, catálise que pode ocorrer durante o armazenamento de frutas e vegetais. Presentes em todos os tecidos que contêm amido (ENZIMAS..., 2011; DUCKWORTH, 1966);

iii. As lipases e as lipoxidases podem ocasionar modificações indesejáveis no sabor de frutas e de vegetais desidratados, congelados e no processo de senescência²⁷ do alimento. As lipoxidases também estão ligadas à oxidação de pigmentos carotenoides, que acarretam a perda de cor e da pró-vitamina A. São encontradas nos vegetais em associação com a presença de lipídeos (ENZIMAS..., 2011; DUCKWORTH, 1966);

iv. As enzimas pectinolíticas são as responsáveis pelas mudanças de textura durante o amadurecimento, estocagem e processamento dos frutos e vegetais. Há dois grupos importantes de enzimas pécticas, as que catalisam a quebra de ligação metil-éster dos ácidos poligalacturônicos, e as que quebram hidroliticamente as ligações glicosídicas do ácido poligalacturônico (ENZIMAS..., 2011; WHITAKER, 1984).

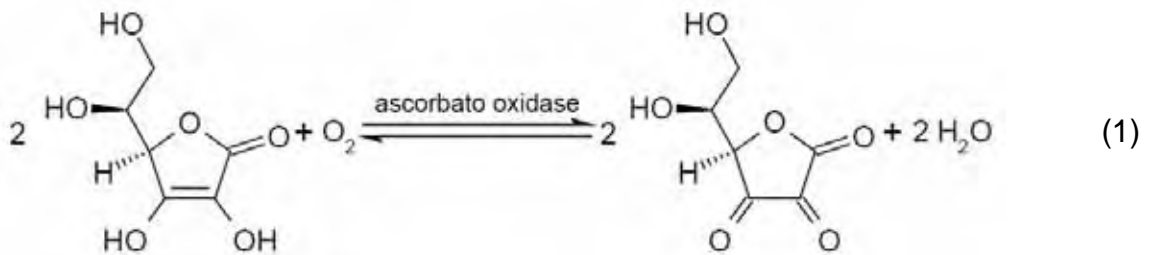
Dentre a classe das oxirredutases, que são importantes na área alimentícia e provocam alterações indesejáveis de cor, aroma, sabor e valor nutricional em frutos e vegetais, destacam-se as enzimas ascorbato oxidase e a polifenoloxidase, que também podem ser responsáveis por tais alterações.

²⁷ Processo natural de envelhecimento ao nível celular ou conjunto de fenômenos associados a este processo.

2.7.1 Ascorbato oxidase

A enzima ascorbato oxidase (AO) (EC: 1.10.3.3) catalisa a reação de oxidação reversível do ácido ascórbico (vitamina C) para ácido dehidroascórbico (equação 1), sendo que o último está envolvido no processo de escurecimento de frutos. A ação da AO é importante, também, no processo de reversão do dehidroascórbico para o ascórbico procurando manter a biomolécula com potencial antioxidante, o que pode reduzir o processo de escurecimento do alimento (FATIBELLO FILHO; VIEIRA, 2002).

Vale ressaltar que a oxidação da vitamina C também pode acontecer na ausência dessa enzima, catalisada por íons cobre, formando ácido dehidroascórbico e peróxido de hidrogênio, sendo que o último pode provocar a destruição da vitamina C (ALENCAR; KOBLITZ, 2008).



Esta reação pode ser verificada pela diminuição da absorvância à 240 nm (espectroscopia UV/VIS) ou pelo consumo de oxigênio (polarografia) no meio reacional. A AO pode ser inativada pela reação com pequenas quantidades de peróxido de hidrogênio, que são os subprodutos da reação (CARVALHO JUNIOR; LIMA; MEDEIROS, 1981).

A AO pode ser encontrada em tecidos vegetais de hortaliças, sementes e grãos, como de abóbora, de alface, de maxixe, de pimenta, de pimentão, de pepino e de repolho, além de frutas como, por exemplo: carambola, laranja, melão, tomate e uva. A AO pode ser encontrada ligada à parede celular ou na forma solúvel. Pode ser extraída e purificada de fontes vegetais, principalmente das frutas.

Sua função biológica é pouco conhecida, entretanto alguns estudos sobre purificação e expressão gênica têm sido realizados (GARCÍA-PINEDA; CASTRO-MERCADO; LOZOYA-GLORIA, 2004). A AO pode estar envolvida no

crescimento da planta, na divisão celular e na regulação da membrana (BERTINI; SIGEL; SIGEL, 2001; KATO; ESAKA, 2000).

É uma molécula enzimática dimérica (Figura 7) que contém íons cobre no sítio ativo e biotransforma reversivelmente a molécula de ácido ascórbico, como substrato natural. Pertencente à família das oxidases azuis que apresentam múltiplos centros de íons cobre ou complexos, que incluem outras enzimas como: i) a lacase (EC: 1.10.3.2), presente em plantas e microrganismos; ii) a ceruloplasmina (EC: 1.16.3.1), presente em animais; e iii) entre outras enzimas menos conhecidas e caracterizadas (SANTAGOSTINI et al., 2004).

As oxidases azuis compõem uma das poucas enzimas que realizam a redução de quatro elétrons do oxigênio à água simultaneamente à oxidação de um elétron de determinados substratos biológicos (CARVALHAL, 2005).

Figura 7 – Estrutura cristalográfica da enzima ascorbato oxidase.

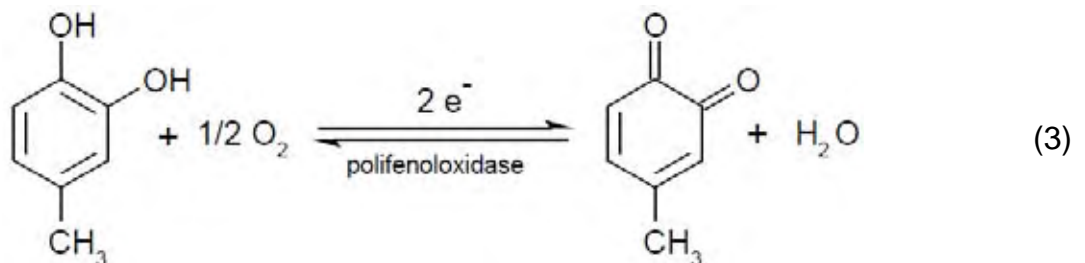
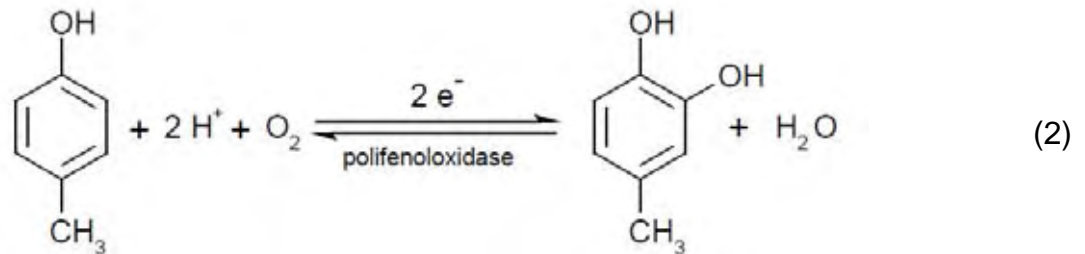


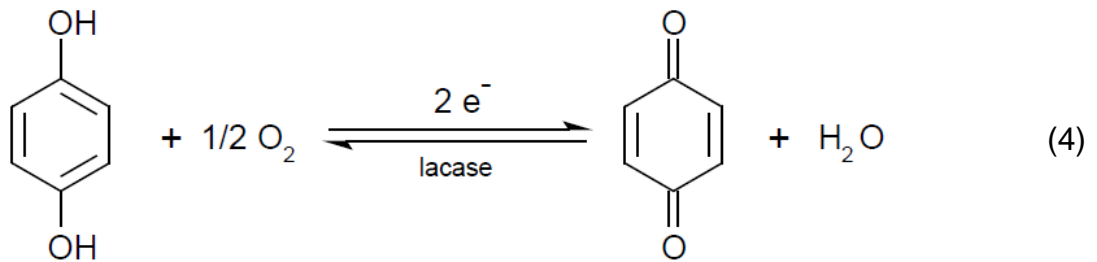
Fonte: Protein... (2012a).

Atualmente, a enzima AO vem sendo utilizada na composição de biossensores, na determinação da vitamina C em análises clínicas e de alimentos. É de suma importância em frutas e produtos de origem vegetal, ressaltando os sucos de frutas cítricas (SHLEEV et al., 2005).

2.7.2 Polifenoloxidase

As enzimas polifenoloxidases (PPO) catalisam reações de oxirredução de compostos fenólicos com o auxílio do oxigênio molecular. Há duas classes dessa enzima: i) as *o*-difenol oxidases que oxidam monofenóis e ortodifenóis, e são conhecidas, também, como catecolase, cresolase, difenolase, fenolase e tirosinase; e ii) as *p*-difenol oxidases que oxidam *p*-difenóis, conhecidas como lacases. A primeira classe pode apresentar atividade de monofenol monoxigenase (EC 1.14.18.1) ou atividade de cresolase, equação 2, e atividade de *o*-difenol oxirredutase (EC 1.10.3.2) ou atividade de catecolase, equação 3. A segunda classe apresenta atividade de *p*-difenol oxirredutase (EC 1.10.3.1), equação 4. O produto dessas reações são as quinonas, que reagem entre si, ou com compostos fenólicos ou com outros compostos presentes no meio, por serem altamente reativas, e formam as melaninas, compostos escuros e de condensação de alta massa molecular, que causam alteração na cor e sabor, por exemplo, nas frutas (ALENCAR; KOBLITZ, 2008; CLEMENTE; PASTORE, 1998; ARAÚJO, 1995).





A enzima PPO está presente em: animais; bactérias; fungos; e vegetais. Sendo que as de plantas (principalmente de frutas e hortaliças), de crustáceos (camarão, caranguejo e lagosta) e de fungos (cogumelos comestíveis) são as de maior interesse para a Ciência de Alimentos (ALENCAR; KOBLITZ, 2008; ARAÚJO, 1995).

Estas enzimas podem ser encontradas na forma solúvel e ligadas, em sua maioria, a membranas e/ou confinadas em plastídios, sendo que em frutas e hortaliças, o nível de PPO solúvel aumenta com a maturação e com a senescência. Nos tecidos vivos, elas existem de diversas formas originadas, possivelmente, por associação e dissociação entre as diferentes unidades formadoras da enzima, além disso, reações de glicosilação, de polimerização com compostos fenólicos e de proteólise limitada, também intervêm na conformação destas enzimas. Esses fenômenos biológicos podem ser influenciados por variados fatores do meio, como, por exemplo, a concentração da enzima, a força iônica, o pH e a presença de compostos interferentes. A PPO de determinadas fontes podem ser diferenciadas quanto: a especificidade frente aos substratos, a estabilidade térmica, a resposta a inibidores e efetores e a valores de pH ótimo de ação catalítica (ALENCAR; KOBLITZ, 2008).

São enzimas intracelulares que possuem, normalmente, dois átomos de cobre no centro ativo (Figura 8) e a reação de oxidação envolve mudanças na valência do cobre e elétrons da molécula de oxigênio. Atua sobre uma grande diversidade de compostos fenólicos, com diferentes afinidades entre si. Dentre os compostos naturais, as catequinas, as dopaminas (3,4-diidroxi-fenilalaninas), as tirosinas e os ésteres do ácido cinâmico são os substratos mais importantes. Exibem, assim, alta constante de Michaelis-Menten (k_M) para seus substratos, inclusive para o O_2 , e, conseqüentemente, precisam de concentrações de substrato relativamente altas para o sistema biológico. Normalmente, a PPO de vegetais e de cogumelos apresenta pH ótimo de atividade entre 5,0 e 7,0, sendo que grande parte

pode ser inativada em valores de pH abaixo de 4,0. Possui baixa termoestabilidade e pode ser inativada por tratamento térmico brando, sendo que o decréscimo do pH do meio (até pH 4,0) aumenta sua eficiência (ALENCAR; KOBLITZ, 2008).

Figura 8 – Estrutura cristalográfica da enzima polifenoloxidase.



Fonte: Protein... (2012b).

Sua função biológica ainda não é totalmente conhecida, porém algumas possibilidades já foram constatadas. A PPO pode estar envolvida: i) na síntese de compostos fenólicos insolúveis, principalmente após lesão mecânica, e ii) no ataque de insetos ou microrganismos, que está correlacionada aos mecanismos de defesa das plantas. Há confirmadas ações bacteriostática e antiviral de melaninas e quinonas *in vitro*. Pode estar também, relacionada a eventos ligados a fotossíntese, a respiração celular, a formação, ao desenvolvimento das raízes e a síntese de lignina (ALENCAR; KOBLITZ, 2008).

As reações catalisadas pela polifenoloxidase compõe uma das responsáveis pelo escurecimento observado quando a maioria dos frutos e vegetais *in natura* é amassada, cortada ou triturada, aumentando, assim, a superfície de contato com oxigênio do ar o que favorece a catálise enzimática. O escurecimento ocasionado pela ação catalítica da PPO ocorre quando há lesão dos tecidos, que permite a entrada de oxigênio e induz a catálise de seus substratos presentes no

vegetal. A ação desta enzima gera mudanças na cor, no aroma, no sabor e no valor nutricional dos alimentos, além de induzir perdas econômicas consideráveis para a indústria alimentícia e, também, a não aceitação do produto pelo consumidor, visto a alteração do sabor, diminuição da qualidade nutritiva, e aparência não desejável do alimento (ARAÚJO, 1995).

As reações que tem como produto final pigmentos podem provocar a formação de odores indesejáveis ou *off flavors* e, também, a perda do valor nutritivo, principalmente pela oxidação de aminoácidos, como da tirosina e da fenilalanina. Diante disso, há em desenvolvimento muitos métodos de prevenção deste indesejável escurecimento enzimático, que se baseiam na inibição da enzima e na supressão de substratos e/ou retirada de produtos, para várias fontes de PPO, (ALENCAR; KOBLITZ, 2008; ARAÚJO, 1995).

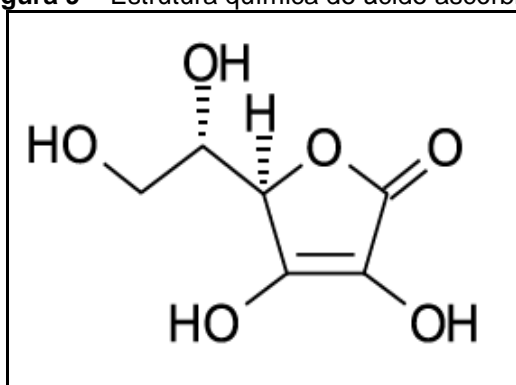
A acidificação do produto a valores de pH que inativem a ação das polifenoloxidasas, a adição de inibidores químicos, a supressão de O₂ e o branqueamento que causa desnaturação térmica destas enzimas são maneiras de se controlar o escurecimento enzimático. Além disso, pode ser utilizado o ácido ascórbico ou sulfitos, para inativação da PPO e, também, por reagirem com as quinonas (produtos da catálise) evitando sua polimerização, que previnem este tipo de escurecimento. Além disso, podem ser utilizados os ácidos cítrico e málico que atuam inativando o centro ativo da PPO (ALENCAR; KOBLITZ, 2008).

As polifenoloxidasas são de suma importância e benéficas no desenvolvimento da coloração e do *flavor* característicos de alguns alimentos, como também: i) na produção de chá preto; ii) na produção de frutas secas, como de ameixa e uva passa; iii) na obtenção de amêndoas de cacau de boa qualidade, diminuindo seu amargor e sua adstringência; e iv) na formação de aldeídos de aminoácidos (ALENCAR; KOBLITZ, 2008; CLEMENTE; PASTORE, 1998).

2.8 Vitamina C

A vitamina C ou ácido ascórbico (Figura 9) é de suma importância para a nutrição humana, sendo encontrada em hortaliças e em frutos, principalmente nos cítricos (ZHANG; HAMAUZU, 2004; LEE; KADER, 2000).

Figura 9 – Estrutura química do ácido ascórbico.



Fonte: Estrutura montada pelo pesquisador usando o software BKchem 0.13.0.

É uma vitamina hidrossolúvel, termolábil, que exerce diversas funções no sistema autoimune: atuando na absorção de ferro; na atividade antioxidante; na conversão de folacina em ácido tetra-hidrofólico, que envolve atividade imunológica; na formação de colágeno, que envolve processos de cicatrização; na inibição de nitrosaminas; na oxidação da fenilalanina e da tirosina; na produção de interferon; e no processo de reação inflamatória. Atua também em outros processos metabólicos, como na síntese de epinefrina, de corticoesteróides e de ácidos biliares (ZHANG; HAMAUZU, 2004; VANNUCCHI; JORDÃO JÚNIOR, 1998; PADH, 1991).

Na natureza, é encontrada nas formas reduzida e oxidada, ácido ascórbico e ácido dehidroascórbico, respectivamente, sendo que a última é menos presente em substâncias naturais (TAVARES et al., 2000; WELCH et al., 1995). Pode ser também, produzido sinteticamente, sendo utilizada na indústria alimentícia devido sua ação antioxidante (WANG; LIN, 2000).

O ácido ascórbico presente em frutos e vegetais desempenha um importante papel no funcionamento e na manutenção do “corpo do fruto”, sendo muito utilizado na indústria alimentícia devido sua ação antioxidante, mas sua degradação pode favorecer o escurecimento não enzimático de frutos, causando o aparecimento de sabor estranho.

2.9 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são moléculas que apresentam em sua estrutura química anéis aromáticos com uma ou mais hidroxilas funcionais ou reativas (LEE et al., 2005), o que favorece a atuação como antioxidantes, e podem ser naturais ou sintéticos (ANGELO; JORGE, 2007).

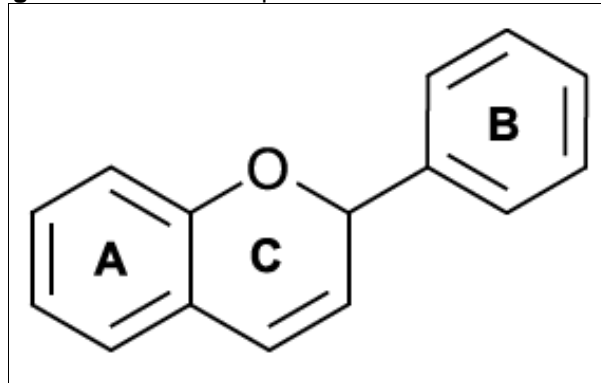
Estes compostos estão presentes nos vegetais, em especial nas frutas, e podem estar livres ou complexados a proteínas e carboidratos (BRAVO, 1998). São importantes no crescimento e na reprodução dos vegetais, colaboram na pigmentação e, também, como agentes antipatogênicos das plantas (SHAHIDI; NACZK, 1995) pela adstringência, aroma, cor e estabilidade oxidativa em alimentos (PELEG; BODINE; NOBLE, 1998; SHAHIDI; NACZK, 1995). São originados do metabolismo secundário dos vegetais, sendo vitais para o seu crescimento e reprodução, e se desenvolvem em situações de estresse como, por exemplo, ferimentos, infecções e radiações UV (SHAHIDI; NACZK, 1995).

Os compostos fenólicos presentes nas frutas, destacando: as cítricas (limão, laranja e tangerina), a ameixa, a cereja, a pera, a maçã, o mamão, a uva, entre outras, são encontrados em maiores quantidades na polpa que no suco da fruta. Pimenta verde, brócolis, repolho roxo, cebola, alho e tomate também são excelentes fontes destes compostos (PIMENTEL; FRANCKI; GOLLÜCKE, 2005).

A variedade estrutural de compostos fenólicos é devido à vasta variedade de combinações ocorrentes na natureza resultando em polifenóis. E dentre a vasta quantidade de compostos fenólicos existentes, destacam-se os flavonoides, os ácidos fenólicos, os taninos e os tocoferóis, com potencial de ação antioxidante (ANGELO; JORGE, 2007).

Os flavonoides possuem baixa massa molecular, presentes na maioria dos vegetais, principalmente em sementes, raízes, frutas, flores, folhas e casca (FELDMANN, 2001) e, participam no crescimento, no desenvolvimento e na defesa dos vegetais contra o ataque de patógenos (DIXON; HARRISON, 1990). Suas principais fontes são frutos como a cereja, a groselha, a maçã, o tomate, a uva e as cítricas, e, também, hortaliças, como o brócolis, a cebola, o espinafre, a pimenta e algumas folhosas (BARNES; ANDERSON; PHILIPSON, 2001).

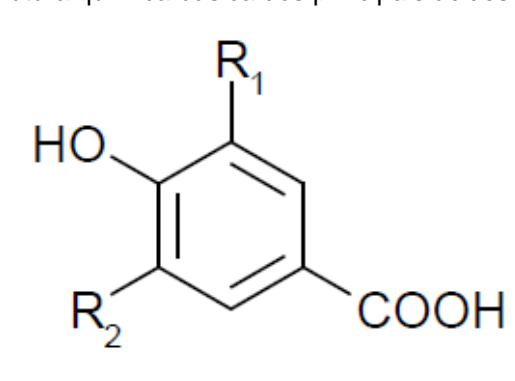
A estrutura química básica dessa classe de fenóis (Figura 10) consiste em um núcleo fundamental, composto de quinze átomos de carbono arranjados em três anéis, sendo dois anéis aromáticos (A e B) e um pirano (C), conectado ao anel A (DI CARLO et al., 1999). Atualmente há mais de 8.000 tipos de flavonoides identificados (PIETTA, 2000), dentre eles as antocianidinas, flavonas, flavonóis e, com menor frequência, as auronas, calconas e isoflavonas (SOARES, 2002).

Figura 10 – Estrutura química básica dos flavonoides.

Fonte: Angelo e Jorge (2007).

Os ácidos fenólicos podem ser encontrados sob formas livres ou complexados e estão relacionados com a atividade antioxidante de diferentes frutas e vegetais, em que já foram identificados e quantificados (ROCKENBACH et al., 2008). São caracterizados por apresentarem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, atribuindo propriedades antioxidantes para os vegetais e para o organismo, sendo indicados para o tratamento e prevenção do câncer, doenças cardiovasculares e outras doenças (FERGUSON; HARRIS, 1999; BRAVO, 1998; CROFT, 1998; KERRY; ABBEY, 1997).

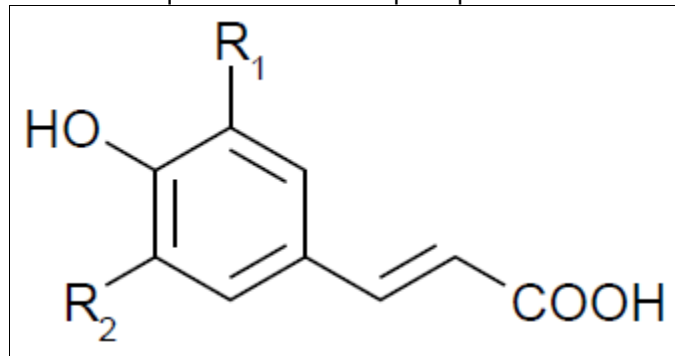
Os ácidos fenólicos constituem dois grupos: os derivados do ácido hidroxibenzoico, que possuem sete átomos de carbono e são os ácidos fenólicos mais simples encontrados na natureza (Figura 11); e os derivados do ácido hidroxicinâmico, que possuem nove átomos de carbono (Figura 12).

Figura 11 – Estrutura química básica dos principais ácidos hidroxibenzoicos.

Fonte: Angelo e Jorge (2007).

Nota: Para a formação do ácido *p*-hidroxibenzoico: $R_1 = R_2 = H$; do ácido protocatequínico: $R_1 = OH$, $R_2 = H$; do ácido gálico: $R_1 = R_2 = OH$; do ácido vanílico: $R_1 = OCH_3$, $R_2 = H$; e do ácido sirínico: $R_1 = R_2 = OCH_3$.

Figura 12 – Estrutura química básica dos principais ácidos hidroxicinâmicos.

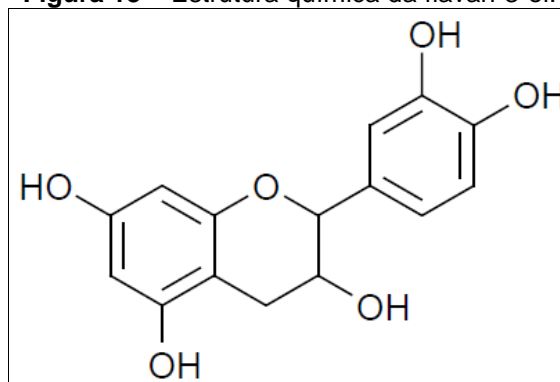


Fonte: Angelo e Jorge (2007).

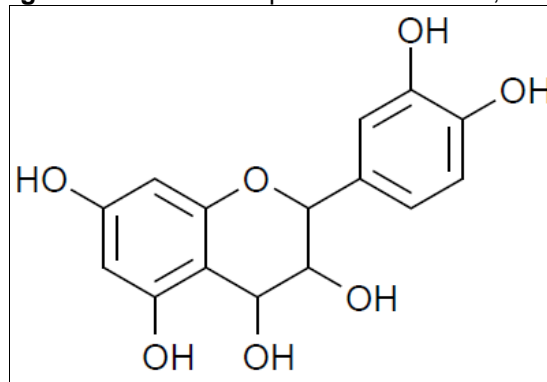
Nota: Para a formação do ácido *p*-cumárico: $R_1 = R_2 = H$; do ácido caféico: $R_1 = OH$, $R_2 = H$; do ácido ferúlico: $R_1 = OCH_3$, $R_2 = H$; do ácido sináptico: $R_1 = R_2 = OCH_3$.

Os taninos são compostos de alta massa molecular, possuem grupos de hidroxila fenólica suficientes que permitem a formação de ligações cruzadas estáveis com proteínas (OSZMIANSKI et al., 2007; DESHPANDE; CHERYAN; SALUNKHE, 1986). Podem ser classificados em taninos hidrolisáveis e não hidrolisáveis ou condensáveis. Os primeiros são ésteres de ácidos gálico e elágicos glicosilados, formados a partir do chiquimato, onde os grupos hidroxilas do açúcar são esterificados com os ácidos fenólicos (BURNS et al., 2000; KING; YOUNG, 1999). Os últimos são oligômeros e polímeros formados por flavan-3-ol ou catequina (Figura 13) e/ou flavan-3,4-diol ou leucocianidina (Figura 14), conhecidos também como proantocianidinas (MONTEIRO et al., 2005), e encontrados na fração fibra alimentar de diversos alimentos e podem ser indigeríveis ou pobremente digeríveis (BARTOLOMÉ; JIMÉNEZ-RAMSEY; BUTLER, 1995). Em cereais e leguminosas esse tipo de fenóis tem se destacado, devido aos seus efeitos adversos na cor, na qualidade nutricional e no sabor (SALUNKHE et al., 1982).

Figura 13 – Estrutura química da flavan-3-ol.

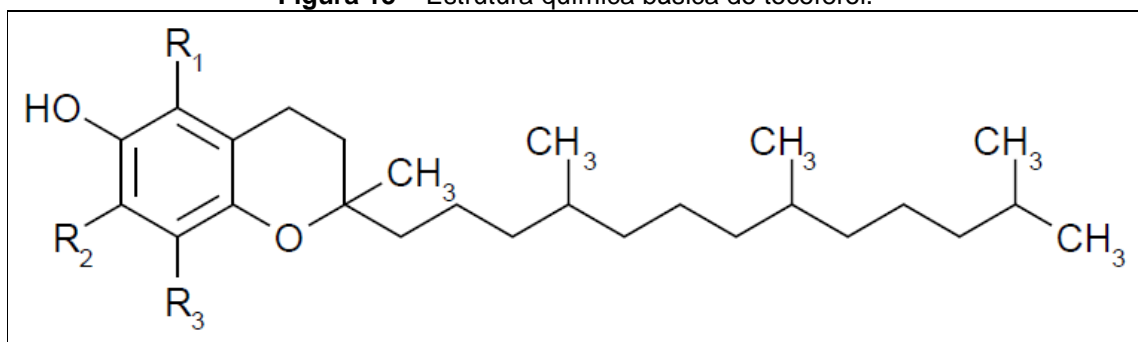


Fonte: Angelo e Jorge (2007).

Figura 14 – Estrutura química da flavan-3,4-diol.

Fonte: Angelo e Jorge (2007).

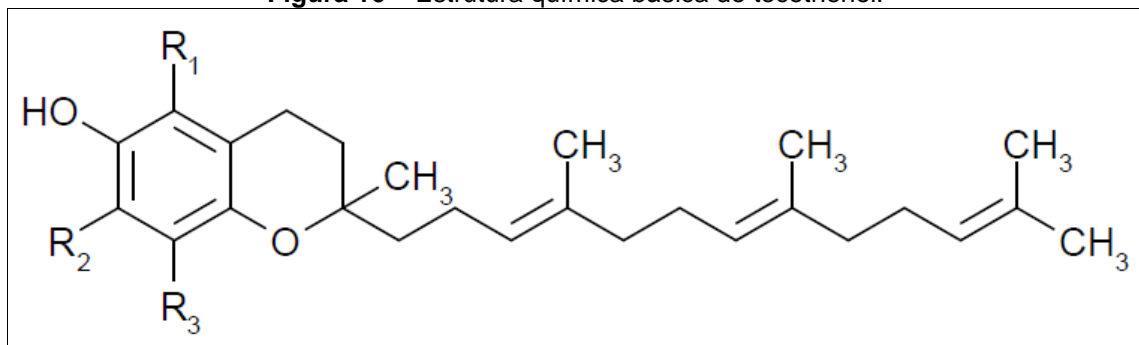
Os tocoferóis estão presentes em frutas, em gérmen de trigo, em óleos vegetais, em sementes oleaginosas e em vegetais de cor verde escuros. São compostos monofenólicos que apresentam atividade antioxidante e de vitamina E (SETIADIA et al., 2003) e constituem dois grupos de compostos que têm estrutura química semelhante e recebem genericamente o nome de tocóis e tocotrienóis. Os tocóis apresentem cadeia saturada ligada ao anel, denominadas tocoferóis (Figura 15), já os tocotrienóis possuem cadeia insaturada (Figura 16). A nomenclatura desses compostos fenólicos recebe o prefixo α , β , γ ou δ , dependendo do número e da posição do grupamento metila ligado ao anel aromático, sendo que o α -tocoferol é o composto com maior atividade de vitamina E (SIX, 1994; SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992).

Figura 15 – Estrutura química básica do tocoferol.

Fonte: Angelo e Jorge (2007).

Nota: Para α -toco: $R_1 = R_2 = R_3 = \text{CH}_3$; β -toco: $R_1 = R_3 = \text{CH}_3$, $R_2 = \text{H}$; γ -toco: $R_2 = R_3 = \text{CH}_3$, $R_1 = \text{H}$; δ -toco: $R_1 = R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{CH}_3$.

Figura 16 – Estrutura química básica do tocotrienol.



Fonte: Angelo e Jorge (2007).

Nota: Para α -toco: R₁ = R₂ = R₃ = CH₃; β -toco: R₁ = R₃ = CH₃, R₂ = H; γ -toco: R₂ = R₃ = CH₃, R₁ = H; δ -toco: R₁ = R₂ = H, R₃ = CH₃.

2.10 Compostos antioxidantes

Os antioxidantes são compostos químicos que previnem, diminuem ou inibem a oxidação de outros compostos ocasionados por espécies reativas de oxigênio. As reações de oxidação podem ocorrer nos alimentos ocasionando perda nutritiva, principalmente, através da formação de substâncias que podem reagir com outros compostos presentes nos alimentos e, também, serem prejudiciais para os organismos humano e animal (MATHEW; ABRAHAM, 2006; MARINOVA; YANISHILIEVA, 2003).

O processo oxidativo, também, está relacionado à vida aeróbica e, assim, a produção de radicais livres no organismo se dá naturalmente, despertando o interesse de estudos sobre antioxidantes. A redução dos danos oxidativos relacionados aos radicais livres, como o envelhecimento e doenças degenerativas, pode ser favorecida no consumo de alimentos que contenham quantidades significantes de antioxidantes (BERNARDES; PESSANHA; OLIVEIRA, 2010).

O papel dos antioxidantes, obtidos através da alimentação, é muito importante para a manutenção do controle dos radicais livres. Há várias substâncias naturais que possuem ação antioxidante para o organismo, destacando a vitamina C (ácido ascórbico), os carotenoides (betacaroteno, luteína e licopeno) e os isômeros da vitamina E (tocoferóis: alfa, beta, gama e delta). Existem, também, outras moléculas que atuam como antioxidantes na prevenção e proteção da oxidação dos ácidos graxos, presentes nos alimentos, como os sintéticos butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxi-tolueno (BHT) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ). Há compostos

antioxidantes adequados para cada tipo de aplicação, porém todos são substâncias capazes de sequestrar radicais livres (PELLEGRINI et al., 2007).

Esses compostos são divididos em duas classes: i) enzimas, que podem inibir o início da oxidação, ou seja, que removem as espécies reativas ao oxigênio, destacando as enzimas superóxido dismutase, a catalase e a glutathione peroxidase (HALLIWELL, 2000); e ii) não enzimáticos, substâncias que interagem com as espécies radicalares e são consumidas durante a reação, como os polifenóis (MARIOD et al., 2009; MOREIRA; MANCINI FILHO, 2003).

Compostos antioxidantes são utilizados pelas indústrias alimentícias para evitar a deterioração dos produtos e conservar o valor nutricional. Também auxiliam na proteção do organismo contra danos provocados por espécies reativas de oxigênio (ERO) e doenças degenerativas, despertando o interesse para bioquímicos e profissionais da saúde (SHAHIDI, 1996).

3 OBJETIVOS

Ciente dos poucos estudos sobre os frutos do Cerrado brasileiro e visto que o pequi, uma das espécies típicas desse bioma, é de ampla utilização pela população, esse trabalho visa o estudo físico-químico e bioquímico desse fruto em diferentes formas de armazenamento, a saber: polpa *in natura* e polpa em conserva com a intenção de verificar as variações das propriedades do pequi.

Neste contexto, esse trabalho teve como objetivos:

- Avaliações das propriedades físico-químicas e bioquímicas da polpa de pequi *in natura* e em conserva;
- Estudos cinético-enzimáticos das enzimas ascorbato oxidase e polifenoloxidase presentes no fruto *in natura* e em conserva;
- Investigações do potencial antioxidante das polpas de pequi frente a diferentes espécies reativas de oxigênio.

Esses estudos poderão indicar as condições de processamento e armazenamento para que as propriedades organolépticas deste fruto sejam mantidas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Reagentes

Para as análises físico-químicas e bioquímicas das amostras de polpa de pequi foram utilizadas os seguintes reagentes de grau de pureza analítica:

- 2,6-diclorofenolindofenol;
- Acetona (V/V);
- Água destilada;
- Água *Mili-Q*;
- Etanol 80% V/V ;
- Nitrogênio líquido;
- Polivinilpirolidona insolúvel;
- Sulfato de amônio;
- Sulfato de cobre penta hidratado;
- Tartarato de sódio e potássio;
- Triton X-100.

Foram também utilizadas as seguintes soluções:

- Solução de 2,2'-azinobis-(3etilbenzotiazolin-6-ácido sulfônico) 7 mmol.L⁻¹;
- Solução de 2,2-difenil-1-picrilhidrazina 120 μ mol.L⁻¹;
- Solução de ácido ascórbico nas concentrações de 3 mmol.L⁻¹ e de 25 a 100 μ g.mL⁻¹;
- Solução de ácido clorídrico 3 mmol.L⁻¹;
- Solução de ácido gálico nas concentrações de 20 a 100 μ g.mL⁻¹;
- Solução de ácido hipocloroso 30 μ mol.L⁻¹;
- Solução de ácido oxálico 2%;
- Solução de carbonato de sódio 7,5%;
- Solução de catecol 0,4 mol.L⁻¹;
- Solução de Folin-Ciocalteau 10%;
- Solução de hidróxido de sódio nas concentrações de 10 mmol.L⁻¹ e 10%;
- Solução de hipoclorito de sódio 12%;
- Solução de persulfato de potássio 140 mmol.L⁻¹;

- Solução de tetrametilbenzidina 2,8 mmol.L⁻¹;
- Solução padrão de soro albumina bovina 10 mg.mL⁻¹;
- Solução tampão ácido bórico/boráx 0,1 mol.L⁻¹;
- Solução tampão citrato/ácido cítrico nas concentrações de 0,1 mol.L⁻¹ e de 25 mmol.L⁻¹;
- Solução tampão fosfato de sódio nas concentrações de 0,1 mmol.L⁻¹, de 10 mmol.L⁻¹ e de 50 mmol.L⁻¹.

4.1.2 Equipamentos

Para as análises físico-químicas e bioquímicas das amostras de polpa de pequi foram utilizadas os seguintes equipamentos:

- Aparelho LabConco Freeze Dry Sistem/Freezone[®] 4,5, utilizada no processo de liofilização;
- Centrifugas refrigeradas: Centrifuge 5415R – Eppendorf, utilizada no processo de centrifugação, e Beckman – Avanti[™] Centrifuge J-25, utilizada no processo de centrifugação;
- Espectrofotômetro de Placas Biotek (Power Wave XS2), utilizado para as investigações do potencial antioxidante e para alguns ensaios espectrofotométricos;
- Espectrofotômetro Femto 600 Plus utilizado para os ensaios espectrofotométricos, com celas de vidro de 1 cm de caminho óptico;
- Espectrofotômetro UV/VIS com Diode Array Hewlett-Packard, Modelo 8453E, utilizado para os ensaios espectrofotométricos, com celas de quartzo de 1 cm de caminho óptico.

4.1.3 Obtenção da matéria-prima

Para a obtenção da matéria-prima, objeto de pesquisa, buscaram-se os locais de ocorrência do bioma Cerrado no território brasileiro, notando no Estado de São Paulo a existência de manchas do Cerrado (LOPES et al., 2010). Na procura, houve a indicação do Sítio Pérola II, localizado no Município de Cardoso, interior do Estado de São Paulo, que possuía pequizeiros da espécie *Caryocar brasiliense*

Camb., uma das encontradas no Cerrado brasileiro. Desta forma, foi realizada visita no Município de Cardoso para verificar a ocorrência da árvore pequizeiro.

O pequi *in natura*, em estágio de maturação, utilizado para o desenvolvimento da pesquisa foi fornecido pelo Sr. Denísio Melegati, proprietário do Sítio Pérola II, localizado na Rodovia Péricles Beline s/nº, no Município de Cardoso – SP. Para os estudos foram, também, utilizadas polpa de pequi em conserva adquirida no comércio local, além de polpa congelada a partir dos frutos cedidos pelo Sr. Melegati.

4.1.4 Tratamento e obtenção das polpas

As amostras de pequi *in natura* (Figura 17) foram transportadas em ambiente refrigerado (4°C) para o Laboratório de Enzimologia do Instituto de Química da UNESP – Campus de Araraquara. As amostras em conserva também foram transportadas para o mesmo laboratório, porém em condições de temperatura ambiente local. Parte das polpas obtidas de pequi *in natura* foi submetida a congelamento e armazenada para os estudos propostos.

Figura 17 – Pequi *in natura*.



Fonte: Imagem produzida pelo pesquisador.

Na amostra *in natura* procedeu-se a separação do fruto. O exocarpo e o mesocarpo externo foram descartados, conservando-se o mesocarpo interno, ou polpa, que continha o endocarpo e a semente, mantendo-os sob temperaturas inferiores a 0°C. Para as posteriores análises físico-químicas e bioquímicas foi utilizado somente o mesocarpo interno.

A amostra de pequi em conserva (Figura 18) possuía somente a polpa em lascas e foi mantida em temperatura ambiente (em média de 25°C).

Figura 18 – Pequi em conserva.



Fonte: Imagem produzida pelo pesquisador.

4.2 Métodos

4.2.1 Obtenção da polpa liofilizada

Para algumas análises foi necessário que as amostras de pequi *in natura* e em conserva estivessem liofilizadas, ou seja, que passassem por um processo que permitisse retirar a água e aumentar sua durabilidade. Esta técnica altera o aspecto físico do alimento, porém suas propriedades organolépticas, como sabor, cor, aroma e as propriedades nutricionais são mantidas.

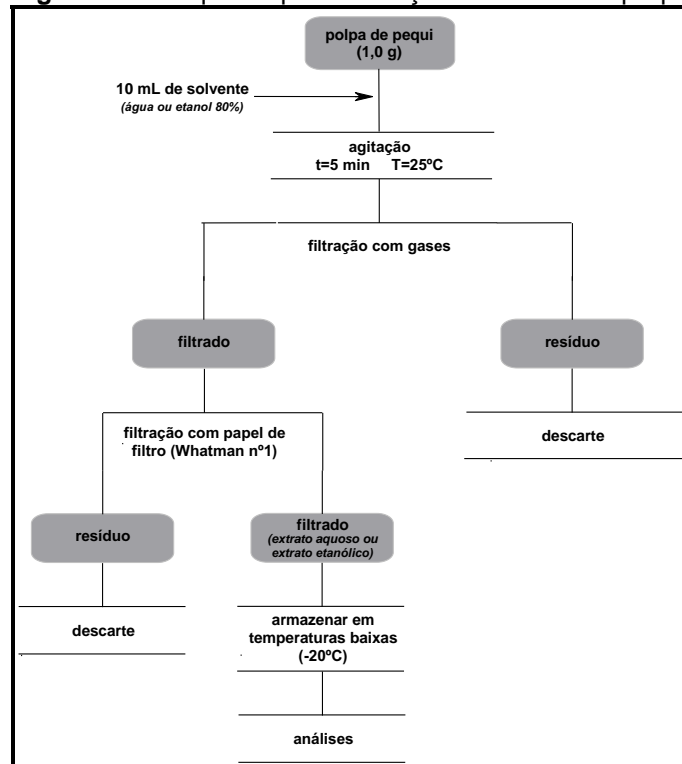
Ambas as amostras de polpa foram congeladas rapidamente, utilizando nitrogênio líquido, e liofilizadas a -98°C a $50\text{-}200\ \mu\text{mHg}$. Após, as polpas liofilizadas, livres de água, foram armazenadas em recipientes apropriados, devidamente rotulados com o tempo inicial de estocagem e a temperatura de -20°C , para posteriores análises.

4.2.2 Obtenção de extratos das polpas em diferentes solventes

Para uma extração ser eficiente há diversos fatores que influenciam como: o tipo de solvente; o pH; a temperatura; o número de etapas de extração; o volume do solvente; e o tamanho das partículas da amostra.

Para algumas análises foi necessário realizar o processo de extração de metabólitos secundários da polpa de pequi *in natura* e em conserva. Para isso foram utilizados dois solventes: água, denominado extrato aquoso; e etanol 80% v/v , denominado extrato etanólico.

Os extratos aquosos ou etanólicos de polpas de pequi (1,0 g) foram obtidos conforme descrito no esquema (Figura 19), partindo de polpa *in natura* congelada, polpa *in natura* liofilizada, polpa em conserva e polpa em conserva liofilizada.

Figura 19 – Esquema para obtenção de extrato de pequi.

Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software ISIS Draw 2.4.

Nota: Os extratos aquosos e etanólico foram obtidos partindo de: polpa *in natura* congelada, polpa *in natura* liofilizada, polpa em conserva e polpa em conserva liofilizada.

4.2.3 Determinação do pH

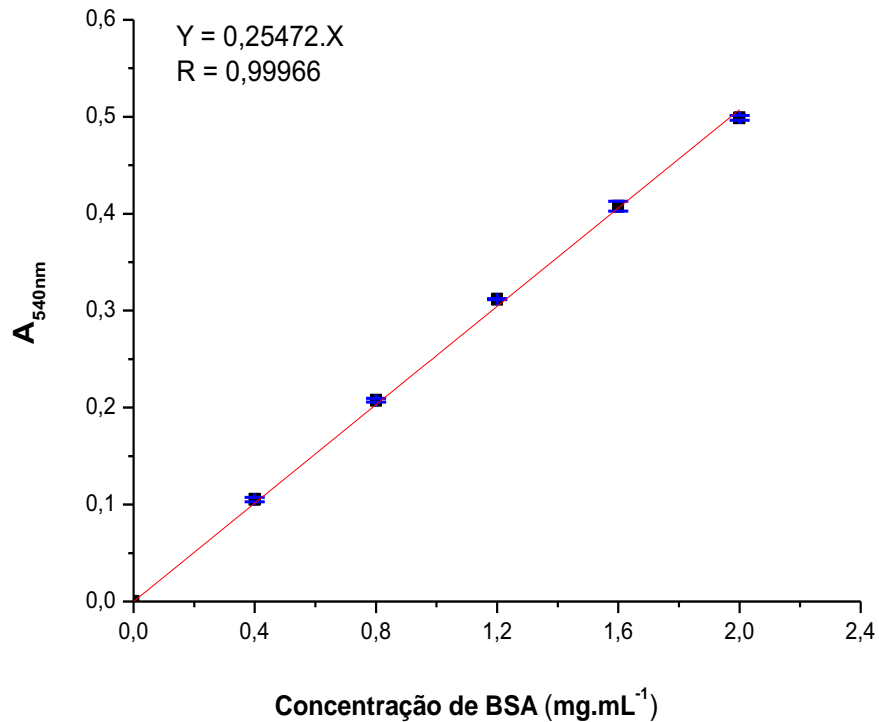
O potencial hidrogeniônico (pH) da polpa de pequi foi determinado pela medida potenciométrica direta de uma solução contendo 1,0 g pequi *in natura* em 10 mL de água destilada. O mesmo procedimento foi realizado para a amostra do pequi em conserva. A leitura do pH foi realizada utilizando um peagâmetro (pHmetro), previamente calibrado com soluções tampão de pH 4 e 7.

4.2.4 Determinação do conteúdo de proteína

O conteúdo de proteína total da polpa de pequi *in natura* e em conserva foi determinado através do método de Biureto (GORNALL; BARDAWILL; DAVID, 1949). Para a realização do ensaio foram utilizados os extratos aquoso e etanólico das polpas de pequi, objeto de estudo. O meio reacional constituiu-se de 200 µL de extrato, 800 µL do solvente (água ou etanol 80% V/V), 4 mL do reagente de biureto, repouso por 30 minutos a 25°C. Todos os ensaios foram realizados em

triplicata. A curva analítica foi construída a partir de solução padrão de soro albumina bovina (BSA), variando a concentração de 0,4 a 2,0 mg.mL⁻¹ (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Curva analítica para determinação do coeficiente de absorvidade de proteínas.



Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

A absorvância foi medida a 540 nm e os resultados expressos em equivalente de BSA calculados a partir da curva analítica. O cálculo da concentração de proteínas nas amostras, objeto de estudo, foi determinado utilizando o coeficiente de absorvidade (*a*) aplicando a equação de Lambert-Beer, equação 5:

$$A = a \cdot c \quad (5)$$

onde:

A: absorvância; *a*: coeficiente de absorvidade; e *c*: concentração da amostra.

4.2.5 Determinação do conteúdo de compostos fenólicos

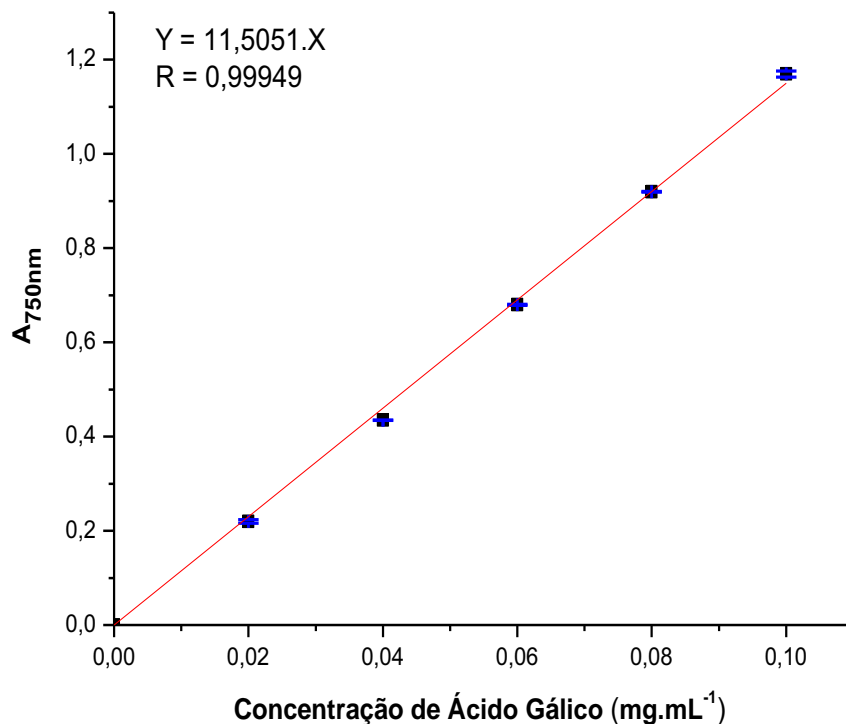
O conteúdo de compostos fenólicos totais das polpas foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (WANG et al., 2008; SINGLETON; ORTHOFER; LAMULA-RAVENTÓS, 1999) com algumas adequações, utilizando o coeficiente de absorvidade determinado pela curva analítica do padrão ácido gálico.

A curva analítica do padrão ácido gálico foi obtida variando a concentração de 20 a 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Os extratos aquoso e etanólico das polpas foram diluídos na proporção 1:5 (V/V) obtendo volume final de 0,5 mL. O meio reacional consistia de solução de Folin-Ciocalteu 10%, solução de carbonato de sódio 7,5%, ácido gálico, a 50°C, sendo realizado em triplicata. O branco foi constituído das mesmas soluções, exceto de solução de Folin-Ciocalteu, feito nas mesmas condições. Leituras foram feitas a 750 nm e os dados expressos graficamente (Gráfico 2) a partir do qual foi determinado o coeficiente de absorvidade do ácido gálico nas condições de ensaio utilizando a equação 6 (equação da reta obtida):

$$Y = 11,5051.X \quad (6)$$

onde o coeficiente angular corresponde ao coeficiente de absorvidade. A concentração de fenóis na amostra foi calculada utilizando a equação 5 (item 4.2.4).

Gráfico 2 – Curva analítica para determinação do coeficiente de absorvidade de fenóis.



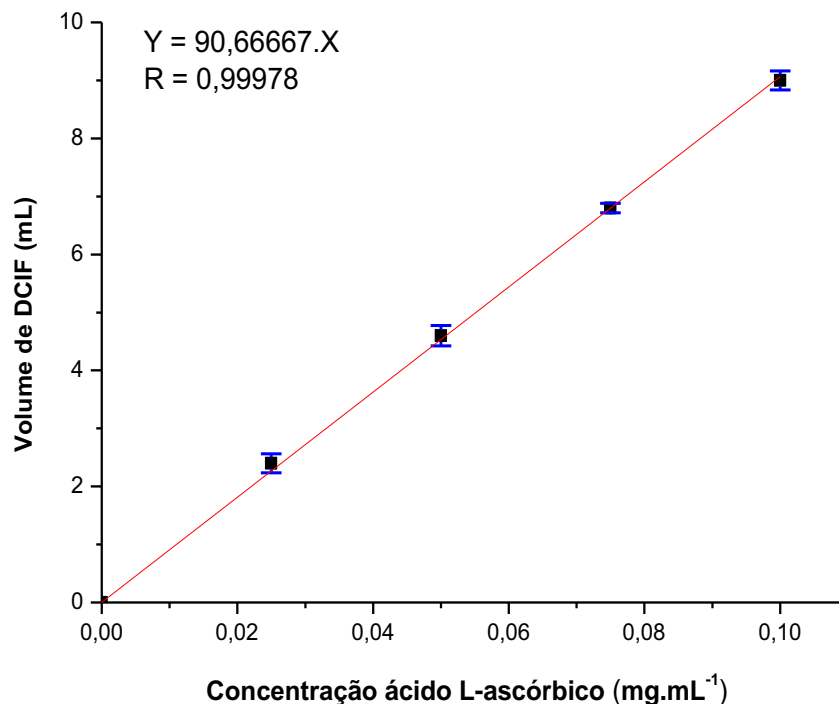
Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

4.2.6 Determinação do conteúdo de vitamina C

O conteúdo de vitamina C ou ácido ascórbico das polpas foi determinado pelo método titulométrico, segundo metodologia da *Association of Official Analytical Chemists (AOAC)* nº 43605 de 1984, modificado por Benassi (1990).

Para a determinação do conteúdo de vitamina C no meio, construiu-se uma curva analítica (Gráfico 3) utilizando solução de ácido ascórbico variando a concentração de 25 a 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e titulando cada concentração com 2,6-diclorofenolindofenol (DCIF). Utilizou-se polpa de pequi *in natura* congelada que foi dissolvida e homogeneizada em solução de ácido oxálico 2% e, posteriormente, titulada com o DCIF. Repetiu-se os mesmos procedimentos para a polpa de pequi em conserva. Os testes foram realizados em triplicata. Os resultados foram expressos em equivalente de ácido ascórbico calculado a partir da curva analítica. O cálculo de conteúdo de vitamina C nas amostras, objeto de estudo, foi determinado utilizando o coeficiente de absorvidade aplicando a equação 5 (item 4.2.4).

Gráfico 3 – Curva analítica para determinação do coeficiente de absorvidade do ácido ascórbico.



Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

4.2.7 Investigação do potencial antioxidante

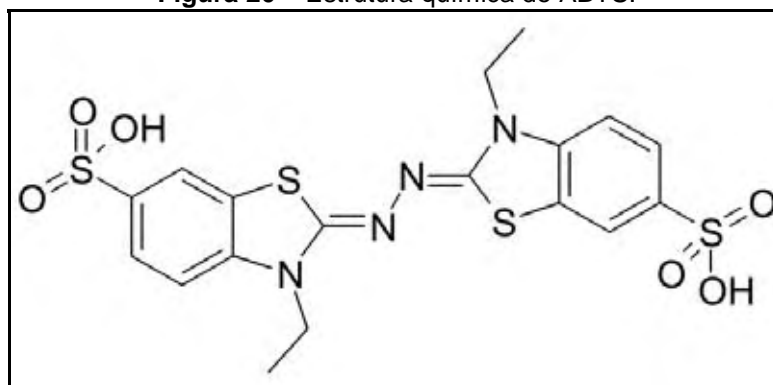
Para o estudo da capacidade antioxidante das amostras de polpas de pequi em estudo foram escolhidos duas moléculas, duas delas de modelo de ação antioxidante (cátion radical $ABTS^{+\bullet}$ e o radical $DPPH^{\bullet}$) e, outra, que ocorre nos seres vivos, em especial nos seres humanos (HOCl).

4.2.7.1 Ensaio de sequestro do cátion radical $ABTS^{+\bullet}$

A investigação do potencial antioxidante das polpas foi determinada utilizando o cátion radical $ABTS^{+\bullet}$ conforme descrito por Velloso et al. (2007).

O cátion radical $ABTS^{+\bullet}$ foi obtido pela reação do persulfato de potássio 140 mmol.L^{-1} com ABTS (ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico) (Figura 20) 7 mmol.L^{-1} e este foi armazenado a temperatura ambiente (25°C) e no escuro, no período compreendido entre 12 e 16 horas. Após a formação do $ABTS^{+\bullet}$, este foi diluído em tampão fosfato de sódio 10 mmol.L^{-1} , pH 7,4, até que o valor de absorvância a 734 nm permanecesse em $0,750 \pm 0,020$.

Figura 20 – Estrutura química do ABTS.



Fonte: Estrutura montada pelo pesquisador usando o software BKchem 0.13.0.

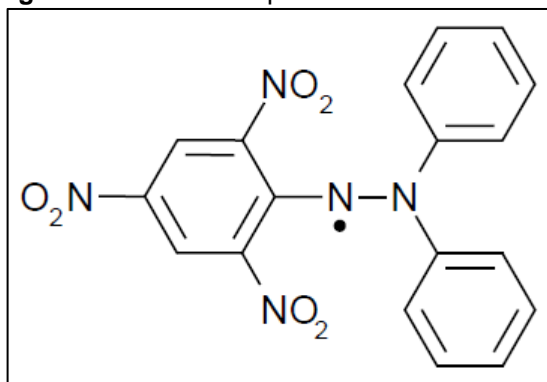
Foram utilizados os extratos aquoso e etanólico das polpas liofilizadas de pequi na concentração de $0,01 \text{ g.mL}^{-1}$ para o ensaio do potencial antioxidante. O meio reacional foi constituído de $100 \mu\text{L}$ de $ABTS^{+\bullet}$, variando o volume de amostra de 40 a $200 \mu\text{L}$ e tampão fosfato de sódio 10 mmol.L^{-1} , pH 7,4, para completar volume final de $300 \mu\text{L}$. Leituras foram feitas a 734 nm, após o meio reacional permanecer durante 15 minutos no escuro.

Os resultados foram expressos calculando a quantidade do antioxidante capaz de sequestrar 50% do cátion radical presente no meio. Esse índice denomina-se IC_{50} . Quanto menor o valor de IC_{50} obtido, menor é a quantidade de extrato necessária para reduzir 50% do cátion radical e, portanto, maior a atividade antioxidante.

4.2.7.2 Ensaio de sequestro do radical DPPH[•]

O potencial antioxidante das polpas foi determinado, também, utilizando o radical livre DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazina) (Figura 21) segundo metodologia descrita por Soares et al. (1997), com algumas modificações.

Figura 21 – Estrutura química do radical DPPH[•].



Fonte: Estrutura montada pelo pesquisador usando o software BKchem 0.13.0.

O radical DPPH[•] foi obtido diretamente a partir da dissolução do reagente em meio orgânico, neste caso em etanol, produzindo um cromóforo com absorvância na faixa de 531nm, que quando for capturado nota-se um decréscimo na absorvância.

O meio reacional foi constituído 500 μ L de DPPH[•] 120 μ mol.L⁻¹, variações de amostras de pequi diluídas em etanol e de etanol, totalizando um volume final de 1.000 μ L. Leituras foram feitas a 531 nm, após o meio reacional permanecer durante 15 minutos no escuro. Os resultados foram expressos calculando o IC_{50} .

4.2.7.3 Ensaio de sequestro do HOCl

A capacidade antioxidante das polpas também foi determinada por meio do sequestro do ácido hipocloroso (HOCl) conforme descrito por Costa, Ximenes e Fonseca (2004), com adaptações quanto ao sistema químico.

O agente oxidante é obtido através da diluição da solução de hipoclorito de sódio 12% em hidróxido de sódio 10 mmol.L⁻¹, em que a concentração foi determinada através de seu coeficiente de extinção molar ($\epsilon = 350 \text{ mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ a 292 nm) (ZGLICZYNSKI et al., 1971).

O meio reacional foi constituído de amostras de pequi, *in natura* e em conserva, em diferentes concentrações, solução tampão fosfato de sódio 50 mmol.L⁻¹ e ácido hipocloroso 30 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ somando 240 μL , que permaneceu em repouso durante 15 minutos. Em seguida, adição de 60 μL de tetrametilbenzidina (TMB) 2,8 mmol.L⁻¹, somando um total de 300 μL . Leituras foram feitas a 652 nm, após o meio reacional permanecer mais 5 minutos em repouso. Os resultados foram expressos calculando o IC₅₀.

4.2.8 Isolamento da enzima AO

O processo de isolamento da enzima AO das polpas *in natura* e em conserva de pequi foi realizado em 3 etapas, a saber:

a) Adicionou-se à amostra das polpas solução tampão citrato/ácido cítrico 25 mmol.L⁻¹, pH 5,0, na proporção 1:20 (g.mL⁻¹), homogeneizou-se e foi submetido a filtração comum. O sobrenadante obtido foi denominado extrato bruto de AO.

b) Precipitou-se o extrato enzimático, segundo Dixon e Webb (1979) utilizando sulfato de amônio inicialmente a 30% de saturação, adicionando o sal sob agitação lenta e constante, em banho de gelo. Com o término desta adição, a solução foi deixada em repouso pelo período de 24 horas. Centrifugou-se a 12.000 x g por 10 minutos a 4°C. Ao sobrenadante obtido foi adicionado o sal até 70% de saturação e realizou-se, em seguida, o mesmo procedimento para 30% de saturação. Neste caso, o sobrenadante foi descartado e ao precipitado foi dada sequência a extração.

c) O precipitado obtido foi ressuspensão com solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mmol.L}^{-1}$, pH 6,0, na proporção 1:2 (g.mL^{-1}). Em seguida foi armazenado devidamente a -20°C , denominado extrato concentrado de AO.

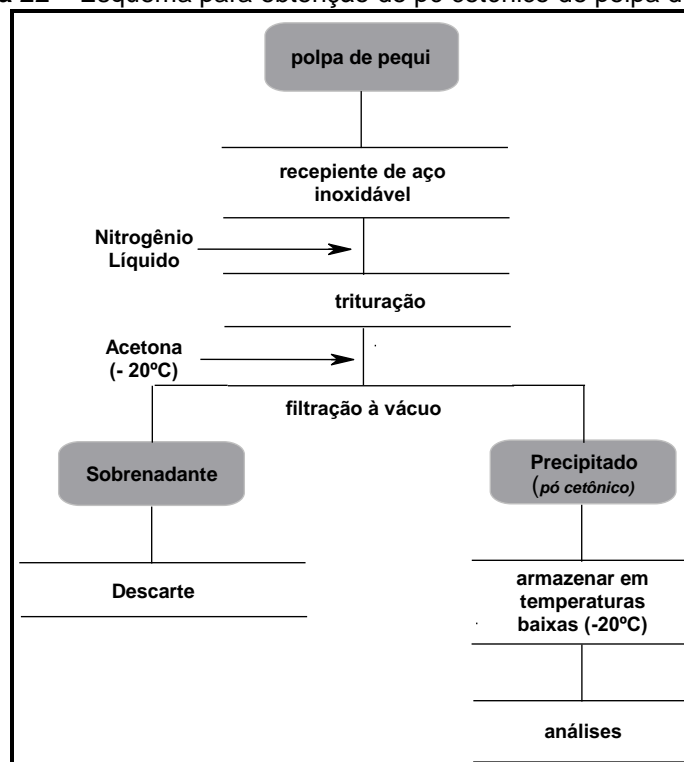
4.2.9 Isolamento da enzima PPO

O processo de isolamento da enzima PPO das polpas *in natura* e em conserva de pequi foi realizado em 5 etapas, a saber:

a) Amostra das polpas foi transferida e armazenada em temperaturas variando entre 0°C a -8°C , para o congelamento, a conservação e posterior obtenção do pó cetônico.

b) A partir da amostra congelada, o pó cetônico foi obtido triturando e lavando-se a mesma com solução de acetona (V/V), conforme apresentado no esquema (Figura 22).

Figura 22 – Esquema para obtenção do pó cetônico de polpa de pequi.



Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software ISIS Draw 2.4.

c) Em seguida, adicionou-se solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mmol.L}^{-1}$, pH 6,0, na proporção 1:20 (g.mL^{-1}), contendo 3% de Triton X-100 e 1% de polivinilpirolidona insolúvel (Polyclar AT). A solução foi homogeneizada e deixada

sob agitação, em agitador magnético, durante 60 minutos a 4°C. Após esse período foi realizada centrifugação a 12.000 x g por 10 minutos a 4°C, o precipitado foi desprezado. O sobrenadante foi submetido a filtração comum e o filtrado foi denominado extrato bruto de PPO.

d) Precipitou-se o extrato enzimático, segundo nomograma de Dixon e Webb (1979), com cristais de sulfato de amônio, inicialmente a 20% de saturação, adicionando o sal sob agitação lenta e constante, em banho de gelo. Com o término desta adição, a solução foi deixada em repouso pelo período de 24 horas a 4°C. Centrifugou-se a solução a 12.000 x g por 10 minutos a 4°C. Ao sobrenadante obtido adicionou-se novamente o sal até 70% de saturação repetindo o procedimento descrito para 20%, o sobrenadante foi desprezado e ao precipitado foi dada sequência a extração.

e) O precipitado obtido foi ressuspensão com solução tampão fosfato de sódio 0,1 mmol.L⁻¹, pH 6,0, na proporção 1:2 (g.mL⁻¹). Em seguida foi devidamente armazenado a -20°C, denominado extrato concentrado de PPO.

4.2.10 Estudos cinético-enzimáticos da AO

Determinou-se a atividade enzimática da AO das polpas de pequi utilizando um meio reacional composto de solução de 100 µL de extrato enzimático de pequi *in natura* ou em conserva, tampão citrato-ácido cítrico 0,1 mol.L⁻¹, pH 5,0; e ácido ascórbico 3 mmol.L⁻¹ acidificada com HCl 3 mmol.L⁻¹, a 25°C. Leituras feitas a 245 nm, cela de 1 cm c.o., a cada 0,5 segundos durante 1 minuto. O branco foi constituído de tampão citrato-ácido cítrico 0,1 mmol.L⁻¹, pH 5,0 e de ácido ascórbico 3 mmol.L⁻¹. Uma unidade de atividade de AO foi definida como a quantidade de enzima que oxidada 1 mmol de ácido ascórbico por minuto por mililitro da amostra, conforme a equação 7:

$$UA_{AO} = \frac{\Delta A_{245 \text{ nm}} (A_{245 \text{ nm}_{inicial}} - A_{245 \text{ nm}_{final}}) \cdot V_t \cdot f_d}{10 \cdot 1 \cdot t \cdot V_e} \quad (7)$$

onde:

V_t: volume total do meio reacional (mL); V_e: volume da solução de enzima (mL); 10: coeficiente de extinção do ácido ascórbico (mmol⁻¹L.cm⁻¹); 1: caminho óptico (c.o.; cm); t: tempo da reação (min); e f_d: fator de diluição da enzima caso haja.

4.2.11 Estudos cinético-enzimáticos da PPO

A atividade enzimática de PPO foi determinada utilizando um meio reacional composto de 100 μL de extrato enzimático de pequi *in natura* ou em conserva, 2.000 μL de solução tampão fosfato de sódio 0,1 mol.L^{-1} pH 6,0, a 25°C, adicionando para iniciar a reação 900 μL de solução de catecol 0,4 mol.L^{-1} , preparada com água do tipo *Mili-Q*, leituras feitas a 420 nm, cela de 1 cm c.o., a cada 0,5 segundos durante 1 minuto. O branco foi constituído de 2.100 μL solução tampão fosfato 0,1 mol.L^{-1} pH 6,0 e de 900 μL de solução de catecol 0,4 mol.L^{-1} . A unidade de atividade (UA) de PPO foi determinada pela definição: “uma UA é a quantidade de enzima que provoca um aumento na absorvância de 0,001 unidades por minuto nas condições de ensaio”. A velocidade inicial de reação foi determinada graficamente, produto *versus* tempo de reação, por meio da tangente da reta obtida tangenciando a curva obtida quando tempo tende a zero.

4.2.12 Determinação da atividade específica das enzimas AO e PPO

A atividade específica das enzimas AO e PPO foi calculada pela razão entre a unidade de atividade encontrada (UA.mL^{-1}) para cada enzima e o conteúdo de proteína total (mg.mL^{-1}), de cada amostra.

4.2.13 Determinação de parâmetros cinéticos da AO e da PPO

Para a caracterização de um dos parâmetros cinéticos, neste caso o pH, da AO e da PPO das polpas de pequi foi necessário a verificação do efeito do pH na atividade enzimática destas enzimas. Desta forma, determinou-se a velocidade inicial de reação para cada ponto experimental.

4.2.13.1 Efeito do pH na atividade da AO

O meio de reação constitui-se de: 100 μL de extrato enzimático de polpa *in natura* ou em conserva, a 25°C, 300 μL de solução de ácido ascórbico 3 mmol.L^{-1} acidificada com HCl 3 mmol.L^{-1} e 2.600 μL de solução tampão, variando o pH de 3,0 a 9,0. Para isso, foi utilizado solução tampão citrato-fosfato de sódio 1

mol.L⁻¹ nos valores de pH 3,0 a 5,0, solução tampão fosfato de sódio 0,1 mol.L⁻¹ nos valores de pH 6,0 a 7,0 e solução tampão ácido bórico-borax 0,1 mol.L⁻¹ nos valores de pH 8,0 a 9,0. As leituras foram feitas a 245 nm, cela de 1 cm c.o., a cada 0,5 segundos durante 1 minuto.

4.2.13.2 Efeito do pH na atividade da PPO

O meio de reação constitui-se de: 100 µL de extrato enzimático de polpa *in natura* ou em conserva, a 25°C, 900 µL de solução de catecol 0,4 mol.L⁻¹ e 2.000 µL de solução tampão, variando o pH de 3,0 a 9,0. Para isso, foi utilizado solução tampão citrato-fosfato de sódio 0,1 mol.L⁻¹ nos valores de pH 3,0 a 5,0, solução tampão fosfato de sódio 0,1 mol.L⁻¹ nos valores de pH 6,0 a 7,0 e solução tampão ácido bórico-borax 0,1 mol.L⁻¹ nos valores de pH 8,0 a 9,0. As leituras foram feitas a 420 nm, cela de 1 cm c.o., a cada 0,5 segundos durante 1 minuto.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a obtenção do pequi foi necessária a constatação dos locais de ocorrência do Cerrado no território brasileiro. De acordo com o Portal Brasil (2012) este bioma ocupa a área do Brasil Central podendo ser observado sua localização no mapa do Brasil, Figura 1 (item 2.1), sendo que no Estado de São Paulo notam-se manchas desse tipo vegetação.

Segundo Durigan, Franco e Siqueira (2004) em São Paulo há 1% de área remanescente desse bioma, que estão fragmentados e espalhados por todo o Estado. Após o levantamento biográfico e mapeamento de distribuição geográfico foi escolhido coletar amostras de pequi *in natura*, da espécie *Caryocar brasiliense* Camb., em áreas de manchas do Cerrado no Estado de São Paulo. Assim, pôde verificar no município de Cardoso (SP) a ocorrência desse tipo de vegetação onde foram encontrados pequizeiros (Figura 23).

Figura 23 – Pequizeiro localizado na cidade de Cardoso – SP.



Fonte: Imagem produzida pelo pesquisador.

Na primeira visita realizada no Sítio Pérola II, para constatação da existência do pequizeiro, verificou-se que a árvore apresentava caule de casca espessa e seus ramos eram grossos e angulosos e, na época, não estava em seu período reprodutivo. Já em outra visita, a árvore apresentava alguns frutos (Figura 24), comprovando o início da frutificação.

Figura 24 – Pequizeiro localizado no Sítio Pérola II.



Fonte: Imagem produzida pelo pesquisador.

Nota: Observa-se na figura que o pequizeiro está em seu período reprodutivo.

Nota-se, também, que os pequizeiros estão no meio de uma plantação de seringueiras (Figura 23), que por ser uma espécie em extinção tem que ser preservado. Devido a este fato, o processo reprodutivo destes pequizeiros provavelmente foi alterado conforme as condições em que se encontra (rodeado por plantação de seringueiras) o que não é seu habitat natural.

Após essas verificações, realizou-se a coleta dos frutos *in natura* desses pequizeiros e os frutos em conserva foram adquiridos em comércio local, porém, a conserva não foi produzida com frutos de pequi coletados da cidade de Cardoso. Os frutos *in natura* e em conserva foram transportados para o Laboratório de Enzimologia, o primeiro em ambiente refrigerado e o segundo em condições de temperatura ambiente. Nos frutos *in natura* foi necessária a separação de suas partes constituintes, ficando apenas com a polpa, já os frutos em conserva não foi necessária essa separação, pois a mesma foi adquirida somente lascas da polpa.

5.1 Determinação do pH

Na Tabela 1 são apresentados os resultados referentes à determinação do pH das polpas.

Tabela 1 – pH das polpas de pequi a 25°C.

Polpas de pequi	pH
<i>in natura</i>	5,4 ± 0,1
conserva	3,8 ± 0,1

Fonte: Organizado pelo pesquisador.

Nota: Valores expressos em média ± desvio padrão, n=3.

O pH indica a acidez, neutralidade ou alcalinidade de um meio, além de ser um fator que limita a capacidade de desenvolvimento de microrganismos em alimentos.

De acordo com Soares, Freire-Júnior e Siqueira (1995), os alimentos podem ser classificados em: i) muito ácidos (pH < 4,0); ii) ácidos (pH entre 4,0 a 4,5); e iii) pouco ácidos (pH > 4,5). Assim, a amostra *in natura* foi considerada pouco ácida, se diferenciando das demais frutas tropicais, e a em conserva ácida. A variação entre a amostra *in natura* e em conserva pode ter sido favorecida devido às condições de armazenamento da conserva, meio ácido (vinagre).

Em pH superiores a 4,5 há o desenvolvimento: bactérias, fungos e leveduras; e a deterioração (SOARES; FREIRE-JÚNIOR; SIQUEIRA, 1995). Dessa forma, a amostra em conserva evitou o desenvolvimento de microrganismos, pois seu pH é inferior a 4,5.

Diante disso, indica-se valores de pH abaixo de 4,5 para que se tenha um melhor processamento, armazenamento e conservação dessa frutífera evitando-se assim o desenvolvimento de microrganismos e sua deterioração.

Mariano-da-Silva et al. (2009) encontraram valores de pH que variam de 4,05 a 4,23 para a polpa de pequis oriundos de 3 municípios de Goiás. Já Oliveira et al. (2010) encontraram o valor de pH 6,9 para a polpa da espécie *Cariocar coriaceum* Wittm, o que pode ser melhor visualizado na Tabela 2. A diferença verificada com a literatura pode ser justificada devido às condições climáticas, a região de onde foram coletados os frutos e a diferença entre as espécies.

Tabela 2 – Comparação do pH encontrado por diversos autores.

	pH	Local	Espécie
<i>in natura</i>	5,4	São Paulo	<i>Caryocar brasiliense</i> Camb.
Mariano-da-Silva et al. (2009)	4,05-4,23	Goiás	<i>Caryocar brasiliense</i> Camb.
Oliveira et al. (2010)	6,9	Ceará	<i>Cariocar coriaceum</i> Wittm.

Fonte: Organizado pelo pesquisador.

5.2 Determinação do conteúdo de proteína

Os resultados referentes à determinação do conteúdo de proteína, via método de Biureto são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Conteúdo de proteína total nas amostras de pequi.

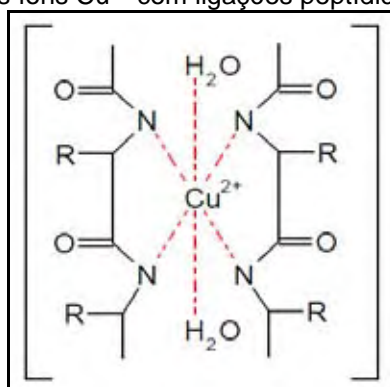
Polpas de pequi	Proteína (g.(100g de polpa) ⁻¹)	
	Extrato aquoso	Extrato etanólico
<i>in natura</i>	2,95 ± 0,0004	1,44 ± 0,0892
conserva	0,19 ± 0,0008	0,54 ± 0,0008
<i>in natura</i> liofilizada	11,88 ± 0,0098	7,69 ± 0,0147
conserva liofilizada	5,03 ± 0,0196	4,91 ± 0,0004

Fonte: Organizado pelo pesquisador.

Nota: Valores expressos em média ± desvio padrão, n=3.

O método utilizado se baseia na reação do reativo de biureto, composto formado da mistura de cobre e de hidróxido de sódio com o tartarato de sódio e potássio, complexante que estabiliza o cobre em solução. Em meio alcalino, íons Cu²⁺ reagem com ligações peptídicas, presentes em proteínas, resultando um produto de coloração vermelha (Figura 25) que apresenta absorção em 540 nm.

Figura 25 – Interações dos íons Cu^{2+} com ligações peptídicas presentes em proteínas.



Fonte: Estrutura montada pelo pesquisador usando o software BKchem 0.13.0.

Os valores obtidos mostraram uma variação de 0,19 a 11,88 $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ para as amostras analisadas. Vera et al. (2007), usando metodologia de acordo com as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz, estudando frutos procedentes do Estado de Mato Grosso do Sul, obtiveram resultado de, em média, 3,18 $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ e 3,89 $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$, este primeiro próximo ao resultado obtido para o extrato aquoso da polpa *in natura*. Estudos com frutos de regiões do Estado de Goiás, realizados por Vera (2004) e Ferreira et al. (1988), mostraram valores de 2,36 $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ e 1,61 $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$, respectivamente. No Sudeste brasileiro, estudos realizados com pequis de Minas Gerais apontam valores de proteína que variam entre 4,0 $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ e 6,0 $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ (VILELA, 1998), o que pode ser melhor visualizado na Tabela 4. Neste caso, os resultados foram obtidos por meio de espectrofotometria UV/VIS, o que leva a dados experimentais mais precisos que outros métodos de determinação do teor de proteína, como de determinação de nitrogênio orgânico – Método de Kjeldahl (Valores citados de outras fontes, porém da mesma espécie deste trabalho).

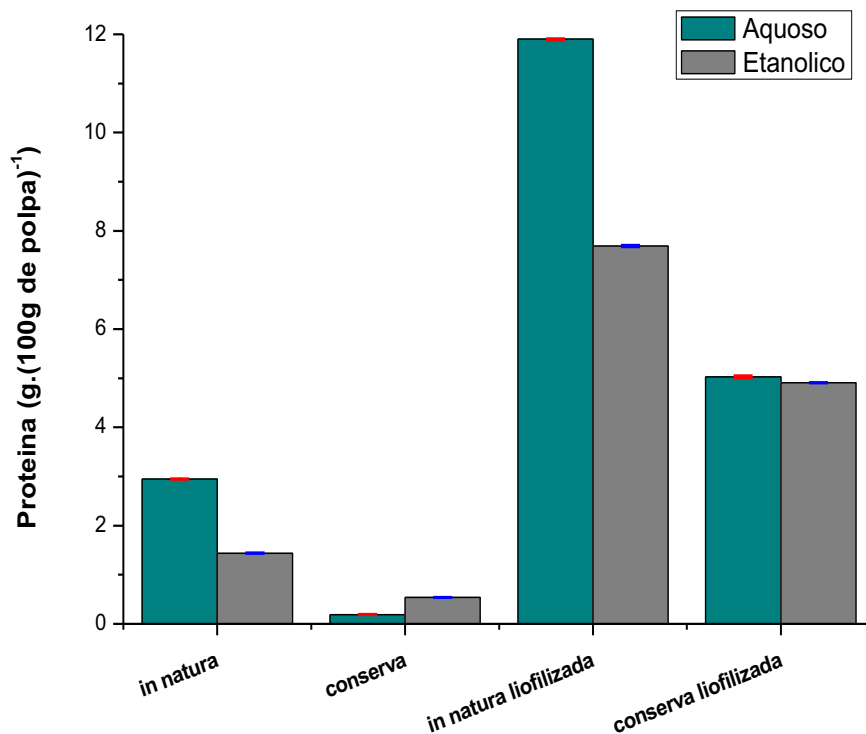
Tabela 4 – Comparação do conteúdo proteico encontrado por diversos autores.

	Proteína ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$)	Localização
<i>in natura</i>	2,95	São Paulo
Vera et al. (2007)	3,18-3,89	Mato Grosso do Sul
Vera (2004)	2,36	Goiás
Vilela (1998)	4,0-6,0	Minas Gerais
Ferreira et al. (1988)	1,61	Goiás

Fonte: Organizado pelo pesquisador.

A extração aquosa foi mais eficiente que a extração etanólica, exceto para a amostra de pequi em conserva. Portanto, as amostras *in natura* apresentam valores superiores aos da polpa em conserva (Gráfico 4). Além disso, as amostras liofilizadas mostraram valores mais elevados, o que facilita o manuseio dos dados com menor erro experimental. A liofilização constitui um processo mais eficiente para estudos do fruto.

Gráfico 4 – Comportamento da extração aquosa e etanólica das proteínas totais das polpas de pequi.



Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

Para que o teor proteico seja mantido após o processamento e armazenamento e para uma melhor conservação recomenda-se que os frutos de pequi não sejam ferventados, como observado nos resultados, esse processo levou a uma queda de mais de 50% comparando-se as amostras *in natura* com as em conserva. Bem provável que esse processo de fervura fez com que as proteínas fossem desnaturadas perdendo sua conformação.

5.3 Determinação do conteúdo de compostos fenólicos

Os resultados obtidos na determinação dos fenóis totais pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, que se baseia na redução do reagente de

Folin Ciocalteau (solução de íons complexos poliméricos formados a partir de heteropoli-ácidos fosfomolibdicos e fosfotungísticos) pelos compostos fenólicos presentes na amostra, resultando um produto de coloração azul que pode ser detectado em 750 nm, expressos por equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 gramas de polpa, são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Conteúdo de fenóis totais nas amostras de pequi.

Polpas de pequi	EAG (mg.(100 g de polpa) ⁻¹)	
	Extrato aquoso	Extrato etanólico
<i>in natura</i>	43,81 ± 0,003	92,44 ± 0,001
conserva	19,31 ± 0,001	38,05 ± 0,003
<i>in natura</i> liofilizada	289,03 ± 0,002	317,48 ± 0,003
conserva liofilizada	43,81 ± 0,007	93,89 ± 0,005

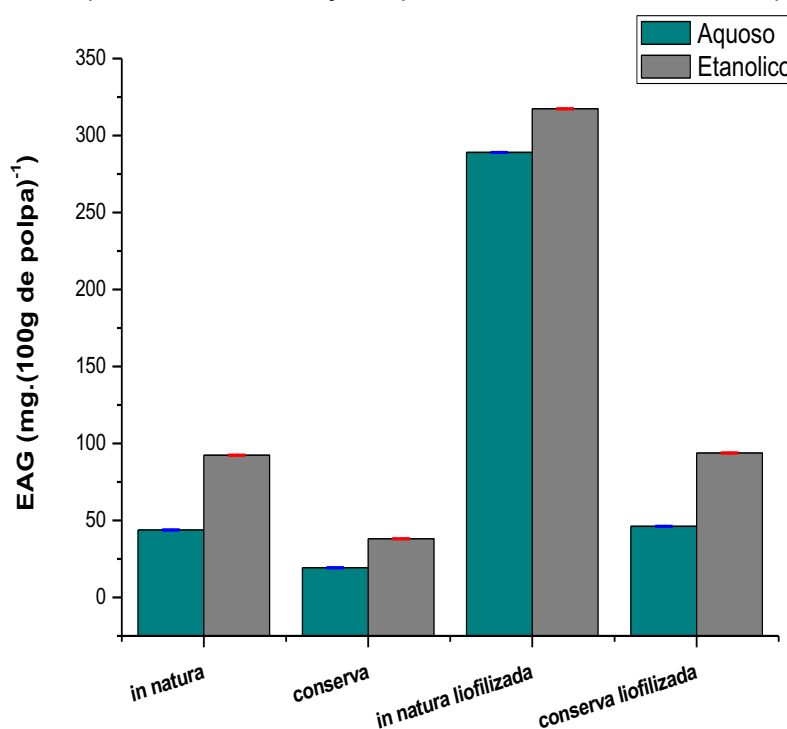
Fonte: Organizado pelo pesquisador.

Nota: Valores expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG; mg.(100 g polpa)⁻¹) e em média ± desvio padrão, n=3.

Lima (2008), estudando extrato de pequi, obteve 209,0 mg.(100 g de polpa)⁻¹, utilizando HPLC e metodologia proposta por Ibern-Gomez et al. (2002) e frutos coletados no Estado do Piauí, valor este maior que os determinados neste trabalho para extratos de polpas (aquoso e etanólico) *in natura*, em conserva e em conserva liofilizada. Entretanto considerando a polpa *in natura* liofilizada, os dados deste trabalho apresentam valores superiores (extratos aquosos e etanólico).

Todos os extratos quantificados apresentaram teores de compostos fenólicos, sendo que o menor obtido no extrato aquoso da polpa em conserva e o maior no extrato etanólico da polpa *in natura* liofilizada, podendo comprovar que a extração etanólica, neste caso, é a mais eficiente (Gráfico 5), o que era esperado.

Gráfico 5 – Comportamento da extração aquosa e etanólica de fenóis das polpas de pequi



Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

Os valores encontrados de compostos fenólicos na polpa *in natura* liofilizada são superiores aos encontrados em várias frutas brasileiras, como no açaí (136,8 mg.100g⁻¹) e no morango (132,1 mg.100g⁻¹). Já a acerola e a manga possuem teores superiores aos encontrados neste trabalho, 580,1 mg.100g⁻¹ e 544 mg.100g⁻¹, respectivamente (KUSKOSKI et al., 2006). Isso indica que a polpa do pequi pode ser um alimento com alto potencial antioxidante, já que vários autores têm verificado uma correlação positiva entre a capacidade antioxidante e o teor de fenólicos totais em alimentos (KUSKOSKI et al., 2006; FALLARERO et al., 2003).

Nota-se diferença entre as polpas estudadas, verificando uma diminuição do teor de compostos fenólicos na polpa em conserva, porém com o teor obtido pode-se considerá-la um alimento com capacidade antioxidante. Uma vez que, o consumo de alimentos com essas propriedades podem oferecer uma proteção contra doenças degenerativas, como câncer e doenças cardiovasculares, entre outras, assim a polpa em conserva seria uma alternativa para a ingestão desses nutrientes onde poderiam ser consumidos não somente pelas populações nativas nas regiões onde são encontrados e produzidos.

5.4 Determinação do conteúdo de vitamina C

Os resultados referentes à determinação do conteúdo de vitamina C, obtidos por meio de método titulométrico, estão apresentados na Tabela 6.

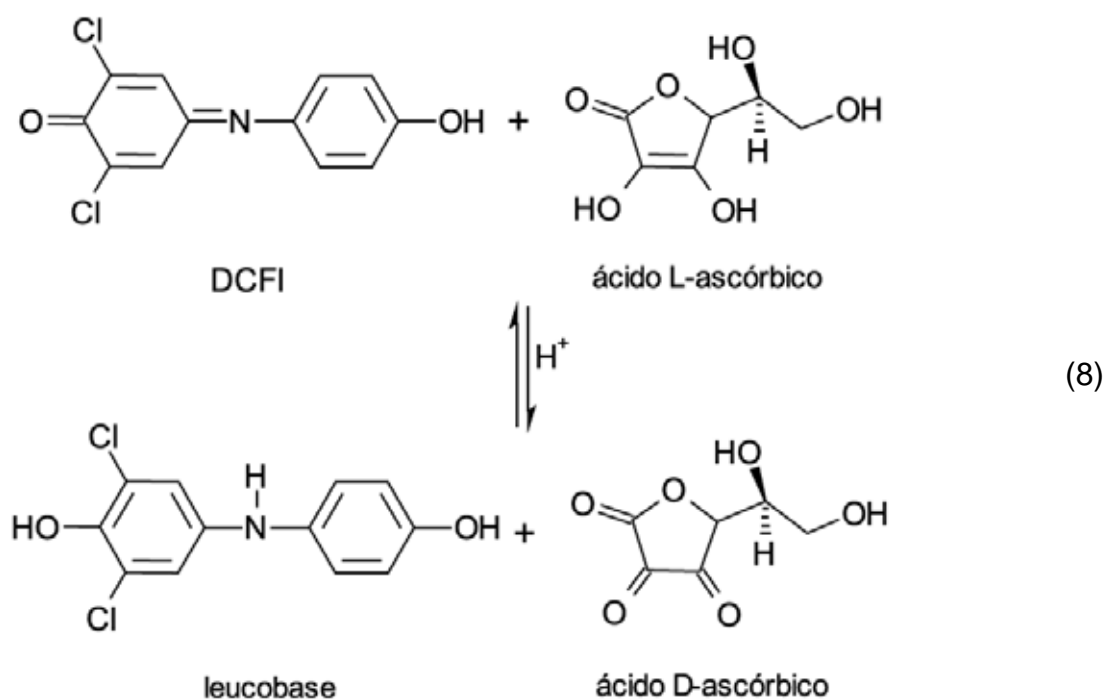
Tabela 6 – Conteúdo de vitamina C encontrado nas amostras de pequi.

Polpas de pequi	Vitamina C (mg.(100g de polpa) ⁻¹)
<i>in natura</i>	76,53 ± 0,006
conserva	99,17 ± 0,006

Fonte: Organizado pelo pesquisador.

Nota: Valores expressos em média ± desvio padrão, n=3.

O método titulométrico utilizado baseia-se no processo de oxirredução onde o DCFI é reduzido pelo ácido ascórbico, equação 8. O DCFI é utilizado como indicador de cor que: em meio básico ou neutro apresenta coloração azul; em meio ácido é rosa; e sua forma reduzida é incolor. O ponto final da titulação é verificado quando há mudança da coloração inicial da solução.



Normalmente, os frutos cítricos apresentam teores variados de ácido ascórbico. Segundo Franco (1999) as fontes de ácido ascórbico nos frutos podem ser classificadas como: i) fontes elevadas (100 a 300 mg.100g⁻¹); ii) fontes médias (50 a 100 mg.100g⁻¹); iii) fontes baixas (25 a 50 mg.100g⁻¹); e iv) fontes muito baixas (quando menores que 25 mg.100g⁻¹).

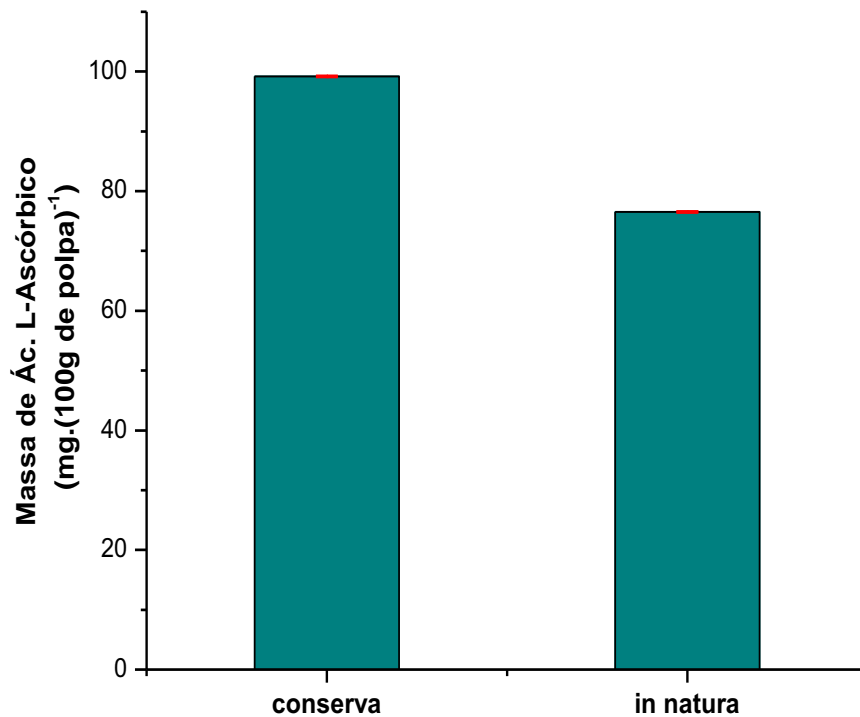
A quantificação do conteúdo de vitamina C, normalmente, é determinada utilizando substâncias que são reduzidas pelo ácido ascórbico e este é oxidado, processo de oxirredução 1:1, possibilitando assim a determinação da vitamina C (FONTANNAZ; KILINÇ; HEUDI, 2006; HERNÁNDEZ; LOBO; GONZÁLEZ, 2006).

O conteúdo de vitamina C presente no pequi *in natura* (76,53 mg.100g⁻¹) foi semelhante ao verificado por Sano e Almeida (1998) (72,27 mg.100g⁻¹) e próximos aos valores encontrados por Gonçalves et al. (2011) (91,89 mg.100g⁻¹), por Rodrigues (2005) (98,4 mg.100g⁻¹) e por Vilas Boas (2004) (105 mg.100g⁻¹).

Os resultados indicam que tanto a polpa em conserva quanto a polpa *in natura* são fontes médias de vitamina C. O teor encontrado na polpa *in natura* apresenta valor que: i) se iguala ao teor encontrado no suco de laranja concentrado e congelado (76,5 mg.100g⁻¹); ii) é superior ao teor de algumas frutas cítricas, como do limão verde (63,2 mg.100g⁻¹), do limão maduro (30,2 mg.100g⁻¹) e da laranja pera fresca (40,9 mg.100g⁻¹); iii) de algumas frutas tropicais, como da goiaba branca (80,1 mg.100g⁻¹) e goiaba vermelha (45,6 mg.100g⁻¹); e iv) é inferior ao encontrado no caju amarelo maduro (219,7 mg.100g⁻¹) e na manga-rosa verde (146 mg.100g⁻¹) (SILVA; FERREIRA; SILVA, 1995).

Observa-se, no Gráfico 6, que a polpa em conserva mostrou um maior teor de vitamina C que a *in natura*, fato atípico, porém pode estar relacionado com a preservação desta vitamina, já que nos frutos frescos há o favorecimento da perda das propriedades da vitamina C, devido a presença de ar, calor, água ou luz.

Gráfico 6 – Conteúdo de vitamina C encontrado nas amostras de pequi.



Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

5.5 Investigação do potencial antioxidante

Alguns alimentos podem conter substâncias antioxidantes, nutrientes ou não, com habilidade de prevenir os radicais livres. Assim, eles podem ter tanto efeitos positivos como negativos no equilíbrio entre o dano oxidativo e as defesas frente a este dano (GIADA; MANCINI FILHO, 2006; MANACH et al., 2004). Portanto, o balanço oxidativo do organismo pode ser modificado pelos componentes de uma dieta, aumentando o consumo de alimentos ricos em propriedades antioxidantes ou diminuindo o consumo de alguns constituintes capazes de serem oxidados (LIMA, 2008).

São características de um bom antioxidante: o acesso ao local de ação, dependendo de sua hidrofília ou lipofília e de seu coeficiente de partição; a capacidade de movimentação do radical formado em sua estrutura; a habilidade de quelar metais de transição envolvidos no processo oxidativo; e a presença de substâncias substituintes doadoras de elétrons ou de hidrogênio ao radical, conforme seu potencial de redução (MANACH et al. 2004; HALLIWEL, 1995). Podendo atuar como antioxidantes primários, que são doadores de prótons, prevenindo o processo de iniciação provocado pelos radicais livres, ou como

antioxidantes secundários, que agem no bloqueio da decomposição dos peróxidos e hidroperóxidos, sitiando a reação em cadeia por meio da captação de intermediários reativos, como os radicais peroxila e alcooxila (BRAVO, 1998; DONNELLI; ROBINSON, 1995).

A investigação do potencial antioxidante das polpas de pequi foi determinada utilizando três ensaios.

5.5.1 Ensaio de sequestro do cátion radical ABTS^{•+}

Na Tabela 7 estão apresentados os resultados da investigação do potencial antioxidante da polpa de pequi por meio da captura do cátion radical ABTS^{•+} nos extratos aquosos e etanólicos.

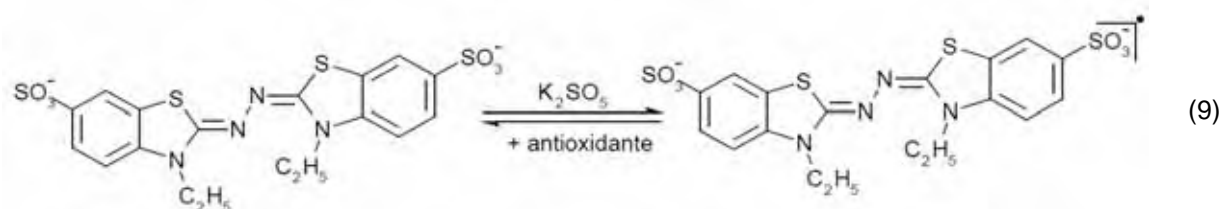
Tabela 7 – Potencial antioxidante de pequi *in natura* e em conserva utilizando ABTS^{•+}.

Polpas de pequi	IC ₅₀ (mg.mL ⁻¹)	
	Extrato aquoso	Extrato etanólico
<i>in natura</i>	0,293 ± 0,005	0,289 ± 0,017
conserva	0,189 ± 0,008	0,344 ± 0,008

Fonte: Organizado pelo pesquisador.

Nota: Valores expressos em média ± desvio padrão, n=3.

O método utilizado consiste na obtenção do ABTS^{•+} a partir do ABTS, equação 9, sendo o radical um composto cromóforo quimicamente muito estável, com alta solubilidade em água e um máximo de absorvância a 414 nm e medidas secundárias a 645, 734 e 815 nm (MILLER et al., 1993).

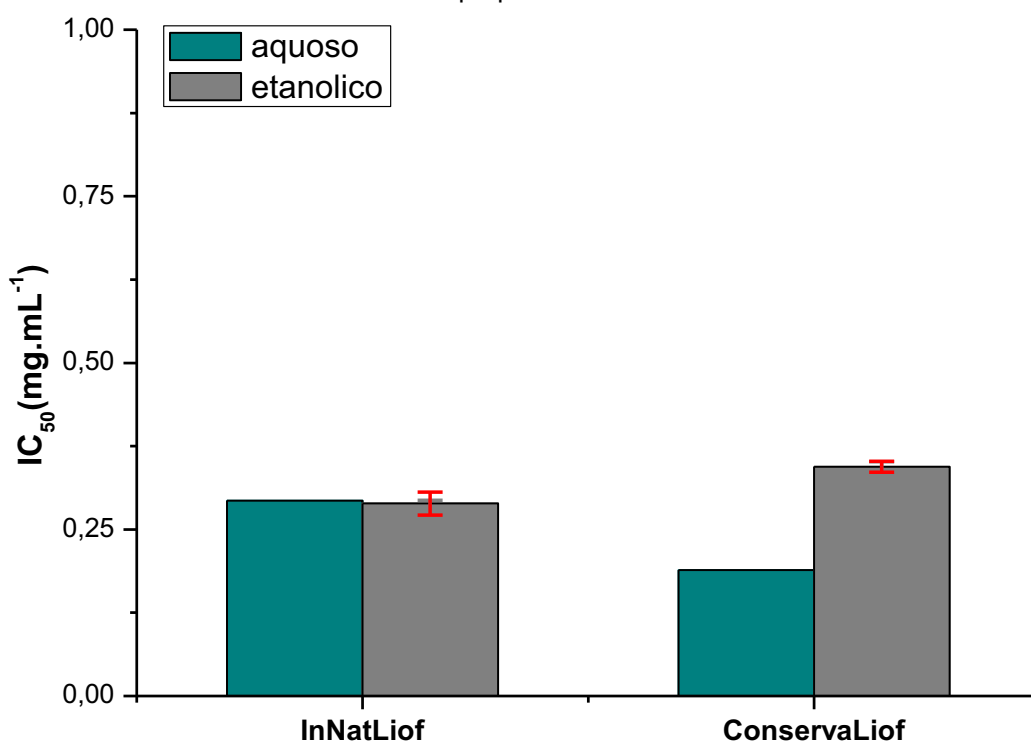


Os resultados foram expressos através do cálculo de IC₅₀, índice que descreve a quantidade de antioxidante necessária para inibir 50% de radical catiônico ABTS^{•+}. Desta forma, os resultados foram semelhantes para a polpa *in*

natura nos dois extratos (aquoso e etanólico) e diferentes para a polpa em conserva, o que pode ser observado no Gráfico 7.

Nota-se que ambas as amostras nos extratos estudados apresentam capacidade de sequestrar os radicais ABTS⁺. Assim, os extratos aquosos apresentaram menores índices de IC₅₀ e, conseqüentemente, maior atividade antioxidante e que as substâncias com capacidade antioxidante presentes nas amostras de pequi, visivelmente, são solúveis nos dois solventes utilizados (água e etanol).

Gráfico 7 – Potencial antioxidante de pequi *in natura* e em conserva utilizando ABTS⁺.



Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

Lima (2008), estudando extrato aquoso e etanólico de amostras de pequi fresco coletados no Estado de Piauí, obteve a atividade antioxidante, com valores de TEAC (capacidade antioxidante equivalente ao trolox – $\text{mmol}_{\text{trolox}} \cdot \text{g}_{\text{amostra}}^{-1}$) de 1,86 e de 2,10 para extrato aquoso e 0,86 e 0,92 para extrato etanólico, após 10 e 20 minutos de tempo de reação, respectivamente. Considera-se que as amostras de pequi apresentam capacidade de sequestrar os radicais ABTS⁺, em ambos os trabalhos, porém os resultados obtidos foram expressos de formas diferentes, um através do cálculo de IC₅₀ e o outro por TEAC, não podendo fazer uma analogia entre os valores.

5.5.2 Ensaio de sequestro do radical DPPH[•]

O método utilizado consiste em verificar a habilidade de captura do radical livre DPPH[•] pelas substâncias antioxidantes, por meio do decréscimo da absorbância, sendo proporcional à concentração e à atividade antioxidante da amostra (BRAND-WILLIAM; CUVELIER; BERSET, 1995).

Um dos benefícios em utilizar esse método é que o radical livre é estável e está disponível comercialmente, o que impede sua formação por diversas formas, o que acontece no método que utiliza ABTS^{•+} (LIMA, 2008).

As amostras apresentaram capacidade de sequestrar o radical DPPH[•], porém, houve a formação de precipitado o que impediu a realização de algumas leituras (Figura 26). A formação do precipitado ocorreu com o aumento da concentração, portanto, a partir de 100 µL pipetados não é possível confiar e/ou realizar a leitura de absorbância.

Observando o extrato aquoso de pequi em conserva pode-se notar o aumento da leitura de absorbância, mas isso é um resultado falso, uma vez que o precipitado interfere aumentando o valor da leitura de absorbância.

Os extratos de pequi *in natura* (aquoso e etanólico) e o extrato etanólico de pequi em conserva demonstraram melhor capacidade de sequestrar o radical DPPH[•] que o extrato aquoso de pequi em conserva.

Observou-se, também, o desaparecimento completo da cor nas concentrações de 100 a 120 µL para o extrato aquoso de pequi *in natura*, enquanto que nos outros a coloração rósea dá-se pelo fato de que todo o radical, presente na reação, foi sequestrado ou neutralizado pela amostra. Podendo indicar, também, que esta amostra possui melhor capacidade de sequestro desse radical do que as demais amostras.

Figura 26 – Reação das amostras de pequi com DPPH[•].



Fonte: Imagem produzida pelo pesquisador.

Nota: Observa-se no tubo a direita a formação de um precipitado

5.5.3 Ensaio de sequestro do HOCl

Os resultados referentes à investigação do potencial antioxidante da polpa de pequi através da captura do HOCl nos extratos aquosos e etanólico estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Potencial antioxidante de pequi *in natura* e em conserva utilizando HOCl.

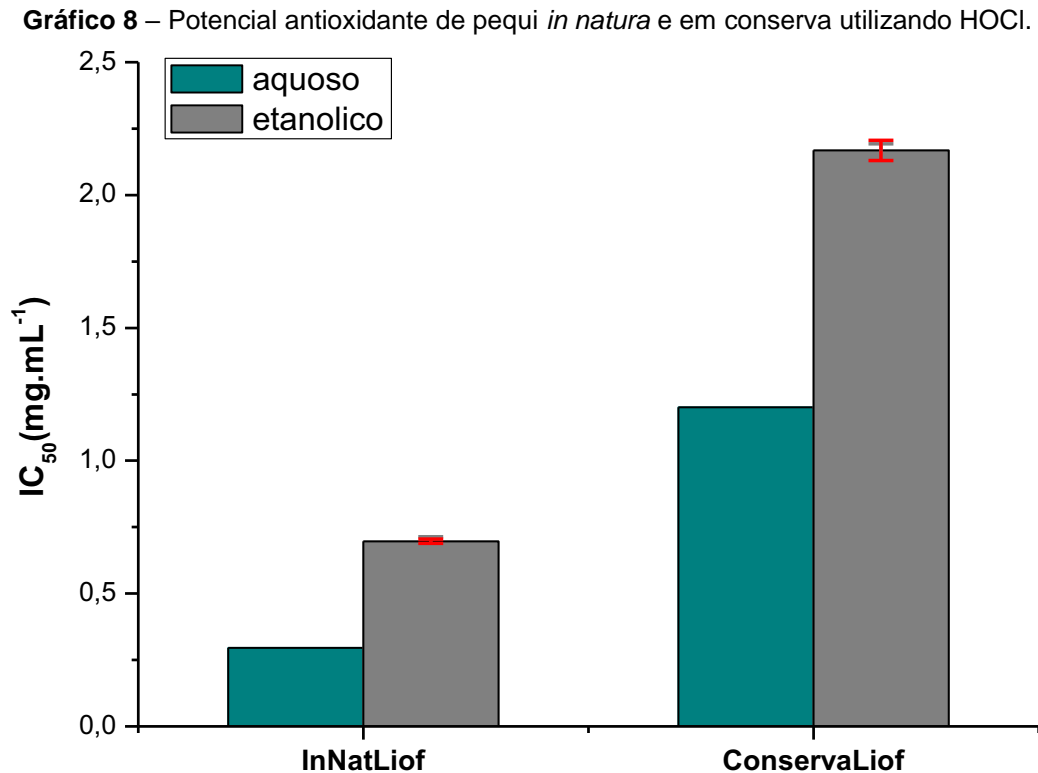
Polpas de pequi	IC ₅₀ (mg.mL ⁻¹)	
	Extrato aquoso	Extrato etanólico
<i>in natura</i>	0,2962 ± 0,0171	0,697 ± 0,0079
conserva	1,2065 ± 0,0249	2,168 ± 0,0376

Fonte: Organizado pelo pesquisador.

Nota: Valores expressos em média ± desvio padrão, n=3.

O ensaio utilizando o sistema [HOCl/OCl⁻¹] foi realizado devido ser uma espécie reativa de oxigênio (ERO) formada no organismo humano, pela ação de certas enzimas das células de defesa.

Os resultados foram expressos através do cálculo de IC_{50} , índice que descreve a quantidade de antioxidante necessária para inibir 50% de HOCl. Desta forma, entre os resultados obtidos houve uma diferença, tanto entre as amostras como entre os tipos de solventes que foram utilizados nos extratos, o que pode ser observado no Gráfico 8.



Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

Nota-se que as amostras nos extratos aquosos apresentam menor capacidade de sequestrar o HOCl do meio, assim, esses extratos apresentaram menores índices de IC_{50} e, conseqüentemente, maior atividade antioxidante que nos extratos etanólico estudados.

Há vários compostos com potencial antioxidante que estão presentes em diversas frutas e vegetais, como as vitaminas C e E, os carotenoides e uma variedade fitoquímicos como os compostos fenólicos simples, os glicosídeos e os flavonoides (PELLEGRINI et al., 2007), inclusive no pequi que contém compostos fenólicos e vitamina C.

Os compostos fenólicos atuam como antioxidantes devido a sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons e, também, por causa de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento,

principalmente os ácidos graxos e os óleos (ALI et al., 2009; MAILLARD et al., 1996; CUVELIER, RICHARD, BERSET, 1992). Já a vitamina C protege contra a oxidação descontrolada no meio aquoso da célula, devido ao seu alto poder redutor (KLIMCZAK et al., 2007).

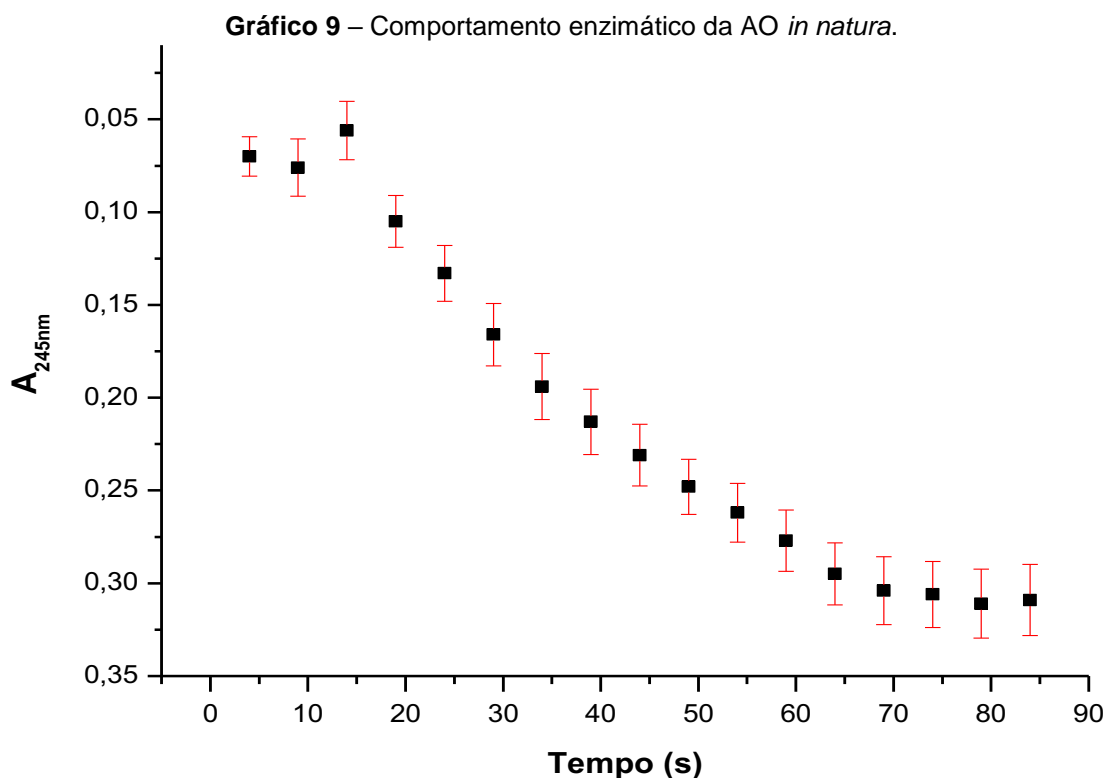
A atividade antioxidante do pequi pode estar relacionada com o conteúdo de compostos fenólicos totais e com o teor de vitamina C, ambos comprovados neste estudo, porém pode estar associada, também, a presença de carotenoides (LIMA, 2008).

Nota-se uma diferença entre as polpas estudadas, verificando uma diminuição do teor de compostos fenólicos na polpa em conserva, porém com o teor obtido pode considerá-la um alimento com capacidade antioxidante.

5.6 Estudos cinético-enzimáticos da AO

A enzima ascorbato oxidase (AO) catalisa a reação de oxirredução do ácido ascórbico, na presença de O_2 , e a determinação da atividade enzimática da AO é relevante, pois, até em baixas temperaturas, esta enzima pode atuar sobre seu substrato, ocasionando perdas significativas nos frutos e outros vegetais (CARDELLO; MORAES; CARDELLO, 1993).

Assim, a extração e a atividade da AO do pequi foram determinadas de acordo com pesquisa que vem sendo realizada no Laboratório de Enzimologia do Instituto de Química da UNESP – Campus de Araraquara, descritas nos itens 4.2.8 e 4.2.10, respectivamente. O comportamento cinético da AO de pequi *in natura* pode ser observado no Gráfico 9.



Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

Nota: Condições de ensaio: 100 μL de extrato enzimático de pequi *in natura*, 2.000 μL de solução tampão citrato-ácido cítrico 0,1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 5,0, e ácido ascórbico 3 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ acidificada com HCl 3 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Leituras à 245 nm a 25°C. Traçado em vermelho corresponde ao desvio padrão.

Observa-se no Gráfico 9 que com o decorrer do tempo, há uma diminuição da absorbância e que ela está relacionada com a diminuição do ácido ascórbico presente no meio, que foi consumido durante a reação, comprovando a atuação dessa enzima. A unidade de atividade da AO de pequi foi determinada usando a Equação 7 e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 – Atividade enzimática da AO de pequi *in natura* e em conserva.

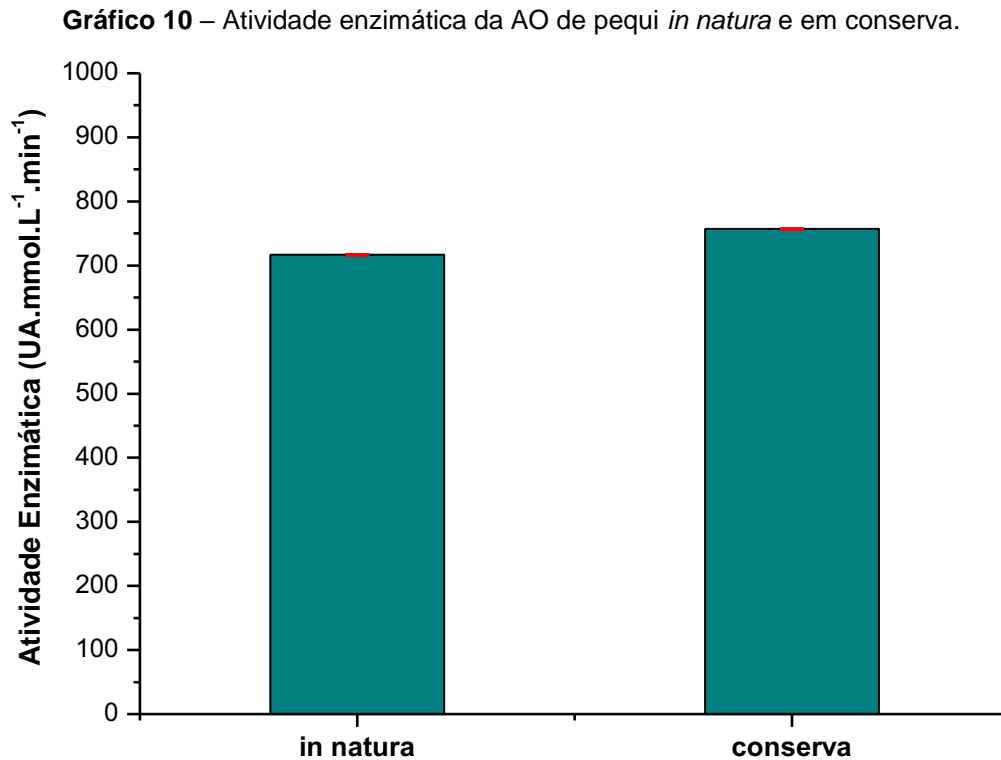
Polpas de pequi	UA/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$
<i>in natura</i>	717,00 \pm 0,008
conserva	756,87 \pm 0,006

Fonte: Organizado pelo pesquisador.

Nota: Valores expressos em média \pm desvio padrão, n=3.

A polpa em conserva apresentou uma maior atividade enzimática que a polpa *in natura* e isso pode estar relacionado com o conteúdo de vitamina C presente no pequi, como verificado a polpa em conserva contém 99,17 $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ e

a *in natura* 76,53 mg.100g⁻¹, mesmo o pequi estando sob condições de armazenamento, esta enzima mostrou-se, ainda, atuante sobre seu substrato, uma vez que ela atua sobre o ácido ascórbico presente no meio, o que pode ser verificado no Gráfico 10.



Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

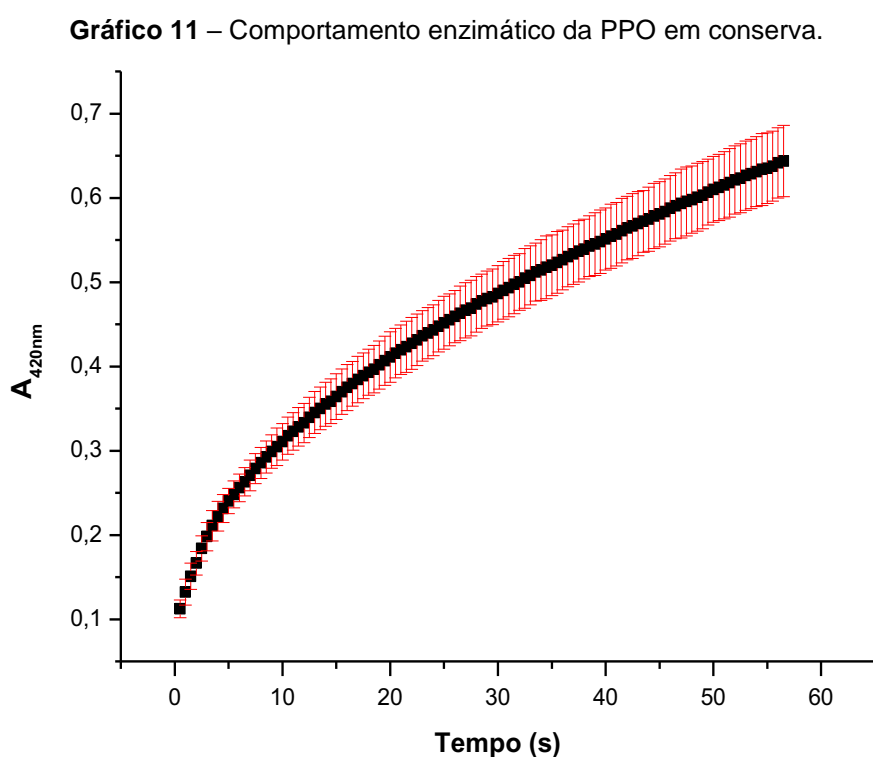
5.7 Estudos cinético-enzimáticos da PPO

As reações de escurecimento catalisadas por enzimas constituintes do fruto podem gerar produtos que, por si só ou através de reações secundárias, alteram a cor no produto final, perdendo assim significativamente a qualidade dos produtos, principalmente aqueles a base de pequi. Além da alteração da coloração dos frutos *in natura*, o escurecimento enzimático pode ocasionar perda da cor dos produtos processados e ou congelados de frutas e hortaliças, diminuição do valor nutricional e modificação das propriedades organolépticas. Uma das enzimas relacionadas a esse fenômeno é a polifenoloxidase (PPO), que está presente em diversos vegetais.

As reações enzimáticas que envolvem esta enzima ocorrem no alimento durante o processamento e o armazenamento e têm sido estudadas em

diversas frutas e outros vegetais (ZANATTA; ZOTARELLI; CLEMENTE, 2006). A PPO catalisa a reação oxidativa devido sua habilidade em utilizar o oxigênio molecular durante a oxidação de substratos fenólicos, formando produtos de cor escura (MAYER, 1987).

Dessa forma, a extração e a atividade da PPO do pequi foram determinadas de acordo com pesquisa que vem sendo realizada no Laboratório de Enzimologia do Instituto de Química da UNESP – Campus de Araraquara, descritas nos item 4.2.9 e 4.2.11, respectivamente. O comportamento cinético da PPO de pequi em conserva pode ser observado no Gráfico 11.



Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

Nota: Condições de ensaio: 100 μL de extrato enzimático de pequi em conserva, 2.000 μL de solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, pH 6,0, adicionando para iniciar a reação 900 μL de solução de catecol $0,4 \text{ mol.L}^{-1}$. Leituras à 420 nm a 25°C . Traçado em vermelho corresponde ao desvio padrão.

Observa-se no Gráfico 11 que a absorbância está diretamente relacionada com a atividade enzimática da PPO, e que a mesma oxidou o substrato utilizado no ensaio, catecol, evidenciando sua ação como catecolase. A quantidade de enzima que provoca um aumento na absorbância de 0,001 unidades por minuto nas condições de ensaio é a definição utilizada na determinação da unidade de atividade da PPO de pequi, os valores podem ser observados na Tabela 10.

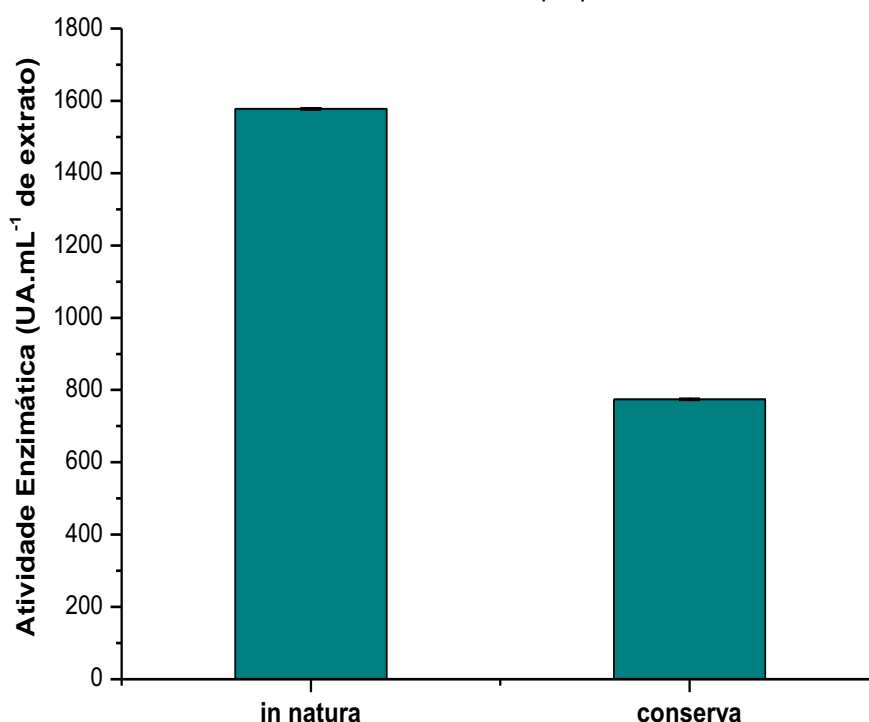
Tabela 10 – Atividade enzimática da PPO de pequi *in natura* e em conserva.

Polpas de pequi	UA.mL ⁻¹ de extrato
<i>in natura</i>	1.577,40 ± 0,008
conserva	774,03 ± 0,006

Fonte: Organizado pelo pesquisador.

Nota: Valores expressos em média ± desvio padrão, n=3.

A polpa *in natura* apresentou uma maior atividade enzimática que a polpa em conserva, o que pode ser observado no Gráfico 12. Isso pode estar relacionado com o conteúdo de fenóis presentes no pequi, como verificado na polpa *in natura* contém 43,81 mg.100g⁻¹ e na em conserva 19,31 mg.100g⁻¹, pois a PPO atua nos compostos fenólicos oxidando-os, ou seja, na presença de O₂ os orto-difenóis sofrem oxidação à orto-quimonas.

Gráfico 12 – Atividade enzimática da PPO de pequi *in natura* e em conserva.

Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

5.8 Determinação da atividade específica das enzimas AO e PPO

A atividade específica foi determinada após a verificação do conteúdo proteico (mg.mL⁻¹) e da unidade de atividade encontrada (UA) das enzimas

ascorbato oxidase e polifenoloxidase, e os resultados estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Atividade específica da AO e da PPO de pequi *in natura* e em conserva.

Polpas de pequi	Atividade específica [UA.mg de proteína ⁻¹]	
	AO	PPO
<i>in natura</i>	84,65	135,52
conserva	36,78	40,02

Fonte: Organizado pelo pesquisador.

Nota: Valores expressos em média, n=3.

Observa-se que a polpa em conserva apresenta uma menor atividade específica (AE) de ambas as enzimas estudadas, portanto, há uma menor quantidade de enzima ativa por miligrama de proteínas presentes no extrato da polpa.

Isso se deve ao processamento que ocorreu na amostra em conserva, como a mesma foi ferventada, neste processo pôde ter ocorrido a desnaturação das enzimas, o que acarreta numa menor AE quando comparada a *in natura*.

5.9 Determinação de parâmetros cinéticos da AO e da PPO

As enzimas nada mais são que proteínas globulares, e seu poder catalítico está relacionado com a conformação tridimensional da molécula, em particular do centro ativo, existindo uma conformação ótima para a catálise e para a ligação do substrato. Assim, estudos dos fatores que influenciam na conformação da molécula, na atividade e na estabilidade enzimática são necessário, destacando o pH e a temperatura (PORTO, 2008).

O pH influencia na ionização dos aminoácidos constituintes de uma enzima, alterando sua conformação e, portanto, sua atividade. Valores de pH extremos, dependendo da molécula enzimática, provocam a desnaturação da proteína, com perda de sua atividade (NELSON; COX, 2006).

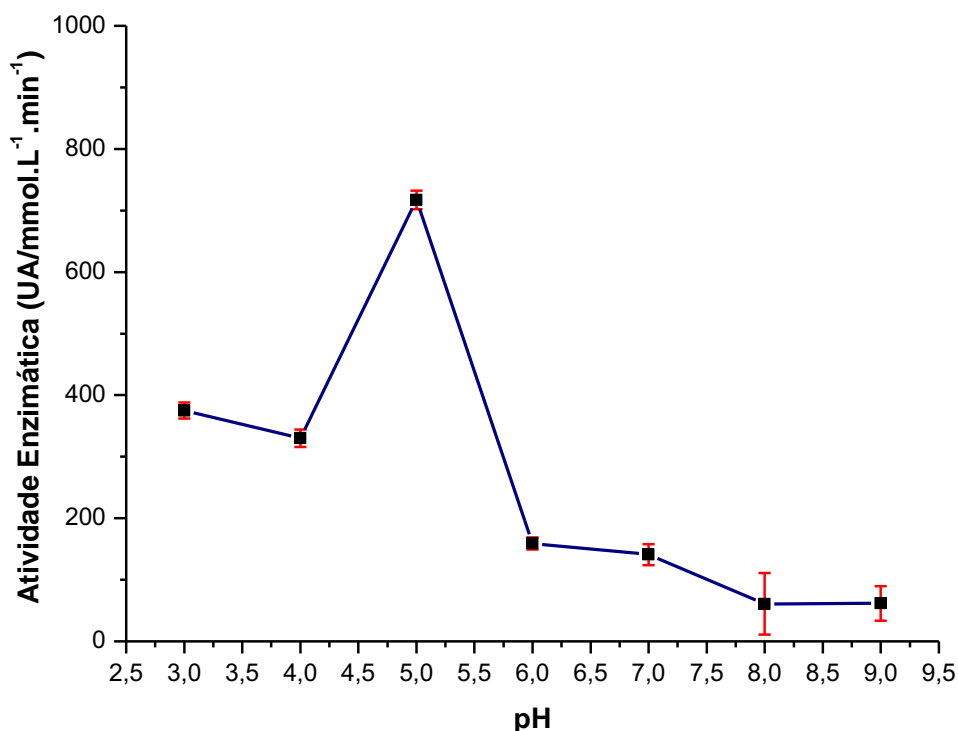
O aumento da temperatura acelera a velocidade das reações, sendo positivo este efeito na atividade enzimática. Mas, a elevação da temperatura, acima de um dado valor, ocasiona a destruição das ligações que mantém a estrutura

tridimensional da proteína, levando a uma desnaturação da conformação proteica da enzima, portanto, da atividade catalítica. A temperatura ótima de cada enzima é uma consequência da interação entre estes dois fatores (NELSON; COX, 2006).

5.9.1 Determinação do pH ótimo da AO

O pH influencia a atividade enzimática, desta forma foram realizados estudos sobre o efeito da variação de pH na atividade da AO de pequi *in natura* e em conserva em função do tempo, o que pode ser observado nos Gráficos 13 e 14, respectivamente.

Gráfico 13 – Efeito do pH na atividade da AO de pequi *in natura*.



Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

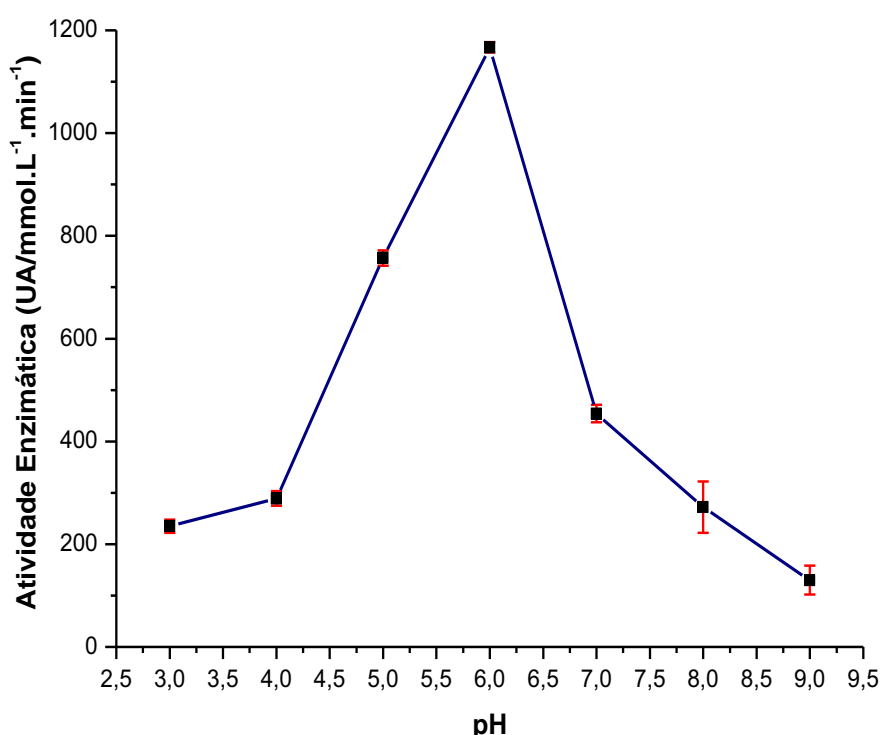
Pelos dados obtidos, nota-se que a maior atividade enzimática de AO, pequi *in natura*, foi encontrada em pH 5,0 (pH ótimo de ensaio), e verifica-se, também, uma diminuição da atividade enzimática em valores acima e abaixo do pH ótimo, destacando redução de 47,7% em pH 3,0 e de 91,4% em pH 9,0.

Cardello, Moraes e Cardello (1993) investigaram a influência do pH na atividade da AO em mangas Handen e encontraram um pH ótimo em pH 5,5. Já

Porto (2008) em abóboras encontrou melhor atividade da AO em pH 6,0, resultados semelhantes ao verificado na AO do pequi.

A maior atividade enzimática de AO, em amostras de pequi em conserva, foi o encontrada em pH 6,0 (pH ótimo de ensaio), como pode-se observar no Gráfico 14, com uma queda da atividade quando o ensaio foi realizado em valores acima e abaixo do pH ótimo, destacando uma redução de 79,9% em pH 3,0 e de 88,9% em pH 9,0.

Gráfico 14 – Efeito do pH na atividade da AO de pequi em conserva

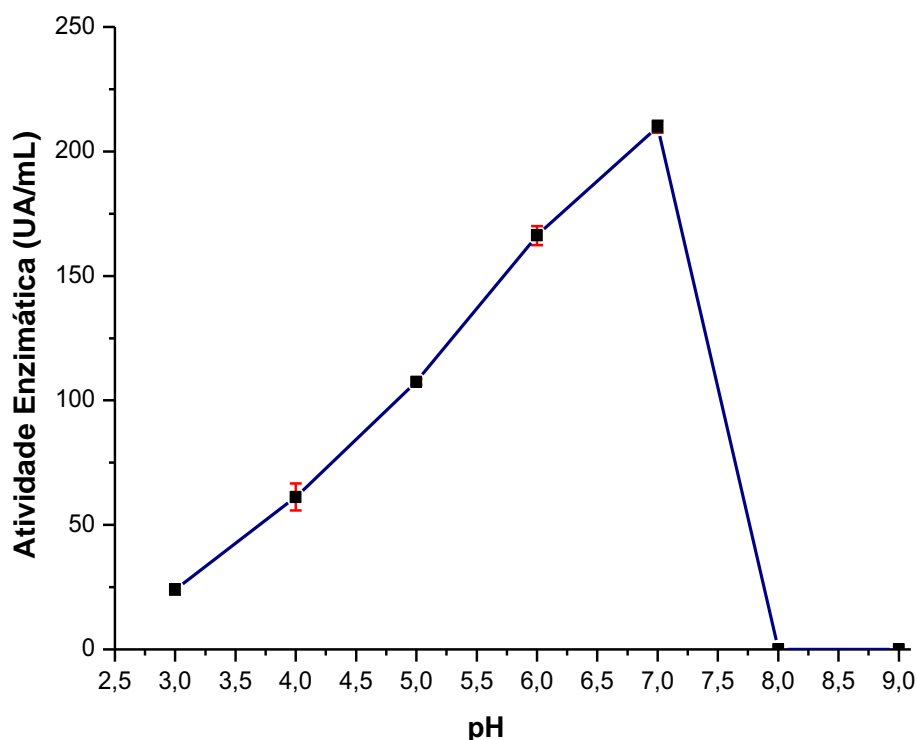


Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

5.9.2 Determinação do pH ótimo da PPO

Foi verificada a influência do pH na ação catalítica da PPO, de amostras de pequi *in natura* e em conserva. Análises cinéticas, em função do tempo de reação enzimática, foram realizadas em valores de pH na faixa de 3,0 a 8,0 (Gráficos 15 e 16).

Os resultados mostram valores de pH ótimo de 7,0 para pequi *in natura* e 5,0 para o em conserva, valores acima e abaixo do pH ótimo ocorre diminuição significativa da atividade, devido a desnaturação da estrutura conformacional da molécula enzimática.

Gráfico 15 – Efeito do pH na atividade da PPO de pequi *in natura*.

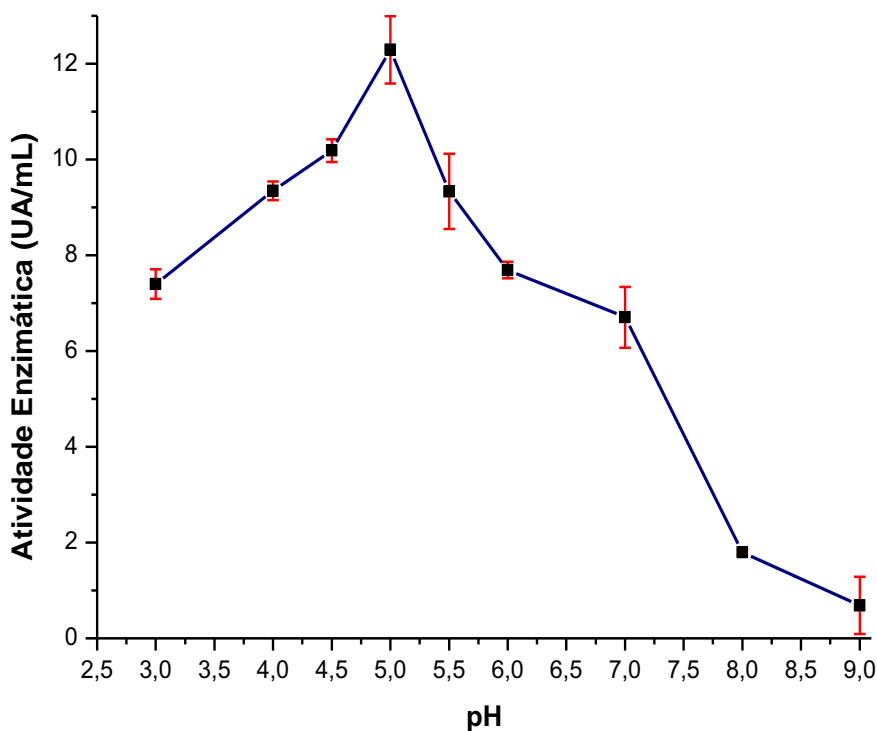
Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

No caso das amostras de pequi *in natura* os dados mostram que em pH 3,0 e 8,0-9,0, respectivamente, ocorre redução de 88% da atividade (UA/mL) e 100%.

Estudos da PPO em pêssegos (TORALLES et al., 2008), em diferentes partes da pinha (LIMA; PASTORE; LIMA, 2011) e em morangos (SERRADELL et al., 2000) mostraram que a enzima apresentou máxima atividade em pH 6,2, pH 6,5 e pH 5,3, respectivamente.

Em relação às amostras em conserva, a cinética de reação mostrou redução dos valores de UA/mL em 39,8% e 94,4%, respectivamente, para os ensaios em pH 3,0 e 9,0.

As variações de pH ótimo de atividade pode ocorrer devido a diversos fatores, entre eles as propriedades genéticas, a natureza do substrato, estabilização de conformação proteica, entre outros.

Gráfico 16 – Efeito do pH na atividade da PPO de pequi em conserva.

Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

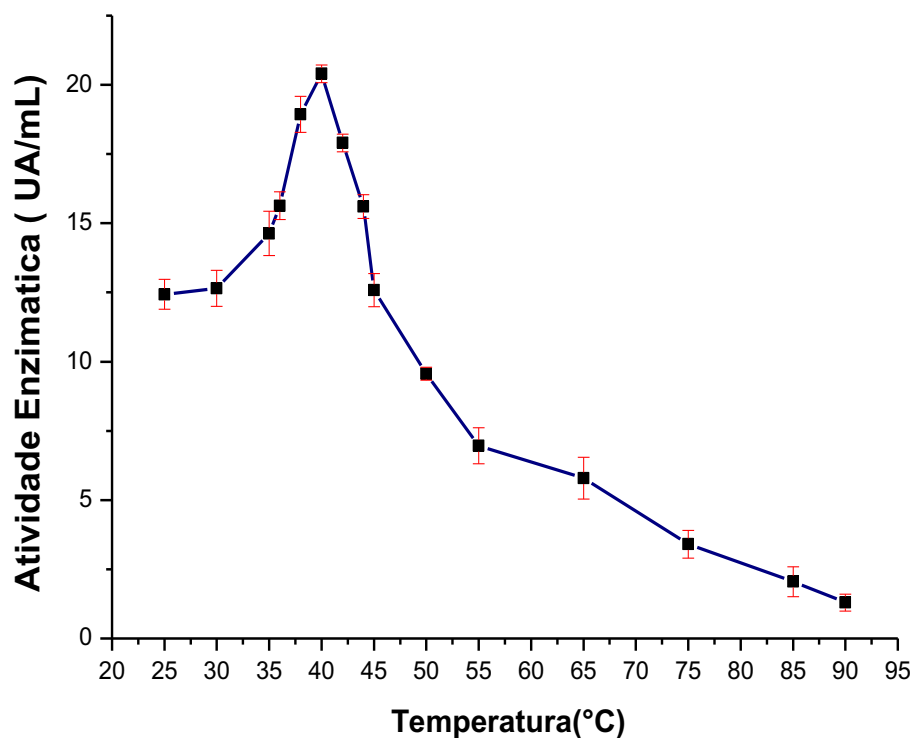
5.9.3 Determinação da temperatura ótima de ensaio da PPO

Para a determinação da temperatura ótima da PPO, da polpa de pequi em conserva, realizou-se estudos cinéticos sobre o efeito da temperatura na atividade enzimática, para verificação da influência desse parâmetro cinético na atividade catalítica da enzima.

O aumento da temperatura pode favorecer a reação de catálise, mas deve-se considerar que temperaturas elevadas podem ocasionar a desnaturação da enzima. Assim é de grande importância verificar o efeito do aumento da temperatura na atividade da PPO, em função do tempo, nas condições ótimas de ensaio.

A temperatura de 40°C foi a que apresentou maior atividade enzimática (Gráfico 17). A máxima atividade verificada nos estudos da PPO em morangos (SERRADELL et al., 2000) foi em temperatura de 50°C, em diferentes partes da pinha (LIMA; PASTORE; LIMA, 2011) a 20°C e em pêssegos (TORALLES et al., 2008) a 30°C.

Gráfico 17 – Efeito da temperatura na atividade da PPO de pequi em conserva.



Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

Nota: Condições de ensaio: 100 μL de extrato enzimático de pequi em conserva, 900 μL de solução de catecol $0,4 \text{ mol.L}^{-1}$, 2.000 μL de solução tampão de citrato-fosfato de sódio $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$; pH 5,0. Leituras à 420 nm variando a temperatura em intervalos de 10°C .

Pelos dados obtidos observa-se que com o aumento da temperatura ocorreu aumento da atividade até o valor da temperatura ótima, a partir da qual houve redução de 89,9% a 85°C e 93,7% a 90°C , devido a desnaturação proteica.

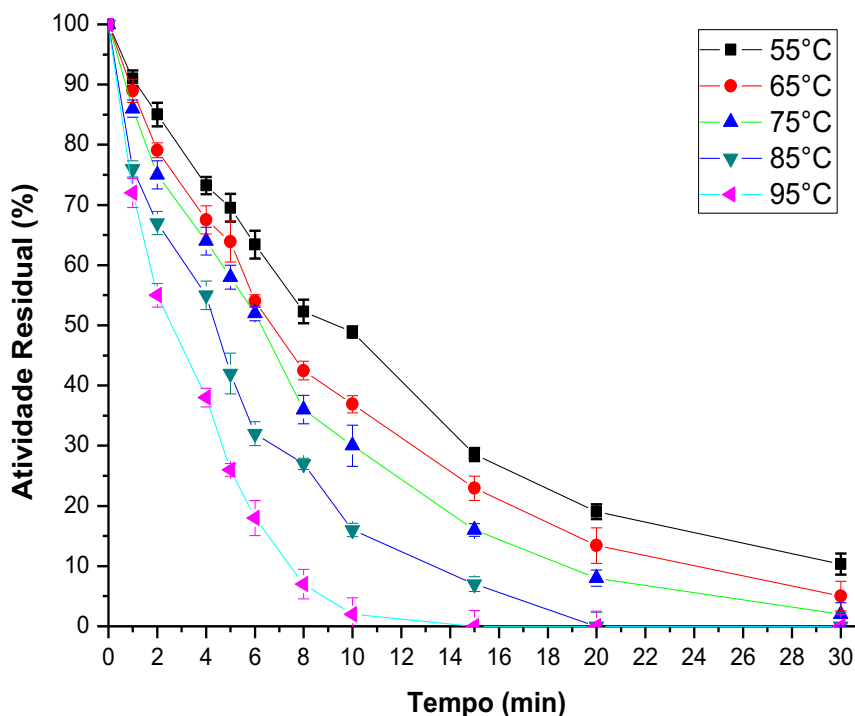
5.9.4 Efeito da estabilidade térmica da PPO

Os resultados dos estudos cinético-enzimático sobre a estabilidade da PPO, em amostras do pequi em conserva, são mostrados no gráfico 18, no qual se observa a redução da atividade da PPO com o decorrer do tempo de estocagem nas temperaturas de 55°C a 95°C , e depois verificação da atividade nas condições ótimas de ensaio.

Pelos dados, observa-se que a estocagem durante 30 minutos, provocou uma redução de 89,7%, de 95,0% e de 98%, respectivamente, a 55°C , a 65°C e a 75°C . A 85°C e 95°C não foi observada atividade enzimática após 20 minutos e 15 minutos de estocagem, respectivamente. Serradell et al. (2000)

verificou que temperaturas acima de 65°C, durante 30 minutos de estocagem, provocam a perda completa na atividade da PPO em morangos.

Gráfico 18 – Efeito da estabilidade térmica na atividade da PPO de pequi em conserva.



Fonte: Organizado pelo pesquisador usando o software OriginPro 8.6.

Nota: Efeito da estabilidade térmica na atividade da PPO de pequi em conserva. Condições de ensaio: 100 µL de extrato enzimático de pequi em conserva, 900 µL de solução de catecol 0,4 mol.L⁻¹, 2.000 µL de solução tampão de citrato-fosfato de sódio 0,1 mol.L⁻¹; pH 5,0. Estocagem individual nas temperaturas de 55°C a 95°C, em intervalos de 10°C, e em tempos previamente determinados até 30 minutos de estocagem. Leituras a 420 nm.

Considerando tempo de 1 minuto de estocagem na variação da temperatura 55°C a 95°C, a atividade residual variou de 92% a 73%, respectivamente. Para o processamento industrial a PPO de polpa de pequi é bem estável (em 1 minuto a atividade residual é muito alta) o que pode impossibilitar o processamento do fruto para a obtenção do produto alimentício industrializado. Estes dados podem explicar porque o pequi ainda é vendido *in natura* e em conserva com valor baixo de pH (ver Gráfico 15).

No caso da PPO, três componentes devem estar presentes para que a reação de escurecimento enzimático ocorra: enzima, substrato e oxigênio. No caso de ausência ou bloqueio da participação de um destes na reação (seja por compostos redutores, pela diminuição de temperatura ou pela variação de pH) a velocidade de reação diminui significativamente. O escurecimento enzimático é uma

reação de oxirredução, assim esta reação pode ser retardada utilizando substâncias que sejam capazes de bloquear ou reverter a reação, tais substâncias podem atuar diretamente sobre a enzima, sobre os intermediários da reação ou sobre o produto formado (ARAÚJO, 1995). Desta forma, o controle do escurecimento enzimático durante o processamento industrial e armazenamento de frutas é muito importante para a preservação da aparência natural e das propriedades organolépticas.

6 CONCLUSÃO

O pequi tem boa aceitação pela população e, em algumas regiões do Brasil, é fonte de alimentação e de comercialização tanto para o mercado interno quanto para o mercado externo.

Este fruto constitui uma crescente alternativa para o desenvolvimento de pesquisas e tecnologias que são fundamentais para a sustentabilidade e poderá promover um sistema de produção economicamente viável, além de ser uma excelente alternativa para a indústria alimentícia. Assim, são justificados os investimentos em tecnologias e desenvolvimento de processos visando qualidade do processamento e armazenamento de frutos, inclusive do pequi. Ressalta-se que, neste caso específico, estudos para o entendimento das reações químicas e dos efeitos físicos que ocorrem durante a transformação da fruta *in natura* devem ser realizados com o intuito de melhoria do processamento industrial e, também, na obtenção de produtos de alta qualidade deste fruto. Justifica-se tal reflexão visto que no processamento industrial da polpa de pequi podem ocorrer alterações nas propriedades organolépticas, como no sabor, no aroma, na cor e na textura, além da possibilidade de compostos indesejáveis serem intensificados durante o armazenamento.

O pequi *in natura* apresentam os melhores resultados, como esperado. Porém, a conserva, visto o tratamento na qual é submetida, apresenta resultados coerentes. Vale salientar que não se tinha muitas informações sobre o processamento pelo qual a conserva analisada foi submetida. Ressalta-se, também, que os frutos utilizados na conserva não eram do município de Cardoso, o que pode ter favorecido a diferença entre os dados encontrados com a amostra *in natura*.

Com os estudos realizados, pode-se verificar que o pequi em conserva manteve as suas propriedades antioxidantes, que poderá induzir ampliação desse setor de comercialização, além de propiciar trabalho e aumento de renda para a população do local onde há ocorrência do pequi. No que se refere às enzimas, aos parâmetros cinético-enzimáticos, à estabilidade, dentre outros, poderão indicar as condições de processamento industrial e armazenamento, para que as propriedades organolépticas do pequi sejam mantidas.

Além disso, os dados de capacidade antioxidante sugerem que o pequi pode ser considerado um fruto funcional, principalmente os níveis de compostos bioativos *versus* ação antioxidante que, quando consumidos os frutos de pequi, podem ser benéficos para a saúde dos seres humanos.

REFERÊNCIAS

- ADÂMOLI, J.; MACÊDO, J.; AZEVEDO, L. G.; MADEIRA NETTO, J. Caracterização da região dos Cerrados. In: GOEDERT, W. J. **Solos dos Cerrados: tecnologias e estratégias de manejo**. São Paulo: Nobel; Brasília: EMBRAPA-CPAC, 1986. p. 33-74.
- ALENCAR, S. M.; KOBLITZ, M. G. B. Oxirredutases. In: KOBLITZ, M. G. B. (Coord). **Bioquímica de alimentos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 125-152.
- ALI, S. S.; KASOJU, N.; LUTHRA, A.; SINGH, A.; SHARANABASAVA, H.; SAHU, A.; BORA, U. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. **Food Research International**, v. 41, p. 1-15, 2009.
- ALMEIDA, S. P. Frutas nativas do Cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. **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.
- ALMEIDA, S. P.; COSTA, T. S. A.; SILVA, J. A. Frutas nativas do Cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. (Ed.). **Cerrado: ecologia e flora**. Brasília, DF: EMBRAPA Cerrados, 2008. v. 1, p. 351-381.
- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.
- ARAÚJO, F. D. **The ecology, ethnobotany and management of *Caryocar brasiliense* Camb. around Montes Claros, MG, Brazil**. 1994. 175 f. Thesis (Doctor in Plant Sciences) – University of Oxford, Oxford, 1994.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa: Ed. UFV, 1995.
- AVIDOS, M. F. D.; FERREIRA, L.T. Frutos do Cerrado. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 3, n. 15, p. 36-41, jul./ago. 2000.
- AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 17, p. 385-396, 2004.
- BARBOSA, R. C. M. V.; AMANTE, E. R. Farinha de casca de pequi (*Caryocar brasiliense*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2002, Belém. **Anais...** Vitória da Conquista: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2002. 1 CD-ROM.

BARNES, J.; ANDERSON, L. A.; PHILIPSON, J. D. John's wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 53, n. 5, p. 583-600, 2001.

BARRADAS, M. M. Informações sobre a floração, frutificação e dispersão do piqui (*Caryocar brasiliense* Camb.) (Caryocaraceae). **Ciência e Cultura**, v. 24, p. 1063-1068, 1972.

BARTOLOMÉ, B.; JIMÉNEZ-RAMSEY, L. M.; BUTLER, L. G. Nature of the condensed tannins present in the dietary fibre fractions in foods. **Food Chemistry**, v. 53, n. 4, p. 357-362, 1995.

BATISTA, C. L. L. C. **Produção e avaliação da estabilidade de corante hidrossolúvel de urucum**. Viçosa: Ed. UFV, 1994.

BENASSI, M. T. **Análise dos efeitos de diferentes parâmetros de vitamina C em vegetais processados**. 1990. 159 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1990.

BERNARDES, N. R.; PESSANHA, F. F.; OLIVEIRA, D. B. Alimentos funcionais: uma breve revisão. **Ciência e Cultura: Revista Científica Multidisciplinar do Centro Universitário da FEB**, v. 2, n. 2, p. 11-19, nov. 2010.

BERTINI, I.; SIGEL, A.; SIGEL, H. **Handbook on metalloproteins**. New York: Marcel Dekker, 2001.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química dos alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 1992.

BRAIT, J. D. A. **Características físicas e químicas de pequi (Caryocar brasiliense CAMB), de ocorrência natural em Rio Verde – GO**. 2008. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Campus de Jataí, Universidade Federal de Goiás, Jataí, 2008.

BRANDÃO, M.; LACA-BUENDIA, J. P.; MACEDO, J. F. **Árvores nativas e exóticas do estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2002.

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

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Cerrado e pantanal: áreas e ações para conservação da biodiversidade**. Brasília, DF, 2007.

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

BURNS, J.; GARDNER, P. T.; O'NEIL, J.; CRAWFORD, S.; MORECROFT, I.; McPHAIL, D. B.; LISTER, C.; MATTHEWS, D.; MacLEAN, M. R.; LEAN, M. E.; DUTHIE, G. G.; CROZIER, A. Relationship among antioxidant activity, vasodilation capacity, and phenolic content of red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 2, p. 220-230, 2000.

CARDELLO, H. M. A. B.; MORAES, M. A. C.; CARDELLO, L. Ácido ascórbico e ascorbato oxidase em manga (*Mangífera índica* L.) var. Haden processada e congelada. **Alimentos e Nutrição**, v. 5, p. 65-75, 1993.

CARVALHAL, R. F. **Desenvolvimento de sensor biomimético empregando monocamadas auto-organizadas de tióis sobre eletrodos de ouro**. 2005. 98 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras**: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. Brasília,DF: EMBRAPA, 1994.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília,DF: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2008. v. 3.

CARVALHO JUNIOR, L. B.; LIMA, C. J.; MEDEIROS, P. H. Ascorbato oxidase from *Cucurbita maxima*. **Phytochemistry**, v. 20., n. 10., p. 2423-2424, 1981.

CLEMENTE, E.; PASTORE, G. M. Peroxidase and polyphenoloxidase, the importance for food technology. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 2, p. 167- 171, 1998.

COELHO, M. A. Z.; SALGADO, A. M.; RIBEIRO, B. D. **Tecnologia enzimática**. Petrópolis: EPUB, 2008.

CONSERVAÇÃO INTERNACIONAL. **Cerrado**. 2012. Disponível em: <<http://www.conservation.org.br/onde/cerrado/>>. Acesso em: 13 dez. 2012.

COSTA, M.; XIMENES, V. F.; FONSECA, L. M. Hypochlorous acid inhibition by acetoacetate: implications on neutrophil functions. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, p. 1183-1187, 2004.

CROFT, K. D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 854, p. 435-442, 1998.

CUVELIER, M. E.; RICHARD, H.; BERSSET, C. Comparison of the antioxidant activity of some acid phenols: structure-activity relationship. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 59, p. 324-325, 1992.

DESHPANDE, S. S.; CHERYAN, M.; SALUNKHE, D. K. Tannin analysis of food products. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 24, n. 4, p. 401-449, 1986.

DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A.; CAPASSO, F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sciences**, v. 64, n. 4, p. 337-353, 1999.

DIAS, B. F. S. **Alternativas de desenvolvimento dos Cerrados**: manejo e conservação dos recursos naturais renováveis. Brasília,DF: FUNATURA, 1992.

DIXON, M.; WEBB, E. L. Enzymes kinetic. In:____. **Enzymes**. New York: Academic Press, 1979. Cap. 4, p. 47.

DIXON, R. A.; HARRISON, M. J. Activation, structure, and organization of genes involved in microbial defense in plants. **Advances in Genetics**, v. 28, p. 165-234, 1990.

DONNELLI, J. K.; ROBINSON, D. S. Free radical in foods. **Free Radical Research**, v. 22, n. 2, p. 147-176, 1995.

DUCKWORTH, R. B. **Fruit and vegetables**. Oxford: Pergamon Press, 1966.

DURIGAN, G.; FRANCO, G. A. D.; SIQUEIRA, M. F. A vegetação dos remanescentes de Cerrado no estado de São Paulo. In: BITENCOURT, M. D.; MENDONÇA, R. R. **Viabilidade de conservação dos remanescentes de Cerrado no estado de São Paulo**. São Paulo: Annablume, 2004. p. 29-56.

EMPRESA BRASILEIRA EM PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solo. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1999.

ENZIMAS: natureza e ação nos alimentos. **Food Ingredients Brasil**, n. 16, p. 26-37, 2011. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/166.pdf>>. Acesso em: 16 dez. 2012.

AS ENZIMAS nos alimentos. **Aditivos e Ingredientes**, p. 55-68. Disponível em: <http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/80.pdf>. Acesso em 16 dez. 2012.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1998.

FALLARERO, A.; LOIKKANEN, J. J.; MANNISTO, P. T.; CASTAÑEDA, O.; VIDAL, A. Effects of aqueous extracts of *Halimeda incrassata* (Ellis) Lamouroux and *Bryothamnion trquetrum* (S.G. Gmelim) howe on hydrogen peroxide and methyl mercury-induced oxidative stress in GT1-7 mouse hypothalamic immortalized cells. **Phytomedicine**, v. 10, n. 1, p. 39-47, 2003.

FATIBELLO FILHO, O.; VIEIRA, I. C. Uso analítico de tecidos e de extratos brutos vegetais como fonte enzimática. **Química Nova**, v. 25, p. 455-464, 2002.

FELDMANN, K. A. Cytochrome P450s as genes for crop improvement. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 4, p. 162-167, 2001.

FERGUSON, L. R.; HARRIS, P. J. Protection against cancer by wheat bran: role of dietary fibre and phytochemicals. **European Journal of Cancer Prevention**, v. 8, n. 1, p. 17-25, 1999.

FERREIRA, F. R.; BIANCO, S.; DURIGAN, J. F.; BELINGIERI, P. A. Caracterização física e química de frutos maduros de pequi. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9., 1987, Campinas. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1988. p. 643-646.

FERREIRA, I. M. Paisagens do Cerrado: um estudo do subsistema de veredas. In: GOMES, H. **Universo do Cerrado**. Goiânia: Ed. UCG, 2008. v. 1.

FONTANNAZ, P.; KILINÇ, T.; HEUDI, O. HPLC-UV determination of total vitamin C in wide range of fortified food products. **Food Chemistry**, v. 94, n. 4, p. 626-631, mar. 2006.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9. ed. São Paulo: Atheneu, 1999.

GARCÍA-PINEDA, E.; CASTRO-MERCADO, E.; LOZOYA-GLORIA, E. Gene expression and enzyme activity of pepper (*Capsicum annuum* L.) ascorbate oxidase during elicitor and wounding stress. **Plant Science**, v. 166, p. 237–243, 2004.

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

GOMES, H. Cerrado: extinção ou patrimônio nacional? In: GOMES, H. **Universo do Cerrado**. Goiânia: Ed. UCG, 2008.

GONÇALVES, G. A. S.; BOAS, E. V. B. V.; RESENDE, J. V.; MACHADO, A. L. L.; BOAS, B. M. V. Qualidade dos frutos do pequi submetidos a diferentes tempos de cozimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 2, p. 377-385, mar./abr. 2011.

GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. S.; DAVID, M. M. Determination of serum proteins by means of the Biuret reaction. **Journal of Biological Chemistry**, v. 177, n. 2, p. 751-766, 1949.

GRIBEL, R. **Ecologia da polinização e da dispersão de *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae) na região do Distrito Federal**. 1986. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Departamento de Ecologia, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 1986.

GRIBEL, R.; HAY, J. D. Pollination ecology of *Caryocar brasiliense* in Central Brazil Cerrado vegetation. **Journal of Tropical Ecology**, v. 9, n. 2, p. 199-211, 1993.

HALLIWELL, B. Antioxidant characterization: methodology and mechanism. **Biochemical Pharmacology**, v. 49, p. 1341-1348, 1995.

HALLIWELL, B. The antioxidant paradox. **The Lancet**, v. 355, p. 1179-1180, 2000.

HERNÁNDEZ, Y.; LOBO, M. G.; GONZALÉZ, M. Determination of vitamin C in tropical fruits: a comparative evaluation of methods. **Food Chemistry**, v. 96, p. 654-664, 2006.

IBERN-GÓMES, M.; ANDRÉS-LACUEVA, C.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M.; WATERHOUSE, A. L. Rapid HPLC analysis of phenolic compounds in red wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 53. n. 3, p. 218-221, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Mapa de biomas do Brasil**. Rio de Janeiro, 2004. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=169>. Acesso em: 12 dez. 2012.

KATO, N.; ESAKA, M. Expansion of transgenic tobacco protoplasts expressing pumpkin ascorbate oxidase is more rapid than wild-type protoplasts. **Planta**, v. 210, p. 1018-1022, 2000.

KERR, W. E.; SILVA, F. R.; TCHCARRAMAE, B. Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). Informações preliminares sobre um pequi sem espinhos no caroço. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 1, p. 169-171, abr. 2007.

KERRY, N. L.; ABBEY, M. Red wine and fractionated phenolic compounds prepared from red wine inhibit low density lipoprotein oxidation *in vitro*. **Atherosclerosis**, v. 135, n. 1, p. 93-102, 1997.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, n. 2, p. 213-218, 1999.

KLIMCZAK, I.; MALECKA, M.; SZLACHTA, M.; GLISZCZYNSKA-SWIGLO. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 3/4, p. 313-322, 2007.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; MORALES, R. T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, jul./ago. 2006.

LEANDRO, J. J. **É tempo de pequi!** Araguaína, 2008. Disponível em: <www.overmundo.com.br/overblog/e-tempo-de-pequi>. Acesso em: 14 dez. 2012.

LEE, S. J.; UMANO, K.; SHIBAMOTO, T.; LEE, K. G. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 131-137, 2005.

LEE, S. K.; KADER, A. A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v. 20, p. 207-220, 2000.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.)**. 2008. 182 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

LIMA, A.; SILVA, A. M. O.; TRIDADE, R. A.; TORRES, R. P.; MANCINI FILHO, J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 695-698, dez. 2007.

LIMA, E. D. P. A.; PASTORE, G. M.; LIMA, C. A. A. Extração e atividade da enzima polifenolozidase em diferentes partes da pinha (*Annona squamosa* L.) nos estádios de maturação verde e madura. **Agropecuária Técnica**, v. 22, n. 1/2, p. 33-43, 2011.

LIMA, J. E. F. W.; SILVA, E. M. Contribuição hídrica do Cerrado para as grandes bacias hidrográficas brasileiras. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS HÍDRICOS DO CENTRO-OESTE, 2., 2002, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: ABRH-MS: UFMS, 2002. 1 CD-ROM.

LOPES, P. S.; PEREIRA, E. B. C.; PEREIRA, A. V.; MARTINS, E. R.; FERNANDES, R. C. Pequi. In: VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S.; SILVA, D. B.; SANO, S. M.; FERREIRA, F. R. **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2010, p. 277-312.

MACHADO, R. B.; RAMOS NETO, M. B.; PEREIRA, P. G. P.; CALDAS, E. F.; GONÇALVES, D. A.; SANTOS, N. S.; TABOR, K.; STEININGER, M. **Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro**. Brasília, DF: Conservação Internacional, 2004. Disponível em: <<http://www.conservation.org.br/arquivos/RelatDesmatamCerrado.pdf>>. Acesso em: 17 dez. 2012.

MAILLARD, M. N.; SOUM, M. H.; BOIVIA, P.; BERSET, C. Antioxidant activity of barley and malt: relationship with phenolic content. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 3, p. 238-244, 1996.

MALTA, L. G. **Avaliação biológica de frutas do Cerrado brasileiro: guapeva, gabiroba e murici**. 2011. 225 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; REMESY, C.; JIMENEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MARIANO-DA-SILVA, S.; BRAIT, J. D. A.; FARIA, F. P.; SILVA, S. M.; OLIVEIRA, S. L.; BRAGA, P. F.; MARIANO-DA-SILVA, F. M. S. Chemical characteristics of pequi fruits (*Caryocar brasiliense* Camb.) native of three municipalities in the State of Goiás – Brazil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 4, p. 771-777, out./dez. 2009.

MARINOVA, E. M.; YANISHILIEVA, N. V. Antioxidant activity and mechanisms of action of some phenolic acids at ambient and high temperatures. **Food Chemistry**, v. 81, n. 2, p. 189-197, 2003.

MARIOD, B. A.; IBRAHIM, R. M.; ISMAIL, M.; ISMAIL, N. Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigela sativa*) seedcake. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 306-312, 2009.

MATHEW, S.; ABRAHAM, E. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various *in vitro* models. **Food Chemistry**, v. 94, n. 4, p. 520-528, Mar. 2006.

MAYER, A. M. Polyphenol oxidases in plants-recent progress. **Phytochemistry**, v. 26, n. 1, p. 11-20, 1987.

MELO JUNIOR, A. F.; CARVALHO, D.; PÓVOA, J. S. R.; BEARZOLI, E. Estrutura genética de populações naturais de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb). **Scientia Forestalis**, v. 66, p. 56-65, 2004.

MENDONÇA, R. C.; FELFILI, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA, M. C.; REZENDE, A. R.; FILGUEIRAS, T. S.; NOGUEIRA, P. E. Flora vascular do Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA, 1998. p. 286-556.

MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C. A.; DAVIES, M. J.; GOPINATHAN, V.; MILNER, A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, v. 84, p. 407-412, 1993.

MONTEIRO, J. M. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAUJO, E. L.; AMORIM, E. L. C. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MOREIRA, A. V. B.; MANCINI FILHO, J. Atividade antioxidante das especiarias mostarda, canela e erva-doce em sistemas aquoso e lipídico. **Nutrire**, v. 25, p. 31-46, 2003.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger princípios de bioquímica**. 6. ed. São Paulo: Sarvier, 2006.

OLIVEIRA, M. E. B.; GUERRA, N. B.; BARROS, L. M.; ALVES, R. E. **Aspectos agrônômicos e de qualidade do pequi**. Fortaleza: EMBRAPA Agroindústria Tropical, 2008.

OLIVEIRA, M. E. B.; GUERRA, N. B.; MAIA, A. H. N.; ALVES, R. E.; MATOS, N. M. S.; SAMPAIO, F. G. M.; LOPES, M. M. T. Características químicas e físico-químicas de pequis da Chapada do Araripe, Ceará. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 1, p. 114-125, mar. 2010.

OLIVEIRA, M. N. S.; GUSMÃO, E.; LOPES, P. S. N.; SIMÕES, M. O. M.; RIBEIRO, L. M.; DIAS, B. A. S. Estádio de maturação dos frutos e fatores relacionados aos aspectos nutritivos e de textura da polpa de pequi. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p. 380-386, dez. 2006.

OSZMIANSKI, J.; WOJDYLO, A.; LAMER-ZARAWSKA, E.; SWIADER, K. Antioxidant tannins from *Rosaceae* plant roots. **Food Chemistry**, v. 100, p. 579-583, 2007.

PADH, H. Vitamin C: newer insights into its biochemical functions. **Nutrition Reviews**, v. 49, n. 3, p. 65-70, 1991.

PARTELLI, F. L.; TAKEUCHI, K. P.; NAVES, R. V.; CHAVES, L. J. Frutas do Cerrado: alternativa sustentável. **A Lavoura**, v. 1, n. 676, p. 12-15, fev. 2010.

PELEG, H.; BODINE, K. K.; NOBLE, A. C. Effect of acids on astringency: alum vs phenolic compounds. **Chemical Senses**, v. 23, p. 371-378, 1998.

PELLEGRINI, N.; COLOMBI, B.; SALVATORE, S.; BRENNNA, O. V.; GALAVERNA, G.; RIO, D. D.; BIANCHI, M.; BENNETTI, R.; BRIGHENTI, F. Evaluation of antioxidant capacity of some fruit and vegetable foods: efficiency of extraction of a sequence of solvents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, n.1, p. 103-111, Jan. 2007.

PEREZ, E. **Diagnose fitoquímica dos frutos de *Caryocar brasiliense* Camb. *Caryocaraceae***. 2004. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

PIETTA, G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1035-1042, 2000.

PIMENTEL, C. V. M. B.; FRANCKI, V. M.; GOLLÜCKE, A. P. B. **Alimentos funcionais**: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos. São Paulo: Varela, 2005.

PINTO, J. R. R.; LENZA, E.; PINTO, A. S. Composição florística e estrutura da vegetação arbustivo-arbórea em um cerrado rupestre, Cocalzinho de Goiás, Goiás. **Boletim dos Jardins Botânicos do Brasil**, v. 32, n. 1, p. 1-10, jan./mar. 2009.

PORTAL BRASIL. **Características do Cerrado**. 2012. Disponível em: <<http://www.portalbrasil.eti.br/cerrado>>. Acesso em: 12 dez. 2012.

PORTO, T. S. **Extração da ascorbato oxidase de *Cucurbita maxima* por processo descontínuo e contínuo em coluna de discos rotativos perfurados utilizando sistemas de duas fases aquosas**. 2008. 123 f. Tese (Doutorado em Tecnologia Químico-Farmacêutica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

- POZO, O. V. C. **O pequi (*Caryocar brasiliense*): uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do Cerrado no norte de Minas Gerais**. 1997. 100 f. Dissertação (Mestrado em Administração Rural) – Departamento de Administração e Economia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.
- PROENÇA, C.; OLIVEIRA, R. S.; SILVA, A. P. **Flores e frutos do Cerrado**. 2. ed. Brasília,DF: Rede de Sementes do Cerrado, 2006.
- PROTEIN DATA BANK. **Ascorbato oxidase**. 2012a. Disponível em: <<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>>. Acesso em: 17 dez. 2012.
- PROTEIN DATA BANK. **Polifenoloxidase**. 2012b. Disponível em: <<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>>. Acesso em: 17 dez. 2012.
- RAMOS, K. M. C. **Variabilidade genética e uso dos frutos de pequi (*Caryocar coriaceum* WITTM.) na região meio-norte do Brasil**. 2010. 102 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) – Núcleo de Referência em Ciências Ambientais do Trópico Ecotonal do Nordeste, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2010.
- RAMOS, M. I. L.; UMAKI, M. C. S.; HIANE, P. A.; RAMOS FILHO, M. M. Efeito do cozimento convencional sobre os carotenóides pró-vitamínicos 'A' da polpa do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos (CEPPA)**, v. 19, n. 1, p. 23-32, jan./jun. 2001.
- RATTER, J. A.; BRIDGEWATER, S.; RIBEIRO, F. Biodiversity patterns of the woody vegetation of the Brazilian Cerrado. In: PENNINGTON, R. T.; LEWIS, G. P.; RATTER, J. A. (Ed.). **Neotropical savannas and seasonally dry forests: plant diversity, biogeography and conservation**. London: Taylor e Francis, 2006. p. 31-66.
- REATTO, A.; CORREIA, J. R.; SPERA, S. T. Solos do bioma Cerrado: aspectos pedológicos. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Org.). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 47-86.
- RIBEIRO, A. E. O espaço, o homem e o seu destino no norte de Minas. In: UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS. Departamento de Administração e Economia. **Manejo sustentado do Cerrado para uso múltiplo: subprojeto agroecologia e desenvolvimento**. Lavras, 1996. p. 11-18.
- RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Org.). **Cerrado: ambiente e flora**. Brasília,DF: EMBRAPA, 1998. p. 89-166.
- RIBEIRO, R. F. A importância econômica do pequi. **Cerrado**, v. 11, n. 36, p. 24-26, 1979/1980.
- RIBEIRO, R. F. **Pequi: o rei do cerrado**. Belo Horizonte: Rede Cerrado, 2000.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannat* e *Ancelota*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** v. 28, p. 238-244, dez. 2008. Supl.

RODRIGUES, L. J. **O pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.):** ciclo vital e agregação de valor pelo processamento mínimo. 2005. 152 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

ROESLER, R. **Estudo de frutas do Cerrado brasileiro para avaliação de propriedade funcional como foco na atividade antioxidante.** 2007. 218 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

SALUNKHE, D. K.; JADHAV, S. J.; KADAM, S. S.; CHAVAN, J. K. Chemical, biochemical, and biological significance of polyphenols in cereals and legumes. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 17, n. 3, p. 277-305, 1982.

SANO, E. E.; ROSA, R.; BRITO, J. L. S.; FERREIRA, L. G. **Mapeamento da cobertura vegetal do bioma Cerrado:** estratégias e resultados. Planaltina: EMBRAPA Cerrados, 2007.

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. **Cerrado:** ambiente e flora. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998.

SANTAGOSTINI, L.; GULLOTTI, M.; GIOIA, L.; FANTUCCI, P.; FRANZINI, E.; MARCHESINI, A.; MONZANI, E.; CASELLA, L. Probing the location of the substrate binding site of ascorbate oxidase near type 1 copper: an investigation through spectroscopic, inhibition and docking studies. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 36, p. 881-892, 2004.

SANTOS, B. R.; PAIVA, R.; DOMBROSKI, J. L. D.; MARTINOTTO, C.; NOGUEIRA, R. C.; SILVA, A. A. N. Pequi (*Caryocar brasiliense* CAMB.): uma espécie promissora do Cerrado brasileiro. **Boletim Agropecuário**, v. 64, p. 5-33, 2006.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado do Meio Ambiente. **Cerrado:** bases para a conservação e uso sustentável das áreas de Cerrado do estado de São Paulo, 1997.

SCHENBERG, A. C. Biotecnologia e desenvolvimento sustentável. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 70, p. 7-17, 2010.

SEGAL, S. D.; ARTZ, W. E.; TAKAHASHI, J. A.; RASLAN, D. S.; FERRAZ, V. Triacylglycerol analysis of pequi (*Caryocar brasiliensis* Camb.) oil by electrospray and tandem mass spectrometry. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p. 445-452, 2006.

SERRADELL, M. A.; ROZENFELD, P. A.; MARTÍNEZ, G. A.; CIVELLO, P. M.; CHAVES, A. R.; AÑÓN, M. C. Polyphenoloxidase activity from strawberry fruit (*Fragaria x ananassa*, Duch., cv Selva): characterisation and partial purification. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1421-1427, 2000.

SETIADIA, D. H.; CHASS, G. A.; TORDAY, L. L.; VARRO, A.; PAPP, J. G. Vitamin E models. shortened side chain models of a, b, g and d tocopherol and tocotrienol: a density functional study. **Journal of Molecular Structure**, v. 637, n. 1/3, p. 11-26, 2003.

SHAHIDI, F. Natural antioxidants: an overview. In: _____. **Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications**. Newfoundland: AOCS Press, 1996. Chap. 1, p. 1-11.

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

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

SHLEEV, S.; TKAC, J.; CHRISTENSON, A.; RUZGAS, T.; YAROLOPOV, A. I.; WHITTAKER, J. W.; GORTON, L. Direct electron transfer between copper-containing proteins and electrodes. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 20, n. 12, p. 2517-2554, June 2005.

SILVA, D. B.; SILVA, J. A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. **Frutas do Cerrado**. Brasília,DF: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2001.

SILVA, M. R.; LACERDA, D. B. C. L.; SANTOS, G. G.; MARTINS, D. M. O. Caracterização química de frutos nativos do Cerrado. **Ciência Rural**, v. 38, n. 6, p. 1790-1793, set. 2008.

SILVA, S. L. A.; FERREIRA, G. A. L.; SILVA, R. R. À procura da vitamina C. **Química Nova na Escola**, n. 2, p. 31-32, nov. 1995.

SILVA JÚNIOR, M. C. **100 árvores do Cerrado: guia de campo**. Brasília,DF: Rede de Sementes do Cerrado, 2005.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p.152-178, 1999.

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

SOARES, A. G.; FREIRE JÚNIOR, M.; SIQUEIRA, R. S. **Curso de higiene e sanificação na indústria de alimentos**. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 1995.

SOARES, J. R.; DINIS, T. C.; CUNHA, A. P.; ALMEIDA, L. M. Antioxidant activities of some extracts of *Thymus zygis*. **Free Radical Research**, v. 26, p. 469-478, 1997.

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

SOUZA, E. R. B. Caracterização física de frutos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) no estado de Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 30, n. 2, p. 71-79, 2005.

SOUZA JÚNIOR, J. R. **Conhecimento e manejo tradicional de *Caryocar coriaceum* Wittm. (Pequi) na Chapada do Araripe, nordeste do Brasil**. 2012. 95 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

TAVARES, J. T. Q.; SILVA, C. L.; CARVALHO, L. A.; SILVA, M. A.; SANTOS, C. M. G. Estabilidade do ácido ascórbico em suco de laranja submetido a diferentes tratamentos. **Magistra**, v. 12, n. 1/2, p. 11-18, jan./dez. 2000.

TORALLES, R. P.; VENDRUSCOLO, J. L.; VENDRUSCOLO, C. T.; DEL PINO, F. A. B.; ANTUNES, P. L. Determinação das constantes cinéticas de degradação do ácido ascórbico em purê de pêssegos: efeito da temperatura e concentração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 18-23, jan./mar. 2008.

VANNUCCHI, H. A.; JORDÃO JÚNIOR, A. F. Vitaminas hidrossolúveis. In: DUTRA DE OLIVEIRA, J. E.; MARCHINI, J. S. **Ciências nutricionais**. São Paulo: Sarvier, 1998. p. 191-208.

VELLOSA, J. C. R.; BARBOSA, V. F.; KHALIL, N. M.; SANTOS, V. A. F. F. M.; FURLAN, M.; BRUNETTI, I. L.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Profile of *Maytenus aquifolium* action over free radicals and reactive oxygen species. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 3, p. 447-453, jul./set. 2007.

VERA, R. **Caracterização física e química de frutos do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) de diferentes regiões do estado de Goiás**. 2004. 50 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2004.

VERA, R.; SOUZA, E. R. B.; FERNANDES, E. P.; NAVES, R. V.; SOARES JÚNIOR, M. S.; CALIARI, M.; XIMENES, P. A. Caracterização física e química de frutos do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) oriundos de duas regiões no estado de Goiás, Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, n. 2, p. 93-99, jun. 2007.

VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S.; SILVA, D. B.; SANO, S. M.; FERREIRA, F. R. **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília, DF: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2010.

VILAS BOAS, E. V. B. Frutos minimamente processados: pequi. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 3., 2004, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Lavras, 2004. n. 3, p.122-127.

VILAS BOAS, E. V. B. **Caracterização de e agregação de valores a frutos do Cerrado:** pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), marolo (*Annona crassiflora* Mart.), gariroba (*Campomanesia xanthocarpa*) e pitaia (“saborosa” – *Selenicereus setaceus* Rizz.). 2009. 39 f. Projeto de Pesquisa e Plano de Trabalho (Programa Pesquisador Mineiro (PPM)) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

VILELA, G. F. **Variações em populações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae):** fenológicas, genéticas e de valores nutricionais de frutos. 1998. 88 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Departamento de Ciências Florestais, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1998.

WANG, H.; GAO, X. D.; ZHOU, G. C.; YAO, W. B. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axilaris* fruit. **Food Chemistry**, v. 106, p. 888-895, 2008.

WANG, S. Y.; LIN, H. S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivar and developmental stage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 140-146, 2000.

WELCH, R. W.; WANG, Y.; CROSSMAN, A. Jr.; PARK, J. B.; KIRK, K. L.; LEVINE, M. Accumulation of vitamin C (ascorbate) and its oxidized metabolite dehydroascorbic acid occurs by separate mechanisms. **Journal of Biological Chemistry**, v. 270, n. 21, p. 12584-12592, 1995.

WHITAKER, J. R. Pectic substances, pectic enzymes and haze formation in fruit juices. **Enzyme Microbiology and Technology**, v. 6, p. 341-349, 1984.

ZANATTA, C. L.; ZOTARELLI, M. F.; CLEMENTE, E. Peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) em polpa de goiaba (*Psidium guajava* R.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 705-708, jul./set. 2006.

ZGLICZYNSKI, T. J. M.; STELMASZYNSKA, T.; DOMANSKA, J.; OSTROWISKI, W. Chloramines as intermediates of oxidation reaction of amino acids by myeloperoxidase. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 235, p. 419-24, 1971.

ZHANG, D.; HAMAUZU, Y. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. **Food Chemistry**, v. 88, n. 9, p. 503-509, 2004.