

FERNANDA RIBEIRO ROSA

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS DO CERRADO E  
IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS EM *Bactris setosa* Mart., *Palmae*  
(TUCUM-DO-CERRADO)**

BRASÍLIA-DF

DEZEMBRO/2013

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO HUMANA

FERNANDA RIBEIRO ROSA

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS DO CERRADO E  
IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS EM *Bactris setosa* Mart., *Palmae*  
(TUCUM-DO-CERRADO)**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Nutrição Humana pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Sandra Fernandes Arruda

BRASÍLIA-DF

DEZEMBRO/2013

FERNANDA RIBEIRO ROSA

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS DO CERRADO E IDENTIFICAÇÃO  
DE COMPOSTOS EM *Bactris setosa* Mart., *Palmae* (TUCUM-DO-CERRADO)**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Nutrição Humana pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.

Aprovado em 17 de dezembro de 2013.

BANCA EXAMINADORA

**Professora Doutora Sandra Fernandes Arruda**

Universidade de Brasília – FS / Departamento de Nutrição(UnB)  
Presidente

**Professora Doutora Leonora Mansur Mattos**

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa)  
Examinadora

**Professora Doutora Laila Salmen Espíndola Darvenne**

Universidade de Brasília – Faculdade de Saúde (UnB)  
Examinadora

**Professora Doutora Élide Geralda Campos**

Universidade de Brasília – Instituto de Biologia (UnB)  
Examinadora

**Professora Doutora Egle Machado Almeida Siqueira**

Universidade de Brasília – Instituto de Biologia (UnB)  
Examinadora

**Professora Doutora Marina Kiyomi Ito**

Universidade de Brasília – FS / Departamento de Nutrição (UnB)  
Suplente

*Dedico este trabalho a minha mãe, Lady, e ao meu pai, Tarcízio, pelo apoio, ensinamentos e amor incondicional.*

*Aos meus irmãos, Fabiana e Leonardo, pela amizade e amor que nos une.*

*Ao meu noivo, Anderson, pelo carinho, encorajamento e compreensão.*

*E a todos os meus amigos, familiares que acreditaram e torceram por essa conquista e compreenderam a minha ausência.*

*“Dizem que o tempo muda as coisas,  
mas é você quem tem de mudá-las”*

Andy Warhol

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me colocar nas mãos de pessoas tão especiais que me apoiam, me amam, que se orgulham das minhas decisões, reconhecem o meu esforço, e são meus exemplos de amor e educação: os meus pais. Não tenho palavras para agradecer tudo que fazem por nós.

Agradeço aos meus irmãos, Leonardo e Fabiana, que compreenderam minha ausência e impaciência, e muitas vezes me tranquilizaram. E ao Anderson, pelo amor, carinho e apoio, por ser meu porto seguro em momentos de aflição.

Agradeço à minha orientadora, a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Sandra, pela dedicação e paciência, pelos ensinamentos e apoio ao longo dessa trajetória. Por todo o tempo que se dedicou ao meu trabalho, a minha pesquisa. A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Egle, pela sabedoria, ensinamentos, e pelo grande exemplo de amor a pesquisa e ao conhecimento. Agradeço a vocês por terem me acolhido no laboratório e acreditado em mim.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Andréa Arruda, pela grande ajuda nas análises de identificação.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Élide Campos, pelos ensinamentos para a elaboração do artigo e por aceitar contribuir com esse trabalho como membro da banca.

Às Professoras presentes na banca, Dr<sup>a</sup> Leonora, Dr<sup>a</sup> Laila e Dr<sup>a</sup> Marina, por aceitarem o convite e, assim contribuírem com meu trabalho.

Agradeço a equipe do laboratório: com quem dividi sonhos, conversas, angústias e bons momentos: Azadeh, Ju, Marcela, Nath, Lorena, Ana, João, Lívia, e em especial a Adriana, com quem dividi o projeto.

Agradeço ao Chiquinho, pelo carinho, cafezinho, frutas, preocupações e tantos “socorros” para resolver alguns imprevistos. Ao Leandro, técnico do laboratório, pela ajuda nas análises de carotenóides totais.

Agradeço ainda aos meus amigos, que me apoiaram e entenderam a minha ausência, e que mesmo assim não se afastaram, em especial a Renata e Patrícia, pelas incansáveis ligações e mensagens, muitas vezes sem respostas, mas que nunca desistiram de mim, e sempre me procuravam.

Agradeço aos meus familiares, avós, tios e primos, que sempre torceram e acreditaram em mim, em especial a minha prima Andréa, que me ajudou a coletar alguns frutos.

Agradeço a Vanilda e ao Júlio, que sempre torceram por mim e pelo meu sucesso, e transmitiram muita força, empolgação e carinho.

Agradeço a um grande pesquisador popular sobre plantas e ervas medicinais, que com mesmo sem conhecimento científico conhecia as riquezas do Cerrado, e buscava nele a prevenção e tratamento de algumas doenças, e que deixou muita saudade, e acima de tudo boas lembranças. Ele com certeza teria muito orgulho desse trabalho: Tio Antônio. E também aos meus familiares que estão junto dele: Vovó Iraci, Vovó Maria, Vovô João e Tia Rita.

Agradeço ainda ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade de Brasília, a CAPES e FAP/DF por terem tornado esse sonho possível.

Enfim, agradeço a todos os professores, alunos e funcionários da UnB que contribuíram com o meu trabalho e me ajudaram de alguma forma.

Minha eterna gratidão a todos vocês!

## RESUMO

**Objetivo:** O presente estudo avaliou o teor de compostos bioativos e a capacidade antioxidante de 12 frutos do Cerrado em relação a maçã *Red Delicious*, e identificou e quantificou alguns compostos fenólicos presentes fruto que apresentou maior teor de bioativos e capacidade antioxidante. **Materiais e Métodos:** A atividade antioxidante (AA) dos extratos aquoso (EAq) e acetato de etila (EAE) dos frutos do Cerrado: araticum (*Annona crassiflora* Mart.); baru (*Dipteryx alata*); cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.), cajuzinho (*Anacardium humile* St. Hil.), guariroba (*Syagrus oleracea*), ingá (*Inga laurina* Willd.), jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.), jenipapo (*Genipa americana* L.), jurubeba (*Solanum paniculatum* L.), lobeira (*Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.), mangaba (*Hancornia speciosa*), tucum-do-Cerrado (*Bactris setosa* Mart), foi determinada pelos ensaios da capacidade redutora de ferro (FRAP) e sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico, e o teor de antocianinas totais (AT), flavonóides amarelos (FA), flavanóis, carotenóides totais e ácido ascórbico (AAsc) foram determinados por ensaios espectrofotométricos. Nas partes do fruto selecionado (casca e polpa) também foram utilizadas essas metodologias, e ainda o teor de fenólicos totais (FT). A identificação e quantificação dos compostos fenólicos foram realizadas em sistema HPLC-DAD, no extrato aquoso (EAq) e suas frações: acetato de etila e metanol/água, e nos extratos etanólico (EE) e metanólico (EM) acidificados. **Resultados:** O araticum e o tucum apresentaram teor de flavanóis totais 15 a 19 vezes superior ao da maçã. Em relação ao conteúdo de AT, o tucum apresentou concentração 35 vezes maior que o valor obtido para a maçã, e um alto teor de AT também foi encontrado no cajuzinho, jurubeba e jatobá. Em relação a AA, o EAE do tucum apresentou o maior valor de FRAP, 6 vezes maior que o valor obtido para o EAE da maçã, enquanto os valores de FRAP dos EAE do araticum, cagaita, cajuzinho e lobeira foram 2 vezes superiores ao EAE da maçã. Os EAq do tucum e do araticum obtiveram os maiores valores de FRAP, seguidos da cagaita, cajuzinho, jurubeba e mangaba. No ensaio de oxidação  $\beta$ -caroteno, o EAq do tucum apresentou a segunda maior AA, 6 vezes maior que o da maçã, seguido dos EAq do araticum, cagaita, amêndoa do baru, mangaba e jurubeba. Apenas o tucum e mangaba tiveram valores superiores a maçã pelo sistema  $\beta$ -caroteno no EAE. Em relação ao estudo envolvendo a casca e a polpa do tucum, foi obtido um alto teor de FT, flavonóis, AT e FA na casca do fruto (112, 14, 264 e 64 vezes maior na casca comparados a polpa, respectivamente). Os EAq, EM e EE da casca do tucum apresentaram maior AA comparados aos da polpa. Entre os flavonóides identificados nos extratos da casca do tucum estão: flavanol (catequina); flavonóis (quercetina e rutina); ácidos fenólicos (gálico, ferúlico e caféico), e antocianinas (cianidina). **Conclusão:** Os resultados sugerem que os fenólicos representam os principais compostos bioativos dos frutos do Cerrado, e que particularmente os frutos araticum, cagaita, lobeira, tucum, cajuzinho, jurubeba e mangaba possuem alto teor de bioativos e alta capacidade antioxidante. A capacidade antioxidante e o conteúdo de compostos bioativos do tucum-do-Cerrado estão associados principalmente a sua casca, sendo a catequina, antocianinas, ácido gálico e a rutina os principais compostos fenólicos identificados. **Palavras-chave:** *Bactris setosa*, compostos fenólicos, frutos do Cerrado, tucum-do-Cerrado, atividade antioxidante.



## ABSTRACT

**Objective:** This study evaluated the bioactive compounds content and the antioxidant activity of 12 fruits of the Cerrado in comparison to the *Red Delicious* apple. Additionally, and phenolic compounds were identified in fruit that exhibited a high content of bioactive compounds and antioxidant activity. **Materials and Methods:** The antioxidant activity (AA) of aqueous (AqE) and ethyl acetate (EAE) extracts of Cerrado fruits: araticum (*Annona crassiflora* Mart.); baru (*Dipteryx alata*); cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.), cajuzinho (*Anacardium humile* St. Hil.), guariroba (*Syagrus oleracea*), ingá (*Inga laurina* Willd.), jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.), jenipapo (*Genipa americana* L.), jurubeba (*Solanum paniculatum* L.), lobeira (*Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.), mangaba (*Hancornia speciosa*), tucum-do-Cerrado (*Bactris setosa* Mart), was determined by FRAP assay and  $\beta$ -carotene/linoleic system, and total anthocyanins (TA), yellow flavonoids (YF), flavanols, total carotenoids and ascorbic acid (Aasc) were determined using spectrophotometric assays. In parts of the fruit (peel and pulp) selected also were used these methods, and yet the total phenolic (PT). The identification and quantification of the phenolic compounds were made in HPLC-DAD system, the aqueous extract (AqE) and its fractions of methanol and ethyl acetate / water, and ethanol extracts (EE) and methanol (EM) acidified. **Results:** Araticum and tucum had levels of flavanols 15 to 19- fold greater than the Red Delicious apple. Regarding to the TA content, tucum showed content 35-fold greater than the value found in the apple, and high TA content was also found in cajuzinho, jurubeba and jatobá. With respect to the AA, the EAE extract of tucum-do-Cerrado exhibited the highest FRAP value, 6-fold higher than the values found in the EAE apple extract, and the FRAP values of the EAE of araticum, cagaita, cajuzinho and lobeira were 2- fold higher than that of the apple EAE. The AqE of tucum and araticum showed the highest FRAP values, followed by cagaita, cajuzinho, jurubeba e mangaba. In the  $\beta$ -carotene oxidation assay, the AqE of tucum had the second highest value of AA, 6- fold higher than the apple AqE, and was followed by the AqE of araticum, cagaita, baru, mangaba and jurubeba. Only the EAE extracts of tucum and mangaba had AA values higher than the apple EAE. With respect to the study involving the peel and pulp of tucum, the TP, flavanols, TA and YF compounds concentration were 122-, 14-, 264-, and 61- fold higher in peel than in the pulp, respectively. The EAq, ME and EE extracts of the tucum-do-Cerrado peel exhibited higher antioxidant activity by the FRAP assay when compared to its pulp. Among the flavonoids identified in the tucum-do-Cerrado peel extracts are the flavanol - catechin; flavonols - quercetin and rutin; phenolic acids - gallic, ferulic and caffeic acids; and some anthocyanins. **Conclusion:** The results suggest that phenolics are the main bioactive compounds in these Cerrado fruits, and that araticum, cagaita, lobeira, tucum, cajuzinho, jurubeba and mangaba had high bioactive compounds content and AA. Tucum-do-Cerrado fruit antioxidant capacity and bioactive compounds are mainly associated to compounds in the peel, and catechin, anthocyanin, gallic acid and rutin are the main phenolic compounds identified in tucum-do-Cerrado peels. **Keywords:** *Bactris setosa*, phenolic compounds, Brazilian Savana fruits, tucum-do-Cerrado.

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 01 Araticum ( <i>Annona crassiflora</i> Mart.) .....	20
Figura 02 Baru ( <i>Dipteryx alata</i> Vog) .....	22
Figura 03 Cagaita ( <i>Eugenia dysenterica</i> DC.) .....	24
Figura 04 Cajuzinho-do-Cerrado ( <i>Anacardium humile</i> ) .....	26
Figura 05 Guariroba ( <i>Syagrus oleracea</i> Becc.) .....	28
Figura 06 Ingá ( <i>Inga laurina</i> ) .....	29
Figura 07 Jatobá-do-Cerrado ( <i>Hymenaea stigonocarpa</i> Mart.) .....	31
Figura 08 Jenipapo ( <i>Genipa Americana</i> L.) .....	33
Figura 09 Jurubeba ( <i>Solanum paniculatum</i> L.) .....	35
Figura 10 Lobeira ( <i>Solanum lycocarpum</i> St. Hil.) .....	37
Figura 11 Mangaba ( <i>Hancornia speciosa</i> ) .....	40
Figura 12 Tucum-do-Cerrado ( <i>Bactris setosa</i> ) .....	42
Figura 13 Fórmula estrutural plana do $\beta$ -caroteno .....	46
Figura 14 Oxidação do ácido ascórbico formando radical ascorbila (Asc) e o ácido desidroascórbico (DHA) .....	48
Figura 15 Esquema de classificação dos compostos bioativos .....	51
Figura 16 Estrutura básica dos flavonóides .....	54
Figura 17 Estrutura básica de uma flavanona .....	54
Figura 18 Estrutura básica das isoflavonas .....	55
Figura 19 Estrutura química dos flavanóis .....	56
Figura 20 Estrutura química da apigenina e luteolina .....	57
Figura 21 Representação química dos flavonóis: kampferol; quercetina; miricetina .....	58
Figura 22 Representação química das antocianidinas: cianidina; delphinidina; peonidina; malvidina .....	60
Figura 23 Estrutura química dos ácidos fenólicos: (A) ácidos hidroxibenzóico; (B) ácidos cinâmicos .....	63
Figura 24 Estrutura química de taninos condensados .....	64
Figura 25 Estrutura química dos taninos hidrolisáveis .....	65
Figura 26 Estrutura do resveratrol .....	66
Figura 27 Formação de espécies reativas na cadeia transportadora de elétrons: a adição de 1 elétron ao O <sub>2</sub> origina o íon superóxido que, ao reagir com outro elétron e sofrer protonação, gera o peróxido de hidrogênio e o radical hidroxil .....	76
Figura 28 Frutos tropicais brasileiros com características físicas similares ao tucum-do-Cerrado.....	107
Figura 29 Perfil cromatográfico e relação dos compostos identificados e quantificados no extrato aquoso liofilizado (EAq); fração aquosa de acetato de etila; fração aquosa metanol:água (1:3) da casca de tucum-do-Cerrado .....	115
Figura 30 Perfil cromatográfico e relação dos compostos identificados e quantificados no extrato metanólico da casca do tucum.....	117
Figura 31 Perfil cromatográfico e relação dos compostos identificados e quantificados no extrato etanólico da casca de tucum .....	118
Figura 32 Espectro de absorção UV-Vis dos padrões fenólicos catequina, cianidina, rutina e resveratrol e do extrato de tucum-do-Cerrado .....	119

## LISTA DE TABELAS

	Página	
Tabela 01	Resumo dos frutos do Cerrado e sua aplicação tradicional ou científica.....	18
Tabela 02	Compostos bioativos (mg/100 g matéria fresca) de maçã e de doze frutos nativos do Cerrado Brasileiro.....	100
Tabela 03	Capacidade total de redução de ferro (FRAP) e % de inibição da oxidação do $\beta$ -caroteno/ácido linoléico.....	102
Tabela 04	Teor de umidade (%) e compostos bioativos (mg/100g) da casca, polpa ou fruto inteiro do tucum-do-Cerrado expressos em fruto fresco.....	108
Tabela 05	Atividade antioxidante dos diferentes extratos e frações da casca e polpa do tucum-do-Cerrado.....	112

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Atividade antioxidante
AAsc	Ácido ascórbico
AT	Antocianinas totais
ATP	Adenosina trifosfato
BHA	Butilato hidroxianisol
CAT	Catalase
DAD	Detector fotodiodo
DC	Doenças crônicas
DCFI	2,6-dicloroindofenol
DMACA	p-dimethylaminocinnamaldeído
DNA	Ácido 2'-desoxirribonucléico
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EAE	Extrato de acetato de etila
EAG	Equivalente de ácido gálico
Eaq	Extrato aquoso
EAT	Equivalente de ácido tânico
ECT	Equivalente de catequina
EE	Extrato etanólico acidificado
EM	Extrato metanólico acidificado
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FA	Flavonóides amarelos
F-AE	Fração aquosa acetato de etila
FAL	Fazenda Água Limpa
F-Hex	Fração aquosa hexano
F-MAq	Fração aquosa solução de metanol/água (1:3)
FRAP	Capacidade total de redução de ferro
FT	Fenólicos totais
GPX	Glutathione peroxidase
GR	Glutathione-reductase
GST	Glutathione transferase
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
HPV	Vírus de papiloma humano
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente
LDL	<i>Low-density lipoprotein</i>
MMA	Ministério do Meio Ambiente
POX	Enzimas peroxidase
PPO	Polifenol-oxidase
RL	Radicais livres
RNA	Ácido ribonucléico
RO <sub>2</sub> •	Radical peroxil
SOD	Superóxido dismutase
TPTZ	2,4,6-tripiridil-s-triazina

## SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO .....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	16
2.1 FRUTOS DO CERRADO .....	16
2.1.1 Araticum ( <i>Annona crassiflora</i> Mart.) .....	20
2.1.2 Baru ( <i>Dipteryx alata</i> Vog) .....	22
2.1.3 Cagaita ( <i>Eugenia dysenterica</i> DC.) .....	20
2.1.4 Cajuzinho-do-Cerrado ( <i>Anacardium humile</i> ) .....	26
2.1.5 Guariroba ( <i>Syagrus oleracea</i> Becc.) .....	27
2.1.6 Ingá ( <i>Inga laurina</i> ) .....	29
2.1.7 Jatobá-do-Cerrado ( <i>Hymenaea stigonocarpa</i> Mart.) .....	30
2.1.8 Jenipapo ( <i>Genipa Americana</i> L.) .....	33
2.1.9 Jurubeba ( <i>Solanum paniculatum</i> L) .....	35
2.1.10 Lobeira ( <i>Solanum lycocarpum</i> St. Hil.) .....	37
2.1.11 Mangaba ( <i>Hancornia speciosa</i> ) .....	39
2.1.12 Tucum-do-Cerrado ( <i>Bactris setosa</i> ) .....	42
2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS .....	44
2.2.1 Carotenóides .....	45
2.2.2 - Vitamina C (Ácido Ascórbico) .....	47
2.2.3 Compostos Fenólicos .....	49
2.2.3.1 Flavonóides .....	53
2.2.3.1.1 Flavononas .....	54
2.2.3.1.2 Isoflavonas .....	55
2.2.3.1.3 Flavanóis .....	56
2.2.3.1.4 Flavonas .....	57
2.2.3.1.5 Flavonóis .....	58
2.2.3.1.6 Antocianidinas e antocianinas .....	59
2.2.3.2 Ácidos fenólicos .....	62
2.2.3.3 Taninos .....	63
2.2.3.4 Estilbenos e lignanas .....	66
2.3 METABOLIZAÇÃO E BIODISPONIBILIDADE DOS COMPOSTOS BIOATIVOS .....	67
2.4 AGENTES ANTIOXIDANTES NA PREVENÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO .....	70
2.5 RADICAIS LIVRES E ESTRESSE OXIDATIVO .....	75
2.6 ESTRESSE OXIDATIVO E DOENÇAS CRÔNICAS .....	77
3 OBJETIVO.....	80
4 MATERIAIS E MÉTODOS .....	81
4.1 MATERIAIS .....	81
4.2 PRIMEIRA PARTE: DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE 12 FRUTOS DO CERRADO .....	82
4.2.1 Coleta das Amostras .....	82
4.2.2 Determinação da Umidade .....	82
4.2.3 Preparação da Amostra .....	83
4.2.4 Atividade Antioxidante .....	84
4.2.4.1 Capacidade total de redução de ferro ( <i>Ferric reducing antioxidant power</i> - FRAP) .....	84

4.2.4.2 Sistema $\beta$ -caroteno/ácido linoléico .....	84
4.2.5 Determinação de Compostos Bioativos .....	85
4.2.5.1 Flavanóis totais .....	85
4.2.5.2 Antocianinas e Flavonóides amarelos .....	86
4.2.5.3 Ácido ascórbico .....	86
4.2.5.4 Carotenóides totais .....	87
4.3 SEGUNDA PARTE: IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ALGUNS COMPOSTOS FENÓLICOS DO TUCUM-DO- CERRADO .....	88
4.3.1 Coleta das Amostras .....	88
4.3.2 Determinação da Umidade .....	89
4.3.3 Preparação das Amostras do Tucum-do-Cerrado .....	89
4.3.4 Atividade Antioxidante do Tucum-do-Cerrado .....	90
4.3.5 Determinação de Compostos Bioativos .....	91
4.3.5.1 Fenólicos Totais .....	91
4.3.5.2 Flavanóis totais, Antocianinas, Flavonóides amarelos, Ácido ascórbico e Carotenóides totais .....	91
4.3.6 Identificação dos Compostos Bioativos do Tucum-do- Cerrado por HPLC-DAD .....	92
4.3.7 Determinação do limite de detecção e do limite de quantificação .....	93
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	94
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	95
5.1 PRIMEIRA PARTE: DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E DO PÔTENCIAL ANTIOXIDANTE DE 12 FRUTOS DO CERRADO .....	96
5.1.1 Determinação dos compostos bioativos dos frutos do Cerrado .....	97
5.1.2 Determinação da atividade antioxidante dos frutos do Cerrado .....	101
5.3 SEGUNDA PARTE: IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DO TUCUM-DO-CERRADO .....	106
5.2.1 Determinação dos compostos bioativos do tucum-do- Cerrado .....	106
5.2.2 Determinação da atividade antioxidante do tucum-do- Cerrado .....	111
5.2.3 Identificação dos Compostos fenólicos do Tucum-do- Cerrado por HPLC-DAD .....	114
6 CONCLUSÃO .....	123
REFERÊNCIAS .....	124
APÊNDICE I - Artigo a ser submetido a periódico indexado .....	145
APÊNDICE II - Artigo publicado.....	172

## 1 INTRODUÇÃO

Estudos epidemiológicos, clínicos e experimentais têm demonstrado uma associação negativa entre o consumo de frutas/hortaliças e a incidência de doenças cardiovasculares, câncer, hipertensão arterial, síndrome metabólica, doenças degenerativas, e outras. Os efeitos benéficos desses alimentos tem sido atribuídos à presença de nutrientes como as vitaminas A, C e E (Dragsted, 2008; Englberger *et al.*, 2009), e principalmente ao conteúdo de fenólicos encontrados nos vegetais (Flores *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2013). Muitos desses compostos atuam como sequestradores de radicais livres enquanto outros agem como quelantes de metais catalisadores de reações de geração de espécies reativas de oxigênio (Halliwell e Gutteridge, 2007; Floegel *et al.*, 2011), sendo portanto capazes de retardarem ou inibirem a velocidade de oxidação das biomoléculas e, conseqüentemente, os danos oxidativos no organismo (Halliwell e Gutteridge, 2007).

Alguns estudos já identificaram em frutos convencionalmente produzidos e consumidos em regiões de clima temperado e solo fértil, tais como maçãs e uvas, uma alta capacidade antioxidante (Floegel *et al.*, 2011; Bao *et al.*, 2013). Entretanto, poucos estudos avaliaram a capacidade antioxidante de frutos cultivados em um clima árido e solo ácido, como do Cerrado Brasileiro, que abriga uma grande diversidade de espécies vegetativas.

O Cerrado Brasileiro ocupa cerca de 21% do território nacional, é uma região com grande diversidade de plantas, e um número estimado de 11.046 espécies catalogadas, das quais aproximadamente 40% são endêmicas (Myers *et al.*, 2000). As plantas do Cerrado crescem em condições ambientais adversas, com longos períodos de seca, e outro de chuvas intensas, solos pobres, incêndios periódicos e radiação UV intensa. Esses fatores parecem ter contribuído para o desenvolvimento de mecanismos de defesa contra agentes físicos, químicos e biológicos durante o processo evolutivo, e parecem estar associados a maior produção de compostos bioativos por essas plantas (Batle-Bayer, Batjes e Bindraban, 2010). Embora ocorram em pequenas quantidades nas plantas, os compostos fenólicos podem exercer efeitos benéficos no organismo humano, com atividades antiinflamatória, anti-hipertensiva, antimicrobiana e antimutagênica, conseqüentemente, pode reduzir

o risco de doenças (Kaur *et al.*, 2006; Batle-Bayer, Batjes e Bindraban, 2010; Liu e Xu, 2011). Dessa forma, sugere-se que os frutos do Cerrado apresentam grande quantidade e diversidade de compostos, e que a caracterização do potencial antioxidante assim como a identificação do(s) composto(s) antioxidante (s) dos frutos do Cerrado devem ser incentivados, uma vez que podem representar fontes de nutrientes através da alimentação, além de proporcionar o desenvolvimento de novos medicamentos pela indústria farmacêutica. E ainda adicionar valor econômico a esse bioma, promovendo o desenvolvimento sustentável da região do Cerrado Brasileiro.

O presente estudo teve por objetivo avaliar o teor de compostos bioativos e a capacidade antioxidante de extratos aquosos e de acetato de etila de doze frutos do Cerrado em comparação com a maçã *Red Delicious*, e identificar e quantificar compostos fenólicos presentes no fruto do Cerrado com maior teor de compostos bioativos e capacidade antioxidante



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 FRUTOS DO CERRADO

O Brasil possui seis grandes biomas, representados pela Floresta Amazônica, Mata Atlântica, Caatinga, Pantanal, Pampas e o Cerrado, com isso há uma grande diversidade da fauna e flora nacional (Rada, 2013). Estes biomas apresentam espécies nativas com características organolépticas peculiares e valores nutricionais significativos, e muitos são utilizadas na prevenção e tratamento de doenças, fazendo parte da medicina alternativa regional (De Mesquita *et al.*, 2009). Cada vez mais as características funcionais destes vegetais tem despertado interesse da ciência, e nos últimos anos houve uma crescente investigação da flora nacional (Ferreira *et al.*, 2013; Videla *et al.*, 2013). É importante ressaltar que muitos estudos ainda precisam ser realizados, a fim de valorizar os biomas nacionais e estimular o consumo de produtos regionais, além disso, é necessário evitar a extinção de algumas espécies nativas, ameaçadas pela grande expansão da agricultura, pecuária e indústria imobiliária na região (Ferreira *et al.*, 2013).

Dentre os diversos biomas nacionais destaca-se o Cerrado brasileiro, que é designado como o conjunto de ecossistemas (savanas, matas, campos e matas de galeria) que ocorrem no Brasil Central. É o segundo maior bioma do país, ocupa 21% do território nacional, cerca de 1.600.00 km<sup>2</sup>, superado em área apenas pela Amazônia (Myers *et al.*, 2000). O número de plantas herbáceas, arbustivas, arbóreas e cipós somam mais de 11.000 espécies, nesse sentido, o Cerrado tem sido considerado a mais diversificada savana tropical do mundo. Existe uma grande diversidade de *habitats* e alternância de espécies (Oliveira, 2009), o que torna o Cerrado um bioma interessante para a pesquisa. Em função da baixa valorização econômica desses recursos naturais, o Cerrado vem sendo rapidamente devastado para criação de áreas de pastagens ou plantio de oleaginosas, como a soja (De Mesquita *et al.*, 2009).

O Cerrado é uma região que enfrenta estação climática com grande período de seca, permanece de dois a seis meses sem chuvas, seguido de período com

intensa pluviosidade, a qual favorece a abundância e diversidade de plantas. Sabe-se que na natureza as espécies passam pela seleção natural, e sofrem adaptações para resistirem ao ambiente. Devido a tais adversidades climáticas do Cerrado, a flora nativa desenvolveu adaptações biológicas para resistir ao sol intenso, as queimadas, e demais agressões externas, e assim proteger a planta contra estas condições de estresse, evitando que essas condições destruíssem as espécies (Clerici e Carvalho-Silva, 2011). Dessa forma, sugere-se que os frutos do Cerrado podem apresentar grande quantidade e diversidade de compostos bioativos, e que estes também podem ser benéficos para a saúde do indivíduo, representando uma potencial fonte de alimentos com propriedades funcionais a ser incorporada na alimentação da população, ou ainda, serem utilizados na indústria farmacêutica e de cosméticos (Tabela 01).

Os frutos das espécies nativas do Cerrado possuem atrativos sensoriais como cor, sabor e aroma muito peculiares e intensos, e são consumidos pela população local de forma *in natura* ou processados (Mendonça *et al.*, 1998). Observa-se também o uso de extratos de plantas nativas no tratamento ou prevenção de algumas enfermidades (Clerici e Carvalho-Silva, 2011). Esses frutos podem apresentar um significativo potencial nutricional e de compostos bioativos com propriedades promotoras de saúde, que auxiliam na atividade antioxidante, sendo utilizados na medicina popular como antiinflamatórios, antibióticos, hipocolesterolêmicos (De Mesquita *et al.*, 2009; Gonçalves, Lajolo e Genovese, 2010). Essas atividades biológicas estão associadas a presença dos compostos bioativos, que promovem respostas fisiológicas capazes de modular o processo metabólico de inflamação, estresse oxidativo, atividades anti-hipertensiva, antimicrobiana e antimutagênica, e, conseqüentemente, reduzir o risco de doenças crônicas (Kaur *et al.*, 2006; Batle-Bayer, Batjes e Bindraban, 2010; Liu e Xu, 2011).

Um estudo com frutos do Cerrado avaliou o potencial antioxidante nos extratos aquosos e etanólicos das polpas, semente e casca do araticum, lobeira, cagaita, pequi e banha de galinha. Foi encontrado alto potencial de redução de radicais livres na casca do pequi (*Caryocar brasiliense*; *Caryocaraceae*), semente de cagaita, semente e casca de araticum, e casca de banha de galinha (*Swartzia Langsdorffii*), através da metodologia de DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Embora os autores também tenham utilizado partes dos frutos que não são

comestíveis, as mesmas precisam ser estudadas e avaliadas quanto a capacidade farmacológica de seus extratos (Roesler, Malta, *et al.*, 2007).

Sabe-se que a oferta e diversidade de alimentos é indispensável para combater a má nutrição e as enfermidades em populações vulneráveis em um contexto mundial de crescimento populacional. Embora sejam crescentes as pesquisas sobre frutos do Cerrado, ainda não há estudos suficientes que comprovem a atividade biológica e descrevam os compostos responsáveis por essas propriedades, o que reforça a importância das pesquisas nesta área.

Tabela 01 – Resumo dos frutos do Cerrado e sua aplicação tradicional ou científica

Nome Vernacular e científico	Uso tradicional
Aaraticum ( <i>Annona crassiflora</i> Mart.)	Infusão aquosa das folhas e sementes: combate à diarreia e como indutor da menstruação (Almeida, 1998); contra parasitas do couro cabeludo (Almeida, 1998). Infusão etanólica das folhas e sementes: efeito antitumoral, anti- <i>Leishmania</i> , e anti- <i>Trypanosoma cruzi</i> (Tempone <i>et al.</i> , 2005). Extrato etanólico da raiz: efeito inibitório da proliferação celular em linhagens de células tumorais HCT-8 (côlon humano), HL-60 (leucemia), SF-295 (cérebro) e MDA-MB-435 (melanoma) (De Mesquita <i>et al.</i> , 2009). Extratos aquosos e etanólicos da casca, polpa e sementes: atividade antioxidante (Roesler, Catharino, <i>et al.</i> , 2007).
Baru ( <i>Dipteryx alata</i> Vog.)	Extrato acetato de etila da amêndoa: atividade antioxidante (Siqueira <i>et al.</i> , 2012). Extratos orgânicos das partes da árvore e óleos da amêndoa: antiartrítico, tônico muscular e regulador do ciclo menstrual (Embrapa, 2006). Infusão aquosa da casca: tratamento de dores de coluna (Kaplan <i>et al.</i> , 1966).
Cagaita ( <i>Eugenia dysenterica</i> DC.)	Extratos aquosos e etanólicos da semente, casca e polpa: atividade antioxidante (Roesler, Malta, <i>et al.</i> , 2007). Frutos <i>in natura</i> : Laxativo (Costa <i>et al.</i> , 2000). Folhas: atividade antifúngica (Costa <i>et al.</i> , 2000); ntidiaarréica, diabetes e icterícia (Embrapa, 2006), e controle da esquistossomose (atividade moluscicida contra <i>Biomphalaria glabrata</i> ) (Bezerra <i>et al.</i> , 2002).
Cajuzinho-do-Cerrado ( <i>Anacardium humile</i> )	Infusão das folhas e casca do tronco: combater infecções de garganta e diarreias (Embrapa, 2006). Infusão da raiz: efeito purgativo (Embrapa, 2006). Resina da castanha: queimar calos, verrugas e manchas da pele, apresenta efeitos citotóxicos (Embrapa, 2006). Casca do fruto: atividade hipoglicemiante (Urzedo, 2003).
Guariroba ( <i>Syagrus oleracea</i> Becc.)	Infusão aquosa da polpa: Redutor de flatulências, vermífugo, cicatrizante (Silveira <i>et al.</i> , 2005). Extratos lipofílicos da amêndoa: atividade antimicrobiana (Gram positivas e negativas) (Silveira <i>et al.</i> , 2005).
Ingá ( <i>Inga laurina</i> Sw.)	Extratos etanólicos das sementes: propriedades inseticida (reduz o crescimento de larvas de insetos) (Ramos <i>et al.</i> , 2012). Xaropes hidroalcoólicos das partes da planta: tratamento da bronquite (Embrapa, 2006). Infusão aquosa das partes da planta: efeito cicatrizante (Embrapa, 2006).

## CONTINUAÇÃO DA TABELA 01

Nome Vernacular e científico	Uso tradicional
Jatobá-do-Cerrado ( <i>Hymenaea stigonocarpa</i> Mart.)	Líquido vinoso do tronco: reconstituintes e tônicas para o organismo, é usado para o tratamento de úlcera estomacal (Orsi <i>et al.</i> , 2012). Infusão do líquido vinoso ou chá aquoso da casca do tronco: usados para queimadura, tosse e como depurativo tônica e, em maiores doses, como vermífuga; tratamento de cistites e prostatites (Embrapa, 2006).
Jenipapo ( <i>Genipa Americana</i> L.)	Extrato etanólico da polpa: repelente de insetos podendo ter ação bactericida e germicida (Embrapa, 2006). Extrato hidroalcoólico do fruto verde: adstringentes, anti-inflamatórias e antianêmicas (Embrapa, 2006). Extrato etanólico da polpa: atividade antioxidante (Rezende <i>et al.</i> , 2009). Efeito anti-tumoral, porém pode prejudicar o desenvolvimento placentário em gestantes (Da Conceição <i>et al.</i> , 2011). Infusão aquosa da polpa: diurético e digestivo, e também contra enterite, hidropisia, asma e anemia (Embrapa, 2006). Extrato etanólico da raiz: Purgativo e anti-hipertensivo (Da Conceição <i>et al.</i> , 2011).
Jurubeba ( <i>Solanum paniculatum</i> L.)	Extrato aquoso acidificado ou extrato etanólico do fruto: tônico, antitérmico e no tratamento de disfunções gastro-hepáticas (Embrapa, 2006). Extratos hidroalcoólicos das flores e raízes: atividade inibidora da secreção do ácido gástrico, e favorecem a redução dos sintomas causados pela ingestão de bebidas alcólicas, a ressaca (Embrapa, 2006). Extrato etanólico da raiz: ação anti-helmíntica, sendo utilizado no tratamento e controle das endoparasitoses gastrointestinais em rebanhos (Vilela <i>et al.</i> , 2009). Extratos etanólicos das folhas e frutos: não apresentaram ação mutagênica, porém, em doses elevadas, exibiram atividade citotóxica (Vieira, Santos e Chen-Chen, 2010); atividade citotóxica de células cancerígenas MGC-803 (câncer gástrico), HepG2 (hepatocarcinoma), A549 (adenocarcinoma de pulmão) e MCF-7 (adenocarcinoma das mamas) (Lu <i>et al.</i> , 2009). Extratos hexânicos das folhas e frutos: Atividade antioxidante (Coutinho, 2009).
Lobeira ( <i>Solanum lycocarpum</i> St. Hil.)	Polvilho extraído do fruto : são utilizados pela medicina popular no tratamento do diabetes, dislipidemias e controle de obesidade (Dall'agnol e Von Poser, 2000), e também no combate à hepatite, asma e a tosse (Embrapa, 2006). Efeito inibitório sobre os níveis séricos de glicose e efeitos positivos na atividade hipocolesterolêmica (Dall'agnol e Von Poser, 2000). Fruto <i>in natura</i> : efeitos sedativos, diuréticos, anticonvulsivante, e exercem características teratogênicas (Maruo, Bernardi e Spinosa, 2003; Maruo <i>et al.</i> , 2003). Peso menor dos pulmões e rins de fetos, o que indica efeitos toxicológicos ao feto (Chang <i>et al.</i> , 2002).
Mangaba ( <i>Hancornia speciosa</i> )	Látex do fruto: tratar luxações, cólicas menstruais e hipertensão (Machado <i>et al.</i> , 2004; Silva <i>et al.</i> , 2012). Filmes protetores de feridas, no tratamento de acne, verrugas, doenças relacionadas com bursite e inflamações (Marinho <i>et al.</i> , 2011; Silva <i>et al.</i> , 2011). Extrato etanólico da polpa do fruto e folhas: atividades anti-sépticas e antimicrobiana (Costa <i>et al.</i> , 2008). Efeito anti-hipertensivo (Ferreira <i>et al.</i> , 2007); agente anti-inflamatório e quimiopreventivo (Endringer, Pezzuto e Braga, 2009); atividade antioxidante (Rufino <i>et al.</i> , 2009). Extrato hidroalcoólico da casca da polpa: Tratamento da gastrite, hipertensão, doenças inflamatórias, hepáticas e pulmonares, diabetes, perda de peso, dermatites (Moraes <i>et al.</i> , 2008).
Tucum-do-Cerrado ( <i>Bactris setosa</i> Mart.)	Não foram encontrados estudos relacionados.

### 2.1.1 Araticum (*Annona crassiflora* Mart.)



Figura 01 - Araticum (*Annona crassiflora* Mart.)- (A) Árvore com altura de cerca de 5 metros, com frutos maduros e de vez; B – ramos portando frutos; C – ritidoma (casca externa do tronco e ramos). Núcleo Rural Boa Esperança II, Distrito Federal. 16/02/2007. (Fonte: Fernando Tatagiba – Disponível em: <http://www.biologo.com.br/plantas/cerrado/araticum.html>).

O araticum (*Annona crassiflora* Mart.) é uma árvore de 4 a 8 metros de altura, com tronco geralmente tortuoso de 20 a 30 centímetros de diâmetro, revestido por casca áspera e corticosa (grossa); folhas alternas simples; flores axilares, com pétalas engrossadas e carnosas. O fruto apresenta cerca de 15 cm de diâmetro, dois quilos de peso, oval arredondado, externamente marrom claro, com polpa creme amarelada firme, sementes numerosas, elípticas e marrom escuras (Figura 01). Os frutos são muito apreciados pela sua polpa doce e sabor característico, que pode ser consumida *in natura* ou sob a forma de doces, geléias, sucos, licores, tortas, iogurtes ou sorvetes (Almeida *et al.*, 2011).

A polpa do araticum, se comparado com outros frutos do Cerrado, pode ser considerado uma boa fonte de lipídeos (3%) e de fibras dietéticas (5,2%). Os lipídeos da polpa são importantes para o consumo *in natura*, devido à presença do ácido linolênico. Existe uma similaridade entre os óleos da polpa de araticum e de oliva, sobretudo quanto ao teor de ácido oléico. A semente de araticum contém um teor relativamente elevado de óleo (45% com base no peso seco), o que permite, inclusive, extração por prensa contínua (Agostini, Cecchi e Barrera-Arellano, 1995). Além disso, a polpa de araticum é fonte de ferro (2,3 mg/ 100 g) e de pró-vitamina A (253 µg carotenóides totais/ 100 g). A polpa apresenta nove carotenóides, com predominância do beta-caroteno (Agostini, Cecchi e Godoy, 1996; Damiani *et al.*, 2011).

Na medicina popular a infusão aquosa das folhas e das sementes pulverizadas é usada no combate à diarreia e como indutor da menstruação. A infusão aquosa das sementes também podem ser empregadas contra parasitas do couro cabeludo (Almeida, 1998). Foi verificado efeito antitumoral, anti-*Leishmania*, e anti-*Trypanosoma cruzi* na infusão etanólica das folhas e sementes de araticum (Tempone *et al.*, 2005).

O extrato etanólico da raiz do araticum demonstrou ter efeito inibitório da proliferação celular em linhagens de células tumorais HCT-8 (côlon humano), HL-60 (leucemia), SF-295 (cérebro) e MDA-MB-435 (melanoma), porém o composto responsável por esse efeito inibitório não foi identificado (De Mesquita *et al.*, 2009). Em outros estudo foi analisado o potencial antioxidante dos extratos aquosos e etanólicos da polpa, casca e semente de araticum, e observou potencial protetor contra oxidação pelo teste de DPPH, além da identificação de compostos antioxidantes na casca e semente do araticum, tais como, ácido ascórbico, ácido caféico, ácido chiquímico, ácido ferúlico, ácido cafeoiltartárico, cafeoil glicose, xantoxilina, rutina e quercetina (Roesler, Catharino, *et al.*, 2007).

### 2.1.2 Baru (*Dipteryx alata* Vog)

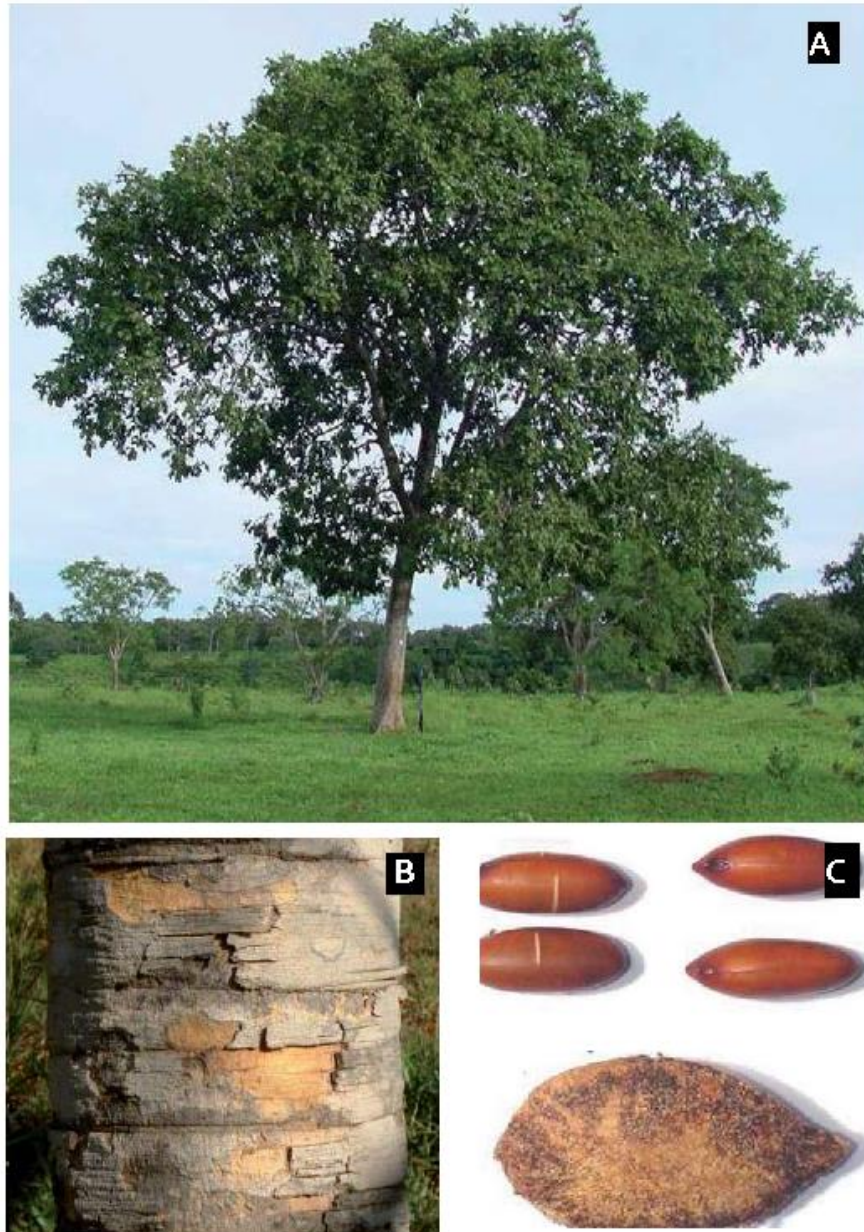


Figura 02- Castanha do Baru (*Dipteryx alata* Vog) – (A) Árvore adulta de baru; (B) tronco da árvore com reentrâncias; (C) fruto e amêndoa de baru (Embrapa, 2006), pág 79.

*Dipteryx alata* Vog., popularmente conhecida como baru, pertence a família das *Leguminosae* e ocorre em mata seca do Cerrado brasileiro. O barueiro é uma árvore de grande porte, chegando a medir 25 metros de altura e 70 centímetros de diâmetro, e chega a ter 60 anos de vida útil. A produção frutífera tem início a partir do sexto ano, produz frutos que abrigam uma semente comestível, a castanha do

baru. O seu período de floração é entre novembro a maio. O baru é uma espécie nativa bastante promissora para o cultivo, seu plantio pode favorecer a conservação do Cerrado e preservação da espécie (Myers *et al.*, 2000).

A castanha do baru apresenta uma película de cor brilhante, em tons que podem variar desde o marrom ao vermelho escuro (Figura 02). Apresenta característica oleaginosa, é consumida pelo homem após a torrefação. Pode servir de base para diversas preparações, quando *in natura* são veiculados a alimentação animal e uso na medicina popular (Embrapa, 2006).

A castanha do baru apresenta uma composição nutricional rica em micro e macro nutrientes, apresenta cerca de 530 kcal a cada 100 gramas. Aproximadamente 45% do valor energético é de lipídeos e 30% de proteínas. O óleo, que contém cerca de 80% de ácidos graxos insaturados, apresenta a predominância dos ácidos graxos oléico (ômega-9) e linoléico (ômega-6) (Freitas e Naves, 2010). Entre os micronutrientes apresenta zinco, cobre, ferro, fósforo e magnésio ( $4,2 \pm 0,4$ ;  $1,4 \pm 0,1$ ;  $4,7 \pm 0,3$ ;  $273,4 \pm 8,8$ ;  $139,0 \pm 6,0$  mg/ 100 g, respectivamente) (Marin, Siqueira e Arruda, 2009).

Os extratos e óleos extraídos de diferentes partes do baru apresentam potencial medicinal reconhecido popularmente para uso antirreumático, tônico muscular e regulador do ciclo menstrual (Embrapa, 2006). A infusão aquosa da casca do tronco do barueiro é utilizada para tratamento de dores de coluna, e os compostos que possivelmente estariam associados aos benefícios desse tratamento seriam os triterpenos pentacíclicos: lupeol, lupen-3-ona e betulina (Kaplan *et al.*, 1966).

O extrato acetato de etila da amêndoa de baru apresenta elevado potencial antioxidante em diferentes solventes, quando analisado *in vitro* (Siqueira *et al.*, 2009; Lemos *et al.*, 2012). Em ensaios experimentais verificaram proteção contra o estresse oxidativo da castanha de baru em tecidos de animais estressados com a suplementação oral de ferro. Confirmando assim a atividade antioxidante encontrada *in vitro* (Siqueira *et al.*, 2012).



### 2.1.3 Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.)

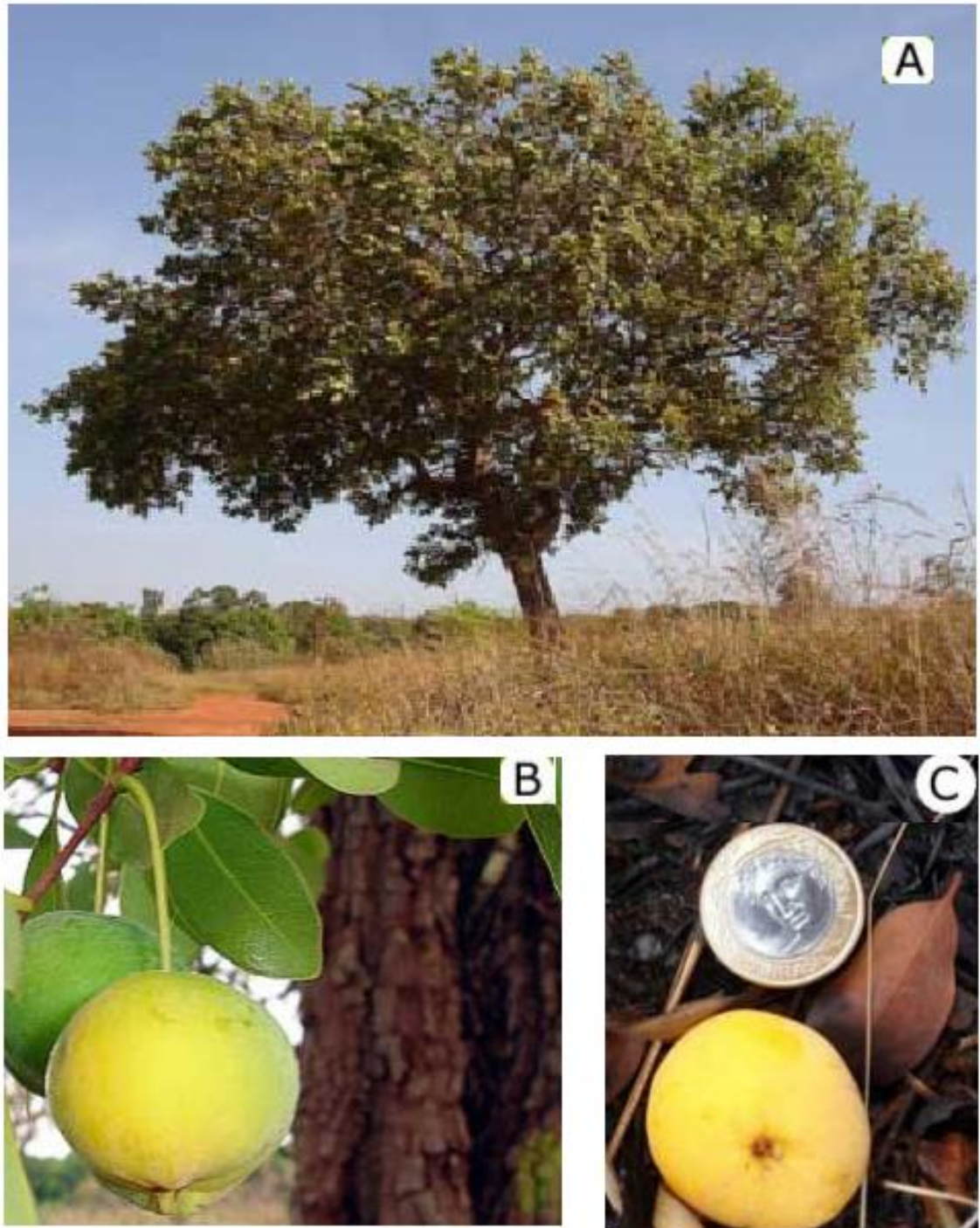


Figura 03 - Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.). (A) Cagaiteira; (B): fruto verde e maduro; (C) fruto maduro no chão. Brasília, Núcleo Rural Boa Esperança II, 23 de setembro de 2006. (Fonte: Fernando Tatagiba – Disponível em: <http://www.biologo.com.br/plantas/cerrado/cagaita.html>).

A cagaiteira é uma árvore de altura mediana (4 m a 10 m) de tronco e ramos tortuosos, com uma casca suberosa e fendada bem característica, seus frutos são bagas globosas, suculentas, de cor amarelo clara e de sabor agradável a levemente ácido (Figura 03). A maior frequência da floração da cagaiteira ocorre no mês de agosto. A importância principal do aproveitamento da cagaiteira se dá pelo potencial alimentício de seus frutos (Silva *et al.*, 2001).

A cagaita é considerada uma boa fonte de vitamina C (18–72 mg/ 100 g), vitamina B2 (0,4 mg/ 100 g), cálcio (172,8 mg/ 100 g), magnésio (62,9 mg/ 100 g) e ferro (3,9 mg/ 100 g). O óleo da polpa da cagaita apresenta, aproximadamente dois gramas de lipídeos totais, destes 28% são ácidos graxos saturados, principalmente ácido palmítico (24%); 50% de ácidos graxos monoinsaturados, principalmente ácido oléico (36%); e 22% de poliinsaturados, principalmente ácido linolênico (12%), que é um ácido graxo essencial (Franco, 1999; Marin, Siqueira e Arruda, 2009). Em outro estudo a cagaita apresentou valor energético de 26,8 kcal/ 100 g de polpa, e a concentração de 5,9 mg/ 100 g de cálcio; 3,4 mg/ 100 g de magnésio, e 0,3 mg / 100 g de ferro, tais diferenças podem estar relacionadas, entre outros fatores, pela diferença metodológica (Marin, Siqueira e Arruda, 2009).

A semente, casca e a polpa da cagaita são citadas como fontes de antioxidantes, porém não há relatos na literatura sobre o composto responsável por essa funcionalidade (Roesler, Malta, *et al.*, 2007). Na medicina popular os extratos hidroalcolólicos das folhas da cagaita são usadas como antidiarréicas, existindo relatos do seu uso para o tratamento da diabetes e icterícia, enquanto seus frutos têm qualidades laxativas. O óleo essencial das folhas, rico em sesquiterpenos, como o beta-cariofileno e o alfa-humuleno, e em monoterpenos, como o limoneno e o alfatujeno, apresenta atividade antifúngica (Costa *et al.*, 2000). O extrato etanólico das folhas apresenta atividade moluscicida contra *Biomphalaria glabrata*, um caramujo, hospedeiro intermediário do parasita, sugerindo potencial de controle da esquistossomose (Bezerra *et al.*, 2002).

### 2.1.4 Cajuzinho-do-Cerrado (*Anacardium humile*)



Figura 04- Cajuzinho-do-Cerrado (*Anacardium humile*) – (A) Inflorescências de *Anacardium humile*; (B) Fruto maduro do cajuzinho-do-Cerrado; (C) árvore da *Anacardium humile*. (Embrapa, 2006)

A *Anacardium humile* é um subarbusto medindo 30 a 150 cm de altura, habita o Cerrado e o campo rupestre, florescem entre os meses de julho e setembro, originam um fruto amarelo-avermelhado, de sabor adstringente (Figura 04), são polinizados por abelhas e por borboletas. Os extratos aquosos de caules e folhas desta espécie sugerem a presença de agentes alelopáticos, ou seja, produzem substâncias químicas que, liberadas no ambiente, influenciam de forma favorável ou desfavorável o seu desenvolvimento, e com isso crescem formando espaços entre esta espécie e outras espécies que se desenvolvem ao seu redor (Almeida, 1998; Periotto, 2003).

A castanha do cajuzinho-do-Cerrado é aproveitada para a produção da amêndoa, depois de descascada e torrada, que contém ácidos graxos essenciais e minerais. Na medicina popular, a infusão aquosa da casca da árvore e das folhas do *A. humile* é empregado em gargarejos para combater infecções de garganta e diarreias. A infusão aquosa da raiz é empregada como purgativa. A resina da castanha é tradicionalmente usada para queimar calos, verrugas e manchas da pele, apresenta efeitos citotóxicos (Embrapa, 2006). Um estudo avaliou a atividade hipoglicemiante da entrecasca do cajuzinho-do-Cerrado no tratamento de ratos diabéticos, foi administrado extrato aquoso liofilizado, duas vezes ao dia (175 mg/Kg, via oral), durante 28 dias. Os resultados obtidos demonstraram a eficácia do efeito da formulação de *A. humile* em reduzir a hiperglicemia em ratos, provendo uma melhora em praticamente todos os parâmetros avaliados (Urzedo, 2003).

Os produtos do cajuzinho-do-Cerrado também são utilizados na indústria. O líquido da casca da castanha de caju é muito empregado na indústria química para a produção de polímeros que são utilizados na produção de matérias plásticas, isolantes e vernizes. Este óleo representa cerca de 25% do peso da castanha do cajuzinho do Cerrado; é constituído principalmente por compostos fenólicos, como o ácido nacárdico, o cardol e o cardanol. Os ácidos anacárdicos apresentam propriedades antimicrobianas (Luiz-Ferreira *et al.*, 2008; Nery *et al.*, 2010), anticoagulante e antioxidantes (Wang *et al.*, 1998).

### **2.1.5 Guariroba (*Syagrus oleracea* Becc.)**

A guariroba (*Syagrus oleracea* Becc.) é uma palmeira, a qual a polpa e amêndoa podem ser consumidas *in natura*, ou na forma de doces, e o palmito da guarirba é um alimento de sabor amargo (Figura 05), utilizado na culinária em pratos típicos e tem grande importância na Região Centro-Oeste e Sudeste do país (Silva *et al.*, 2001). Na medicina popular a infusão aquosa da polpa é utilizada no tratamento de algumas doenças por agir como redutor de flatulências, vermífugo, cicatrizante, e os compostos responsáveis por essas atividades ainda são pouco estudados. A atividade antimicrobiana da amêndoa da guariroba, foi associada a

presença de ácidos graxos, encontrados nos extratos lipofílicos, como o ácido oléico, ácido láurico, à capacidade de inativar bactérias Gram positivas e negativas no leite de algumas espécies de mamíferos (Silveira *et al.*, 2005).

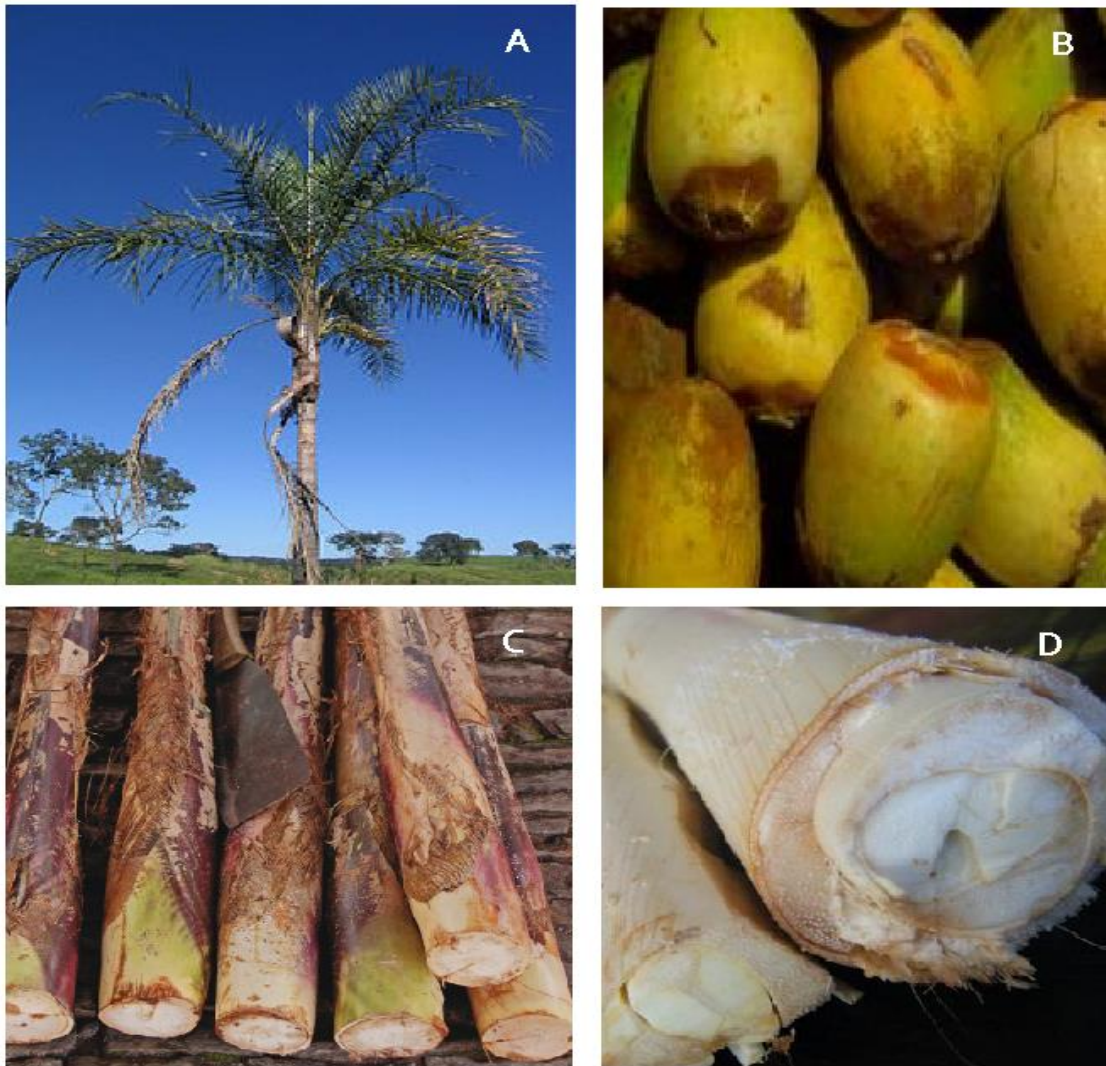


Figura 05 - Guariroba (*Syagrus oleracea* Becc.) – (A) Palmeira adulta; (B) Fruta da guariroba; (C e D) Palmito da guariroba. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Guariroba>> e <<http://todafruta.blogspot.com.br/2009/11/guariroba-syagrus-oleracea.html>>

A guariroba é uma palmeira pertencente a família *Palmae*. Esta palmeira apresenta flavonóides, que são representados principalmente pelo caempferol, quercetina, tricina e luteolina. Ainda podem ser encontradas saponinas e luteolinas, e os alcalóides pirimidínicos e proantocianidinas (Silveira *et al.*, 2005).

Uma das dificuldades de comercialização da guariroba é o rápido escurecimento da parte comestível, que ocorre após o corte do talo, esse

escurecimento é causado pelas enzimas peroxidase (POX) e polifenol-oxidase (PPO), e pela presença de compostos fenólicos, que são substratos enzimáticos da POX e PPO, e também os responsáveis pelo sabor adstringente e amargo característico da guariroba (Carneiro, Rolim e Fernandes, 2003).

### 2.1.6 Ingá (*Inga laurina* Sw.)

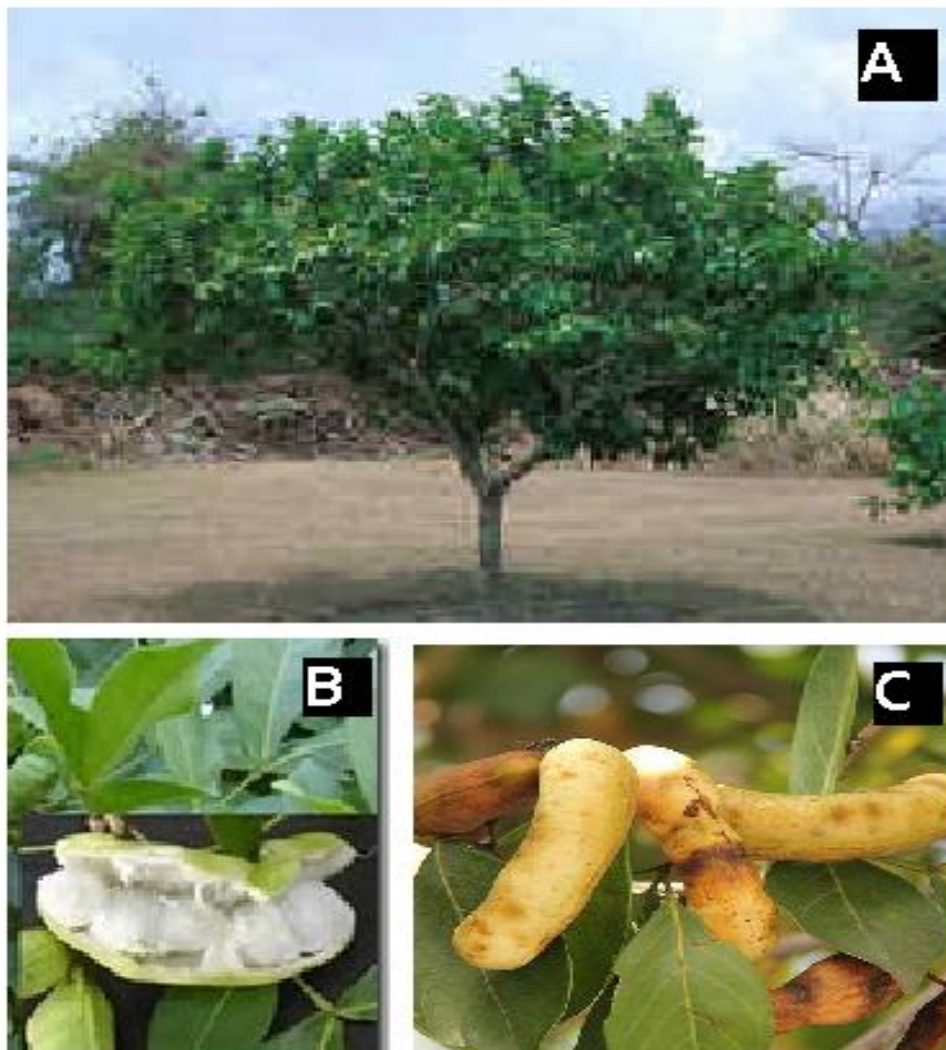


Figura 06 - Ingá (*Inga laurina*) – Árvore madura do Ingá; (B) Polpa do Ingá; (C) Fruta madura do Ingá. Disponível em: <<http://www.horticopia.com/hortpix/html/inglau000.htm>>

A espécie *Inga laurina*, conhecido no Brasil como ingá branco, é uma árvore pertencente à família *Leguminosae*, é plantada em ambientes urbanos para arborização e sombra. O fruto do ingá é consumido *in natura* pelo homem e pelos

pássaros. Embora a espécie *Inga laurina* seja abundante na flora brasileira, pouco é conhecido sobre sua constituição bioquímica (Embrapa, 2006). A polpa que envolve as sementes, denominada de sarcotesta, apresenta coloração branca, levemente fibrosa e adocicada (Figura 06) (Silva *et al.*, 2001).

Nas folhas jovens de *Inga laurina* foram identificadas concentrações elevadas (1 a 10%) de três diferentes formas de tripsina, sugerindo uma defesa química da planta durante o período de crescimento, pois nas folhas adultas não encontraram os mesmos resultados (Lokvam *et al.*, 2007). Foi isolado um inibidor de tripsina das sementes de ingá, característicos das espécies da família *Leguminosae* (Macedo *et al.*, 2007). Em outro estudo foi observado que essa característica do ingá reduz o crescimento de larvas de insetos, o que parece representar propriedades inseticida dos extratos etanólicos da semente desta planta (Ramos *et al.*, 2012). São poucos os relatos das utilizações medicinais do ingá. Há registros de partes de sua planta como xaropes hidroalcoólicos, para o tratamento da bronquite, e o uso da infusão aquosa, como cicatrizante (Embrapa, 2006).

#### **2.1.7 Jatobá-do-Cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.)**

O jatobá-do-Cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) pertence a família das *Leguminosae*, as quais são de grande importância nutricional e econômica. Popularmente é conhecida como jatobá-do-Cerrado, e cresce no Cerrado Brasileiro. É uma planta com 4 a 6 m de altura que produz frutos com comprimento entre 6 e 18 cm e diâmetro de 3 a 6 cm (Figura 07). Seus frutos farináceos são comestíveis e muito apreciados pela população regional e podem ser consumidos *in natura* ou como ingrediente na elaboração de bolos, pães e mingaus, *cookies* e *snacks* com alto teor de fibras (Matuda e Netto, 2005). Grande parte das espécies desta família apresenta simbiose de suas raízes com bactérias do gênero *Rhizobium*, com as quais fixam nitrogênio da atmosfera, uma característica ecológica de extrema importância. Esta característica parece ser responsável pelo predomínio da família *Leguminosae* no Cerrado (Embrapa, 2006).

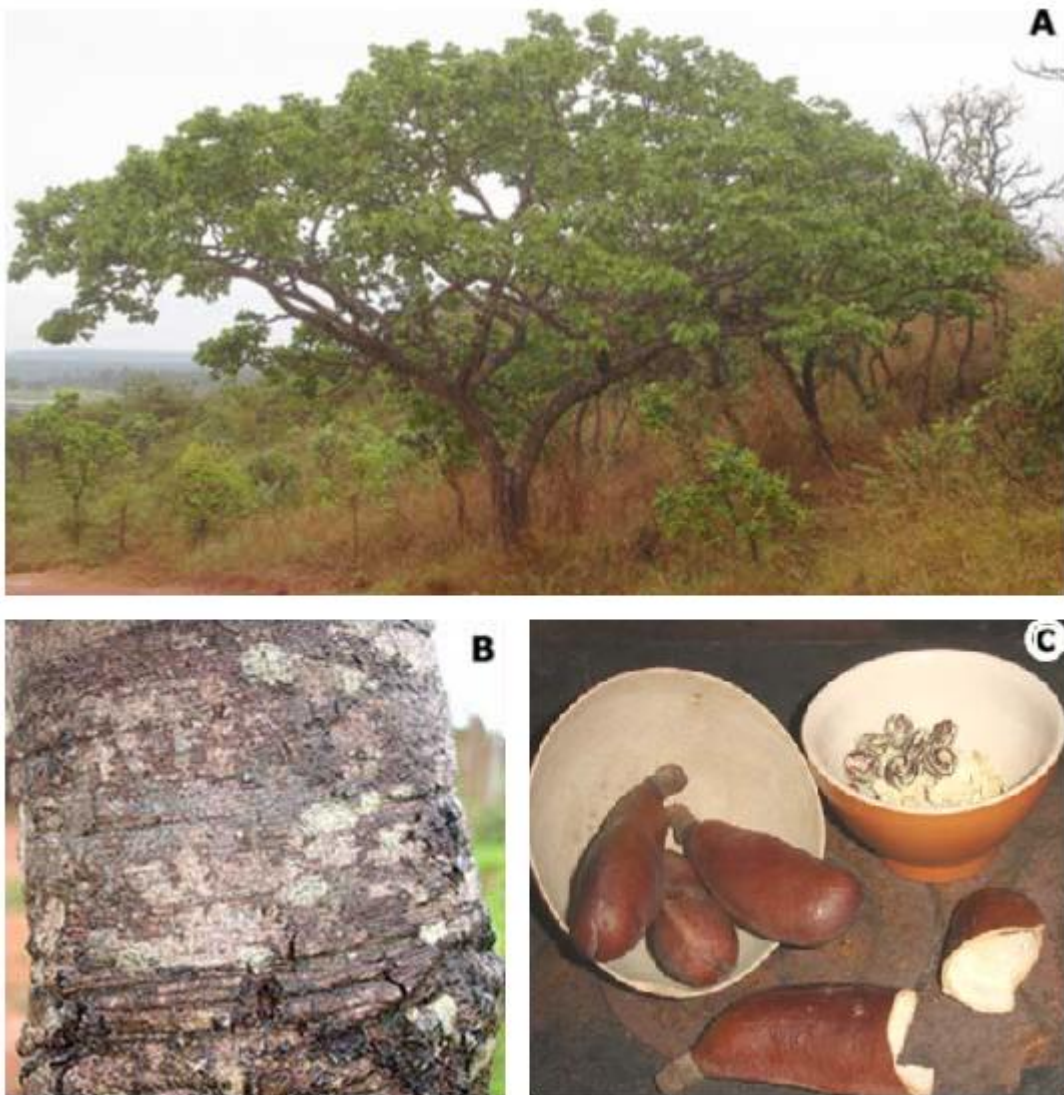


Figura 07 - Jatobá-do-Cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) – (A) Jatobá-do-cerrado com cerca de cinco metros de altura; (B) Ritidoma (casca) do jatobá-do-cerrado; (C) Frutos de jatobá-do-Cerrado, detalhe de fruto aberto para obtenção de farinha e sementes. Coletados no Núcleo Rural Boa Esperança I, DF, em 14 de outubro de 2006. (Fonte: Fernando Tatagiba – Disponível em: <http://www.biologo.com.br/plantas/cerrado/jatoba.html>).

A farinha da polpa apresenta alto conteúdo de açúcares totais (34,28 %), baixo teor protéico (6,2 %), baixo teor lipídico (4 %), e razoável teor mineral, alto teor de fibra alimentar, com predominância de fibra insolúvel (36,4 %) (Silva *et al.*, 2001). Em relação ao teor de minerais, é rico em potássio (1.121 mg/ 100 g), destacando-se, também, o magnésio (48 a 125 mg/ 100 g), que supera o valor encontrado no feijão (22 mg/ kg) e na soja (26 mg/ kg), enquanto o valor de cálcio (74 a 134 mg/ 100 g) é inferior ao teor encontrado nas leguminosas. Os outros minerais encontrados foram o fósforo (96 mg/ 100g de massa seca), o zinco (1,36 mg/100g



de massa seca), o ferro (1,2 mg/ 100 g de massa seca) e o sódio (7 mg/ 100 g de massa seca). Foi encontrado alto teor de tanino (376 a 2.987 mg/ 100 g, expresso em equivalentes de ácido gálico), e baixa atividade inibidora de tripsina (5,4 UTI/ mg) e de pouca significância em termos nutricionais (Almeida, 1998; Marin, Siqueira e Arruda, 2009).

Em um estudo realizado com a polpa do jatobá foi encontrado teor de tocoferóis totais de 15,7 mg/ 100 g, teor esse significativo quando comparado aos óleos vegetais e as amêndoas, considerados as principais fontes de tocoferóis, cujos valores podem variar entre 7-120 mg/ 100 g (Silva, 1997). Já o valor de ácido ascórbico encontrado foi de 8,5 mg/100g, e é considerado baixo, se comparado com outros frutos. O jatobá possui, ainda, carotenóides pró-vitamina A (30 µg/ 100 g), tiamina ou vitamina B1 (40µg/ 100 g), riboflavina ou vitamina B2 (40 µg/ 100 g) e niacina (0,5 mg/ 100 g) (Franco, 1999).

Uma das aplicações medicinais do jatobá está associada ao líquido vinoso extraído do tronco, que parece ter propriedades reconstituintes e tônicas para o organismo, é usado para o tratamento de úlcera estomacal (Orsi *et al.*, 2012). O chá da resina, e o melado ou chá da casca do caule, são usados para queimadura, tosse e como depurativo. Também é utilizada como tônica e, em maiores doses, como vermífuga; a casca do tronco é empregada contra cistites e prostatites (Embrapa, 2006). Foram identificados por meio da cromatografia os principais compostos presentes na resina do jatobá, conhecidos como diterpenos, e foram encontraram o ácido eperúico e ácido copálico como compostos em maior concentração, e os ácidos kolavenico, isozico e epi-pinofólico como os ácidos e menor teor (Domenech-Carbo *et al.*, 2009). Também foi encontrado no extrato de acetato de etila das sementes e polpa de jatobá os compostos oic-15-dien3,13-cleroda e oate-15-dien-3,13-metil-cleroda, que constituem ácidos diterpenos (Nogueira *et al.*, 2001).

### 2.1.8 Jenipapo (*Genipa americana* L.)



Figura 08 - Jenipapo (*Genipa americana* L.) – (A) Árvore do jenipapo; (B) fruto maduro do jenipapo; (C) tronco da árvore do jenipapo; (D) polpa do jenipapo. (Embrapa, 2006)

O jenipapo (*Genipa Americana* L.) é um fruto amplamente distribuído na América do Sul. O nome jenipapo é originário do tupi-guarani, que significa “fruto que serve para pintar”. A casca e os frutos verdes são utilizados na pintura do corpo e tecidos, e contém a genipina, uma substância corante, solúvel em água e em álcool, que torna-se preta em contato com o ar (Djerassi, Gray e Kincl, 1960). É uma fruta comestível, mas pouco consumida *in natura*, é popular na produção de bebidas

alcoólicas, como licores e vinhos, e também servidas como doces, compotas, sorvetes e refrescos (Figura 08) (Ono *et al.*, 2007).

Em relação ao valor nutricional do jenipapo, destaca-se a quantidade de proteínas (5 g/ 100 g), fibras (3 g/ 100 g), ferro (2,1 mg/ 100 g) e vitamina C (9 mg/ 100 g). Foi encontrado um teor de 60,3 mg/ 100 g de vitamina C no jenipapo (Pinto, 2009). Além de uma variação entre 1,25 mg/ 100g a 5,93 mg vitamina C/ 100 g. Essa diferença é atribuída a variedade do fruto, localização da lavoura, tratos culturais e estágio de maturação (Hansen *et al.*, 2008). Estes dados estimulam o consumo deste fruto como alimento fonte de proteína, ferro e vitamina C, principalmente em regiões menos desenvolvidas, que sofrem por carência alimentar (Brasil, 2002). Foi verificado teor de minerais na polpa do jenipapo, entre elas o cálcio, que variou entre 39,6 a 341 mg/ 100 g de fruto em diferentes estudos, o que pode representar uma fonte desse micronutriente (De Oliveira *et al.*, 2006; Marin, Siqueira e Arruda, 2009).

Na medicina popular o extrato etanólico da polpa do jenipapo é utilizada como repelente de insetos podendo ter ação bactericida e germicida, o que está relacionado, provavelmente, com seu conteúdo de fenol. O extrato hidroalcoólico do fruto verde tem propriedades adstringentes, anti-inflamatórias e antianêmicas (Embrapa, 2006). No Brasil a infusão aquosa da polpa do fruto é utilizado como diurético e digestivo, e também contra enterite, hidropisia, asma e anemia. O extrato etanólico raiz é utilizada como purgativo. Além disso, devido ao seu elevado teor de manitol, o fruto é recomendado como anti-hipertensivo (Da Conceição *et al.*, 2011).

Em um estudo que avaliou a atividade antioxidante de cinco frutas tropicais típicas da Bahia pela metodologia de DPPH (EC<sub>50</sub>) o extrato etanólico da polpa jenipapo pouco se destacou em relação a atividade antioxidante. O sapoti (*Achras sapota*) (7.784,14 µg/ mL) e jenipapo (3.694,77 µg/ mL) foram os que apresentaram menor atividade antioxidante, seguidos pelo umbu (2.153, 19 µg/ mL), cajá (362,94 µg/ mL) e siriguela (144,00 µg/ mL) (Rezende *et al.*, 2009). Alguns compostos já foram identificados e relatados pela literatura, como a manita, a genipina, a cafeína, os taninos, o ácido tartárico, os sais de cálcio e ferro e as vitaminas B1, B2 e C (Embrapa, 2006), mas não apresentaram estudos para comprovação biológica.

A semente e polpa do jenipapo apresentaram altas concentrações de fitoesteróis (233 e 216 mg/ 100 g, respectivamente), que são compostos presentes

nos vegetais, e pode ter efeito benéfico para o indivíduo (Da Costa *et al.*, 2010). Um estudo recente com modelo *in vitro* avaliou o efeito do extrato etanólico da polpa do jenipapo, em função da presença de fitoesteróis, na proliferação e diferenciação celular, e sugeriram que o extrato etanólico de jenipapo parece ter um importante efeito anti-tumoral, porém pode prejudicar o desenvolvimento placentário em gestantes (Da Conceição *et al.*, 2011). Ono *et al.* (2007) isolaram três novos monoterpenóides no jenipapo, compostos esses que atuam como essências voláteis do fruto, e podem ser utilizadas pela indústria química, farmacêutica, ou mesmo a de alimentos (Ono *et al.*, 2007).

### 2.1.9 Jurubeba (*Solanum paniculatum* L.)



Figura 09 - Jurubeba (*Solanum paniculatum* L.). (A) Árvore da jurubeba; (B) flor da jurubeba; (C) fruto da jurubeba. Disponível em: <<http://jardineiroetnobotanico.wordpress.com/2009/07/10/jurubeba-solanum-paniculatum/>>.

*Solanum paniculatum* L, a jurubeba, é uma pequena árvore de porte arbustivo, atingindo 3 metros de altura, que floresce e frutifica praticamente o ano todo. É uma planta nativa das Regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste do Brasil, ocorre principalmente no Cerrado. Cresce nos terrenos vazios, as bordas das estradas, e pastagens degradadas. No Brasil é consumida como conserva ou preparada diretamente nas refeições, e também é utilizada popularmente com fins medicinais (Figura 09) (Embrapa, 2006).

Na medicina popular o extrato aquoso acidificado ou extrato etanólico é utilizada como tônico, antitérmico e no tratamento de disfunções gastro-hepáticas. Os extratos hidroalcoólicos das flores e raízes apresentam atividade inibidora da secreção do ácido gástrico, e favorecem a redução dos sintomas causados pela ingestão de bebidas alcóolicas, a ressaca (Embrapa, 2006). O extrato etanólico raiz de jurubeba apresenta ação anti-helmíntica, sendo utilizado no tratamento e controle das endoparasitoses gastrointestinais em rebanhos (Vilela *et al.*, 2009).

Foram avaliadas as atividades mutagênica e citotóxica dos extratos etanólicos das folhas e frutos de jurubeba, utilizando células da medula óssea de camundongos. O estudo indicou que estas não apresentaram ação mutagênica, porém, em doses elevadas, exibiram atividade citotóxica. Houve uma redução do número de eritrócitos imaturos em relação aos eritrócitos maduros. Essas propriedades citotóxicas estão relacionadas possivelmente com a presença de glicoalcalóides e saponinas, por lesarem os eritrócitos, porém, não se pode esquecer dos possíveis efeitos sinérgicos e antagonistas entre os demais compostos bioativos presentes na jurubeba (Vieira, Santos e Chen-Chen, 2010).

Diversos alcalóides esteroidais já foram isolados da *Solanum paniculatum*, como a jurubebina, jubebina e solamina, bem como saponinas, tais como isojuripidina, isojurubidina e jurubidina (Embrapa, 2006). Em uma espécie de jurubeba, a *Solanum torvum*, foram isoladas em extratos etanólicos das folhas e dos frutos duas novas saponinas esteroídicas, solanolactosídeos A e B, e dois novos glicosídeos esteroídicos, torvosídeos. Desses, os torvosídeos M e N apresentaram atividade citotóxica significativa em várias linhagens de células humanas, tais como MGC-803 (câncer gástrico), HepG2 (hepatocarcinoma), A549 (adenocarcinoma de pulmão) e MCF-7 (adenocarcinoma das mamas) (Lu *et al.*, 2009).

Além de alcalóides, os flavonóides constituem um dos grupos de substâncias mais freqüentes em espécies do gênero *Solanum*, destaca-se os flavonóis, em número expressivo de caempferol, quercetina e miricetina metilados na posição 8 (Silva *et al.*, 2003). Foram analisadas frações hexânicas da raiz de jurubeba e identificados principalmente ácidos graxos e fitoesteróides, além da substância química sapogenina esteroídica tipogenona, contribuindo para a quimiosistemática do gênero *Solanum*. Quanto a atividade antioxidante (AA), pelo teste de DPPH, o fruto apresentou potente AA. Em relação a análise da fração volátil dos frutos e folhas da jurubeba foram identificados terpenos, ácidos graxos e hidrocarbonetos. Logo, a jurubeba representa um fruto promissor em relação ao seus compostos bioativos (Coutinho, 2009).

#### 2.1.10 Lobeira (*Solanum lycocarpum* St. Hil.)

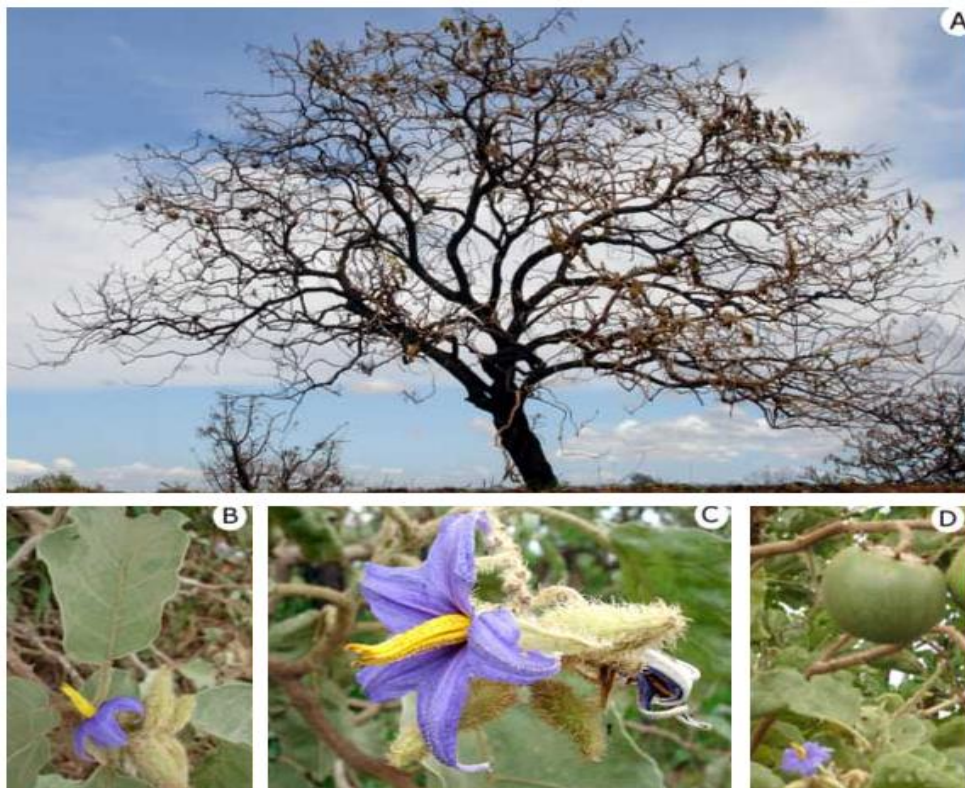


Figura 10 - Lobeira (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) – (A) Arbusto ou arvoreta de até 5 m de altura com a copa danificada pelo fogo; (B) alternas, de consistência firme, densamente recobertas por tricomas (“pêlos”), margens irregulares, variando de 16-28 cm de comprimento. (C) flores são hermafroditas, com 05 sépalas cuja porção soldada permanece aderida ao fruto;(D) fruto da lobeira. (Fonte: Fernando Tatagiba – Disponível em: <http://www.biologo.com.br/plantas/cerrado/lobeira.html>).

A lobeira (*Solanum lycocarpum*) é uma árvore de pequeno porte, com 2 a 5 metros de altura, tem folhas ásperas, cabeludas e espinhosa, comumente encontrada no Cerrado brasileiro, popularmente conhecido como "fruta-de-lobo". Os frutos da lobeira são de cor verde, e podem chegar a 15 cm de diâmetro (Figura 10) (Munari *et al.*, 2012). O fruto, as folhas e o polvilho extraído do fruto são utilizados pela medicina popular no tratamento do diabetes, dislipidemias e controle de obesidade (Dall'agnol e Von Poser, 2000), e também no combate à hepatite, asma e a tosse (Embrapa, 2006). Apresenta efeitos sedativos, diuréticos, anticonvulsivante, e exercem características teratogênicas quando consumidas *in natura*, dependendo do estágio de gestação. Logo, a lobeira é consumida em forma de doces e geléias, mas pouco consumida *in natura*, devido aos relatos de citotoxicidade e efeitos teratogênicos (Maruo, Bernardi e Spinosa, 2003; Maruo *et al.*, 2003).

Um estudo realizado para determinar os possíveis efeitos citotóxicos da lobeira foi realizado com ratos machos e fêmeas, e não foram observados efeitos de toxicidade nos machos, enquanto nas fêmeas o extrato de lobeira reduziu o tamanho uterino e o peso do fígado, mas não mostrou alterações dos níveis de estrógeno (Maruo, Bernardi e Spinosa, 2003). Quando foram analisados os possíveis efeitos embriotóxicos da ingestão dos frutos durante a pré-implantação ou durante a organogênese foram observadas maiores taxas de hemorragias do bulbo olfatório e anormalidades ósseas nos animais que receberam o extrato de lobeira comparados ao grupo controle, indicando efeito tóxico durante a gestação (Maruo *et al.*, 2003). Em outro estudo com ratas prenhas não foram identificadas alterações clínicas de toxicidade materna, porém foi observado no feto peso significativamente menor dos pulmões e rins, o que indica efeitos toxicológicos ao feto (Chang *et al.*, 2002). Estes efeitos adversos podem estar relacionados com as altas concentrações de alcalóides esteróides, a salasonina e salamargina.

Além dos efeitos tóxicos, alguns estudos mostraram efeito benéfico da lobeira. As substâncias alcalóides presentes no fruto mostraram um efeito inibitório sobre o tempo de esvaziamento gástrico em ratos, e significativo efeito inibitório sobre os níveis séricos de glicose, com esses resultado pode-se sugerir que a lobeira possa ser utilizada na prevenção e tratamento do diabetes e obesidade (Dall'agnol e Von Poser, 2000). Também foi avaliada a ação dos compostos da lobeira na dislipidemia, e foram observados efeitos positivos na atividade

hipocolesterolêmica, que pode estar relacionada ao aumento na excreção de ácido biliar, bem como à ação de ácidos graxos de cadeia curta, provenientes de fermentação de bactérias alguns polissacarídeos no cólon (Dall'agnol e Von Poser, 2000).

O estudo de Munari *et al.* (2012) determinou os possíveis efeitos citotóxicos, genotóxicos e anti-genotóxico do extrato glicoalcalóide da *S. lycocarpum*, em fibroblastos de pulmão de *hamster* chinês (células V79). Os autores não verificaram atividade genotóxica, e ainda as diferentes concentrações de extrato de lobeira mostraram efeito protetor contra os danos genômicos e cromossômicos. No entanto, são necessários mais estudos para utilização da lobeira como fármaco e confirmar a atividade observada nestes estudos (Munari *et al.*, 2012).

#### **2.1.11 Mangaba (*Hancornia speciosa*)**

A mangabeira é uma árvore de porte médio, com 2 a 10 m de altura, podendo chegar até 15 m, os frutos são do tipo baga, de tamanho, formato e cores variados (Figura 11). Devido ao sabor característico e agradável, os frutos maduros são extremamente apreciados e consumido *in natura*, ou podem ser armazenados congelados, e utilizados no preparo de sucos, picolés, sorvetes, ou ser utilizados na fabricação de refrescos, doces secos, compotas, e no preparo de vinho e vinagre. Além do aproveitamento do fruto para a alimentação, o látex a mangaba pode ser explorado na medicina popular, para tratar luxações, cólicas menstruais e hipertensão (Machado *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2012).

O látex da mangaba pode funcionar como excelentes filmes protetores de feridas, no tratamento de acne, verrugas, doenças relacionadas com bursite e inflamações. Os efeitos antiinflamatórios do látex da mangabeira foram associados a inibição de óxido nítrico, de prostaglandina e citoquinas (Marinho *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2011). Porém seu uso pela medicina popular deve ser realizado com cuidado, pois o mesmo pode apresentar potenciais patógenos fúngicos (Da Silva *et al.*, 2011).





Figura 11 - Mangaba (*Hancornia speciosa*) – (A) Mangabeira em cerrado típico, próximo à cachoeira do Tororó (DF); (B) ramos, folhas, botões florais e flores da mangabeira; (C) fruto maduro da mangaba. (Fonte: Fernando Tatagiba – Disponível em: <<http://www.biologo.com.br/plantas/cerrado/mangaba.html>>).

O extrato etanólico da polpa e folhas da mangaba apresenta atividades anti-sépticas e antimicrobiana, o que pode ser atribuído a altas concentrações de taninos (Costa *et al.*, 2008). O efeito anti-hipertensivo da infusão aquosa das folhas de mangaba tem sido associado a presença de rutina, que pode contribuir para o efeito vasodilatador das artérias (Ferreira *et al.*, 2007). A ação do extrato etanólico da polpa da mangaba como agente anti-inflamatório e quimiopreventivo foi avaliada *in vitro* em culturas de células, e foi verificada inibição de NF- $\kappa$ B, tal ação foi associada

com a presença dos compostos L-bornesitol, ácido quínico e rutina (Endringer, Pezzuto e Braga, 2009). O L-bornesitol, é um constituinte bioativo presente em alta concentração na mangaba, é um dos responsáveis pelo tratamento de diabetes e hipertensão (Pereira *et al.*, 2012). Os relatos do extrato hidroalcoólicas da casca de mangaba no efeito positivo no tratamento da gastrite, hipertensão, doenças inflamatórias, hepáticas e pulmonares, diabetes, perda de peso, dermatites, foram relacionados a presença de catequinas, ácido clorogênico, catequinas e proantocianidinas (Moraes *et al.*, 2008).

A análise de micronutrientes da mangaba apresentou boa fonte de ferro (7,9 mg/ 100 g de fruto seco), cálcio (130 mg/ 100 g de fruto seco), potássio (1030 mg/ 100 g de fruto fresco) e manganês (1,5 mg/ 100 g de fruto seco) (De Oliveira *et al.*, 2006). Outros achados relacionados aos teores de micronutrientes na mangaba descrevem que a polpa fresca de mangaba constitui uma boa fonte de ferro (0,4 a 3,4 mg/ 100 g), manganês (0,6-6,4 mg/ 100 g), zinco (0,4 a 4,4 mg/ 100 g), cálcio (11,3 mg/ 100 g) e vitamina C (33-71 mg/ 100 g) (Embrapa, 2006; Marin, Siqueira e Arruda, 2009). Vale ressaltar que a associação do ferro com a vitamina C é uma característica importante na composição da fruta, uma vez que esta vitamina aumenta a biodisponibilidade de ferro, e pode ser uma boa fonte desse mineral para populações carentes (Embrapa, 2006). A mangaba apresenta alto teor de ácido ascórbico quando comparada com frutas cítricas (Carnelossi *et al.*, 2009). São descritos pequenos teores de lipídios (0,3-1,5%), contudo esses são compostos predominantemente por ácido palmítico (29%); oléico (12%), linoléico (18%) e linolênico (8%), mas são insuficientes para a extração comercial dos mesmos (Almeida, 1998).

O extrato etanólico da polpa da mangaba foi descrita com significativa capacidade antioxidante, analisada pela metodologia de DPPH, o seu potencial antioxidante foi maior que o do açaí. Tal atividade foi atribuída principalmente pela presença de vitamina C e flavonóides (Rufino *et al.*, 2009). Alguns compostos voláteis foram identificados na polpa de mangaba, e foram relacionados com a atividade antioxidante do fruto (Sampaio e Nogueira, 2006).

### 2.1.12 Tucum-do-Cerrado (*Bactris setosa* Mart.)



Figura 12 - Tucum-do-Cerrado (*Bactris setosa* Mart.) – (A e B) Palmeira madura do tucum-do-Cerrado; (C) tronco do tucum-do-Cerrado; (D) Fruto verde do tucum-do-Cerrado; (E e F) Fruto maduro do tucum-do-Cerrado. Disponível em: <http://www.arvores.brasil.nom.br/new/palmeiratucum/index.htm> >

A *Bactris setosa*, conhecida no Brasil como tucum do brejo, coco de tucum, tucum bravo ou simplesmente tucum-do-Cerrado, pertence a família *Palmae* (Duarte *et al.*, 2012). É uma palmeira arbustiva, tem entre 2 a 4,5 m de altura, cespitosa (caule aglomerados), com 2 a 9 caules por touceira. As folhas, 2 a 8 por estipe (caule aéreo), possuem acúleos (espinhos) de cor palha com a extremidade preta, distribuídos uniformemente na parte inferior das folhas e pecíolo (ligação das folhas com o caule) (Lima e Soares, 2003). Desenvolve-se melhor em terrenos alagadiços e com meia-sombra, mas é encontrada também em áreas de solo bem drenado e

com pleno sol, onde forma touceiras mais discretas. Ocorre na restinga (depósitos arenosos) e floresta ombrófila (floresta fluvial) densa do Cerrado e da Mata Atlântica (Oliveira, 2009).

As inflorescências são interfoliares e ramificadas. Apresentam frutos obovóide, com dimensão de 1,2 a 2,1 cm de comprimento por 1,3 a 2,2 cm de largura, de coloração negro-arroxeadado ou marrom-escuro (Figura 12). Os frutos amadurecem principalmente no verão, são comestíveis, possuindo polpa fibrosa e succulenta, surgindo daí um dos seus nomes populares: uva-do-mato (Oliveira, 2009). As folhas são amplamente utilizadas na cultura indígena para a produção de redes, cordas de arco, linhas de pesca, artesanatos, entre outros, são muito resistentes, sendo impossível arrebatá-las com as mãos, e são consideradas superiores ao linho ou cânhamo, tanto por sua flexibilidade natural e resistência, como pela sua duração, mesmo quando exposta a qualquer condição climática (Duarte *et al.*, 2012). As sementes podem ser utilizadas no artesanato, para confecção de colares.

Segundo Lorenzi *et al.* (2006), o conteúdo de vitamina C em frutos de buriti (*Mauritia flexuosa*) e de tucum (*Bactris setosa*), é de 23,4 e 28 mg/ 100 g, respectivamente. Com exceção do teor de ácido ascórbico, não foram encontradas informações quanto a composição nutricional e compostos bioativos desse fruto. Portanto, pouco se conhece sobre sua composição, importância nutricional e farmacológica, o que reforça a importância em estudar esse fruto, a fim de conhecer seus possíveis efeitos benéficos ou citotóxicos e incentivar o consumo do fruto *in natura* ou processado pela população local (Lorenzi *et al.*, 2006).

## 2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS

Os compostos bioativos são definidos como metabólitos secundários produzidos nas plantas, representados por um grupo muito amplo de compostos, encontrados em diferentes partes das frutas e hortaliças. Esses compostos constituem o sistema de defesa dos vegetais, e estão envolvidos na adaptação a condições de estresse ambiental aos quais as plantas são submetidas, como a radiação ultravioleta, a ação de patógenos, queimadas e secas prolongadas, sendo citados como os compostos responsáveis pelos efeitos medicinais, ou tóxicos das plantas (De Mesquita *et al.*, 2009; Quideau *et al.*, 2011).

Os compostos bioativos variam na estrutura química e função, e embora normalmente ocorram em pequenas quantidades nas plantas, podem exercer função benéfica no organismo dos animais que os consomem (Silva *et al.*, 2003; Quideau *et al.*, 2011). Podem apresentar efeitos protetores no organismo humano, protegendo contra doenças crônicas (Williamson e Clifford, 2010). No entanto, a ingestão excessiva desses compostos pode promover efeitos tóxicos ao organismo, logo devem-se avaliar os efeitos fisiológicos dos bioativos associados a prevenção de doenças.

A relação entre dietas ricas em frutas e hortaliças, e a redução do risco de doenças crônicas esta associada a função antioxidante dos compostos bioativos, havendo uma correlação positiva entre a elevada atividade antioxidante e o conteúdo geral de diversos bioativos presentes nos alimentos (Quideau *et al.*, 2011). Os compostos bioativos são representados principalmente pelos terpenos e terpenóides (cerca de 25.000 compostos), alcalóides (aproximadamente 12.000 compostos) e compostos fenólicos (cerca de 8.000 compostos), desses últimos destacam-se os flavonóides e ácidos fenólicos (Vermerris e Nicholson, 2006).

### 2.2.1 Carotenóides

Os carotenóides são substâncias amplamente distribuídas na natureza. Representam um grupo de pigmentos naturais lipossolúveis sintetizadas principalmente em plantas, com tonalidades que variam do amarelo ao vermelho, responsáveis pela coloração de frutas e hortaliças. Comercialmente os carotenóides são utilizados como corantes em alimentos e em suplementos (Silva e Mercadante, 2002; Rodriguez-Amaya, 2010). Estruturalmente são moléculas de isoprenóides, geralmente constituídos por 8 unidades de isoprenos, formando uma longa cadeia de polieno. Podem conter de 2 a 15 duplas ligações conjugadas, o que permite muitas configurações *cis* e *trans* (Fraser e Bramley, 2004; Rodriguez-Amaya, Kimura e Amaya-Farfan, 2008).

Desde os primeiros relatos estruturais do  $\beta$ -caroteno (Figura 13) por Kuhn e Karrer em 1928–1930, aproximadamente 750 formas de carotenóides já foram descritas, e cerca de 20 novas estruturas de carotenóides estão sendo relatadas anualmente através da melhoria nos instrumentos de análise (Maoka, 2009). Embora sejam abundantes as formas de carotenóides presentes nos vegetais, apenas cerca de 50 destas são metabolizadas pelos organismos vivos como precursores de vitamina A, sendo o  $\beta$ -caroteno a forma com maior atividade pró-vitamínica (Englberger *et al.*, 2009). Grande parte da população humana depende de carotenóides dietéticos como a principal fonte da vitamina A (Rodriguez-Amaya, 2010).

Os carotenóides e seus metabólitos realizam diversas funções na natureza. Em animais e alguns microorganismos os carotenóides são convertidos em vitamina A, atuam na diferenciação celular, aumento do desempenho reprodutivo em animais e humanos através da ação do ácido retinóico. Podem reduzir o risco de formação de cataratas e doenças crônicas, os quais têm sido atribuídos a atividade antioxidante dos carotenóides, especificamente, à capacidade de sequestrar o oxigênio “singleto” e interagir com os radicais livres (Rodriguez-Amaya, Kimura e Amaya-Farfan, 2008).

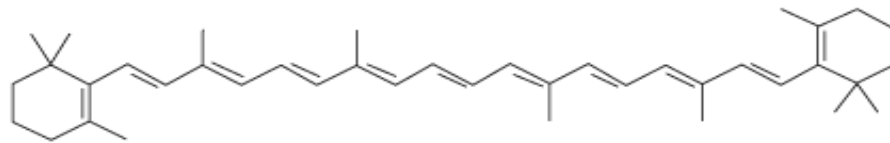


Figura 13-Fórmula estrutural plana do  $\beta$ -caroteno (Rodriguez-Amaya, 1999)

A ação antioxidante dos carotenóides acontece principalmente pela captação do radical peroxil ( $\text{RO}_2^\bullet$ ), e pelo sequestro da energia adicional do oxigênio “singleto”, o qual volta ao estado fundamental ( $\text{O}_2$ ). O carotenóide excitado resultante da reação, por apresentar baixa reatividade, não promove danos celulares, assim, auxiliam na prevenção das doenças crônicas por evitar a propagação em cadeia. As propriedades antioxidantes dos carotenóides fundamentam-se na estrutura química destes compostos, principalmente no sistema de duplas ligações conjugadas. A ação antioxidante também pode ser influenciada pela localização ou sítio de ação da molécula na célula, pelo potencial de interação com outros carotenóides ou antioxidantes, especialmente vitaminas C e E, pela concentração do carotenóide, e pela pressão parcial de oxigênio em sistemas biológicos (Silva e Mercadante, 2002). A  $\beta$ -criptoxantina e a zeaxantina foram mais efetivas como antioxidantes contra radical peroxil ( $\text{RO}_2^\bullet$ ) em membranas lipossomais quando comparados ao  $\beta$ -caroteno e ao licopeno, as diferenças observadas devem-se provavelmente à localização e orientação destes no interior da bicamada lipídica (Fraser e Bramley, 2004).

A composição de carotenóides nos alimentos é afetada por diversos fatores, como a variedade da espécie vegetal, parte do vegetal, grau de maturação, condições de cultivo e área geográfica da produção, condições de colheita, processamento e armazenamento (Silva e Mercadante, 2002). As hortaliças verdes, folhosas ou não, possuem um perfil qualitativo definido, sendo a luteína, o  $\beta$ -caroteno, a violaxantina e a neoxantina os carotenóides mais abundantes, e podem conter, em menor concentração, o  $\alpha$ -caroteno,  $\alpha$  ou  $\beta$ -criptoxantina, zeaxantina, anteraxantina e luteína-5,6-epóxido. Nas poucas raízes carotenogênicas predominam os carotenos, como na cenoura e batata doce, enquanto nos grãos predominam as xantofilas (Rodriguez-Amaya, Kimura e Amaya-Farfan, 2008)

Os níveis de carotenóides são considerados bons indicadores plasmáticos do consumo de frutas e hortaliças, e estão associados com a redução de risco das

doenças crônicas, provavelmente, devido ao poder antioxidante. Portanto, é de grande importância a identificação de novos alimentos fontes de carotenóides pró-vitamínicos, como forma de estimular o consumo pela população brasileira, e assim, evitar carências nutricionais relacionadas a vitamina A, segunda maior deficiência de micronutriente do mundo, além de prevenir doenças crônicas (Rodriguez-Amaya, 2010).

### **2.2.2 - Vitamina C (Ácido Ascórbico)**

O termo vitamina C é uma denominação genérica utilizada para todos os compostos que exibem atividade biológica qualitativa do ácido ascórbico. Refere-se às duas formas comuns biologicamente ativas, o ácido ascórbico e o ácido deidroascórbico (Cerqueira, Medeiros e Augusto, 2007). É um composto solúvel em água, sintetizado por vegetais e alguns animais a partir da glicose e galactose (Arruda e Siqueira, 2008). O ácido ascórbico é o composto mais associado a frutas e hortaliças, alimentos esses responsáveis por fornecer mais de 90% desta vitamina à dieta humana. É um nutriente essencial aos seres humanos, pois esses não são capazes de produzi-lo, e também por desempenhar uma série de funções biológicas importantes no organismo (Levine, Padayatty e Espey, 2011; Traber e Stevens, 2011).

Os efeitos promotores de saúde relacionados a vitamina C podem ser atribuídos às funções biológicas de co-fatores enzimáticos e antioxidante hidrossolúvel (Traber e Stevens, 2011). Desempenham ainda funções relacionadas ao sistema imune, formação de colágeno, redução do nível de colesterol, inibição de nitrosaminas. É necessário à prevenção do escorbuto e manutenção da saúde da pele, gengivas e vasos sanguíneos (Arruda e Siqueira, 2008). Também é importante na absorção do ferro dietético, pela capacidade de reduzir a forma férrica ( $Fe^{3+}$ ) a ferrosa ( $Fe^{2+}$ ), propiciando melhor absorção do ferro não-heme no trato gastrointestinal (Cerqueira, Medeiros e Augusto, 2007).

A importante função de antioxidante do ácido ascórbico favorece a redução do risco de arterosclerose, doenças cardiovasculares e algumas formas de câncer



(Lee e Kader, 2000). Tal funcionalidade está relacionada a potente característica como agente redutor da molécula, capaz de reduzir as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio em diferentes partes do organismo, como também é capaz de regenerar o  $\alpha$ -tocoferol, e assim estabilizar ou eliminar as moléculas radiculares, protegendo contra a lipoperoxidação (Lee e Kader, 2000; Arruda e Siqueira, 2008; Levine, Padayatty e Espey, 2011).

Um estudo caso-controle verificou uma associação positiva entre a ingestão frequente de frutas e hortaliças e a redução das lesões intra-epiteliais de colo de útero em pacientes infectadas com o vírus de papiloma humano (HPV). O estudo mostrou que a redução do risco de desenvolver estas lesões estava associado com o consumo de mamão e laranja no mínimo uma vez por semana, e tal proteção foi associada ao conteúdo de vitamina C, luteína/zeaxantina e beta-criptoxantina (Siegel *et al.*, 2010).

A figura 14 ilustra os produtos de oxidação do ascorbato por perda de um elétron formando o radical ascorbila, este radical quando novamente oxidado por perda de mais um elétron origina o ácido dehidroascórbico. Devido a baixa reatividade do radical ascorbila, comparado as duas outras formas, o ácido ascórbico pode ser caracterizado como um potente antioxidante capaz de eliminar espécies altamente reativas e formar um radical de baixa reatividade. O radical ascorbila pode ser convertido em ácido ascórbico através de reações dependentes de NADH, ou por dismutação de duas moléculas do radical em uma de ascorbato e uma de ácido desidroascórbico (Traber e Stevens, 2011). O radical ascorbila não é prontamente reduzido, e pode permanecer até 2 horas no plasma *ex vivo*. Em situação de estresse oxidativo, os níveis do radical ascorbila são elevados; assim, este radical tem sido usado como indicador de estresse oxidativo em fluídos corpóreos (Cerqueira, Medeiros e Augusto, 2007).

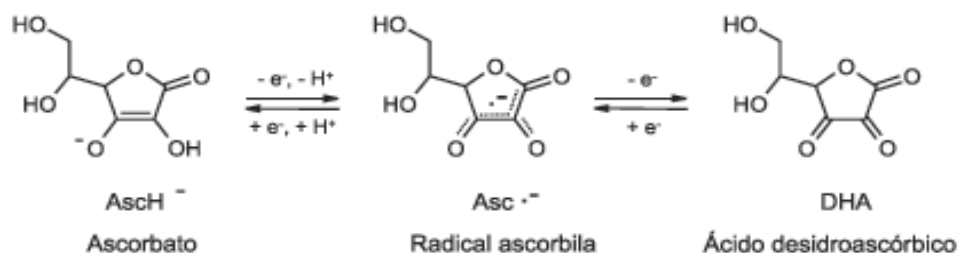


Figura 14 – Oxidação do ácido ascórbico formando radical ascorbila (Asc) e o ácido desidroascórbico (DHA) (Cerqueira, Medeiros e Augusto, 2007)

De acordo com Franco (1999), as fontes de ácido ascórbico são classificadas em elevadas 100 a 300 mg/ 100 g de fruto, médias 50 a 100 mg/ 100 g e muito baixas 25 a 50 mg/ 100 g (Franco, 1999). Segundo as ingestões dietéticas de referências (DRIs) a recomendação diária de vitamina C é 13 a 120 mg/ dia, e a ingestão máxima tolerável é 400 a 3.000 mg/ dia, de acordo com a faixa etária, sexo e estado fisiológico (Agriculture, Health e Services, 2010). Em um estudo foi avaliado o teor de ácido ascórbico em sete polpas de frutos do Cerrado *in natura* e congelados por 30 dias, verificaram que a quantidade de vitamina C aumentou com o grau de maturação do fruto, e o congelamento diminuiu as perdas desse nutriente (Silva, Martins e Deus, 2009). A lobeira foi classificada como fonte média de vitamina C (100,5 mg/ 100 g) valor próximo ao da fruta do conde (115 mg/ 100 g), enquanto a mangaba, araticum e cagaita (26, 34 e 38,4 mg/ 100g, respectivamente) foram consideradas como fontes baixas de vitamina C, equiparando-se ao umbu (26,0 mg/ 100 g), tomate (36,0 mg/ 100 g), morango (37,0 mg/ 100 g), laranja-pêra (40,9 mg/ 100 g) e acerola (940 mg/ 100 g) (Franco, 1999).

### 2.2.3 Compostos Fenólicos

Compostos fenólicos são metabólitos secundários das plantas, representados por um grande grupo de moléculas que desempenham importante papel na fisiologia dos vegetais. Incluem moléculas envolvidas na pigmentação, sabores e na sinalização dos vegetais. Contribuem com o crescimento, reprodução, desenvolvimento e defesa das plantas, além de apresentarem propriedades bioativas, e contribuírem com características sensoriais e antioxidantes. Tais compostos podem atrair ou repelir predadores externos, além de atuarem na defesa contra radiação ultravioleta, protegendo as plantas, e possibilitando o seu desenvolvimento (Domenech-Carbo *et al.*, 2009; Ignat, Volf e Popa, 2011).

Os compostos fenólicos são derivados da via bioquímica do ácido chiquímico ou ácido mevalônico e de aminoácidos aromáticos, fenilalanina e tirosina (Naczek e Shahidi, 2004). A fenilalanina origina o ácido cinâmico pela ação da fenilalanina amonialiase, que por sua vez origina o fenol propanóide, e formam as diferentes

classes de compostos fenólicos. A enzima responsável pela formação do ácido cinâmico está sob controle de vários fatores externos e internos, tais como hormônios, níveis de nutrientes, infecções fúngicas, lesões e luminosidade a qual os vegetais estão expostos (Naczki e Shahidi, 2004).

Nas plantas, os fenólicos raramente estão na forma livre, geralmente são encontrados como ésteres ou glicosídeos, ligados a um número de diferentes açúcares, como glicose, galactose, raminose, arabinose, xilose e rutinose (Justesen, Knuthsen e Leth, 1998). Os compostos fenólicos também podem apresentar acilações com ácidos fenólicos ou alifáticos, o que pode dificultar a identificação dos compostos nas plantas. Tal característica torna necessário procedimentos específicos para isolar os compostos de interesse (Chirinos *et al.*, 2008).

Existe uma grande variedade de compostos fenólicos, sendo esses classificados em dois grandes grupos, os flavonóides e os não flavonóides (Figura 15). Os flavonóides apresentam estrutura química descrita como  $C_6-C_3-C_6$ , formadas por dois anéis aromáticos (anel A e B), unidos por uma ponte de 3 carbonos e um átomo de oxigênio, geralmente sob a forma de um anel heterocíclico (anel C), denominado núcleo flavano. O anel C pode sofrer variações químicas e diferenciar os flavonóides. Dentro do grupo de flavonóides estão os flavonóis, flavonas, flavanóis, flavanonas, antocianidinas, antocianinas e isoflavonóides, essa classificação é feita de acordo com o grau de hidrogenação e substituição do heterociclo oxigenado (Heim, Tagliaferro e Bobilya, 2002; Ignat, Volf e Popa, 2011).

Os não flavonóides, também chamados comumente de ácidos fenólicos, são derivadas do composto  $C_6-C_1$ , contém um anel aromático com pelo menos uma hidroxila e diversos grupos funcionais (aldeído, álcool ou ácido) que podem formar ésteres com ácidos orgânicos ou unir-se a açúcares. São compostos pelos ácidos benzóico e cinâmico. Outros compostos de natureza fenólica são os estilbenos, lignanas, e de forma polimerizada, os taninos e ligninas (Pietta, 2000).

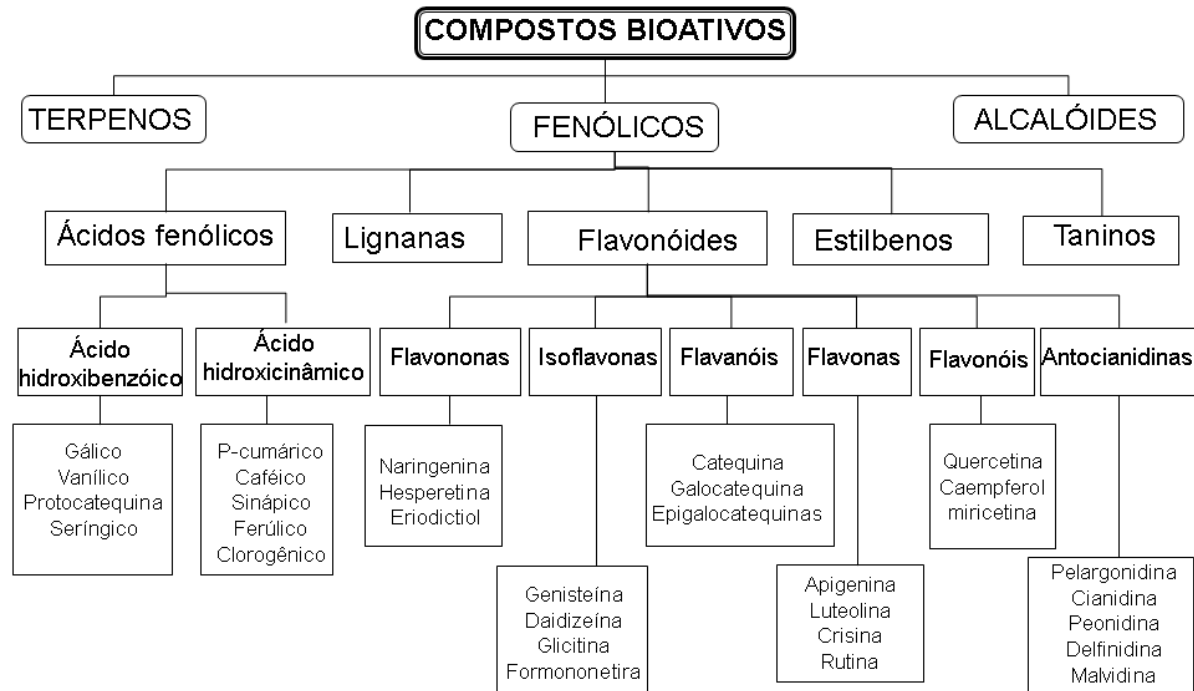


Figura 15 – Esquema de classificação dos compostos bioativos.

Os compostos fenólicos são encontrados em uma grande variedade de alimentos, tais como frutas, hortaliças, nozes, sementes, flores e cascas. Estão presentes em alguns alimentos popularmente consumidos, como cacau, maçãs, café, vinho, chocolates, cebola, azeite, e também em bebidas, alimentos industrializados (Valls *et al.*, 2009) e frutos do Cerrado (Siqueira, E. M. *et al.*, 2013). Cada vez mais esses compostos são reconhecidos pelo seu valor nutricional, visto que apresentam efeito positivo para a saúde. O consumo desses na dieta tem sido associado a prevenção e controle de doenças crônicas. Atuam como elementos anticarcinogênico (Bravo, 1998); na manutenção da glicose sanguínea (Lenquiste *et al.*, 2012); como anti-inflamatório (Flores *et al.*, 2012), anti-ulcerativo (Bravo, 1998; Da Silva *et al.*, 2011); apresentam ainda efeitos antibióticos, no controle de infecção (Vilela *et al.*, 2009), alergias e efeito estrogênico (Endringer, Pezzuto e Braga, 2009). Podem desempenhar funções antioxidantes, e muitos desses efeitos protetores citados estão relacionados com tal função, que protege o organismo contra danos oxidativos (Valls *et al.*, 2009).

Diversos são os mecanismos de ação antioxidante dos compostos fenólicos, entre esses estão: doação de átomo de hidrogênio de um grupamento hidroxila do anel aromático aos radicais livres, atuando como agentes redutores; sequestram

moléculas radicalares; quelam metais divalente, e também inibem a atividade de enzimas oxidativas, e assim reduzem o dano oxidativo no organismo. Também bloqueiam a ação de enzimas específicas que causam inflamação, modificam rotas metabólicas das prostaglandinas, protegem contra a aglomeração plaquetária e inibem a ativação de carcinógenos (Valko *et al.*, 2007). A atuação dos compostos fenólicos como antioxidantes depende da concentração e do tipo de compostos presentes nos alimentos, podendo ainda existir sinergismo ou antagonismo entre diferentes compostos. Um dos principais determinantes da atividade antioxidante dos compostos fenólicos estão relacionados ao grau de hidroxilação e a posição dos grupos hidroxila na molécula (Hassimotto, Genovese e Lajolo, 2005).

O tipo, concentração e variedade de compostos fenólicos nas plantas são muito diversificados, e estão relacionados com o estágio de desenvolvimento da planta, e com os mecanismos de defesa contra os ataques do meio externo (Naczki e Shahidi, 2004). Existe uma associação positiva entre a concentração de compostos bioativos e o número de agressões externas sofridas pela planta, isso pode explicar a alta capacidade antioxidante identificada em estudos preliminares com frutos do Cerrado em nosso laboratório (Lemos *et al.*, 2012; Siqueira *et al.*, 2012), visto que, o Cerrado é um ambiente que sofre com períodos de secas intensas, queimadas, radiação ultravioleta e patógenos.

Também há interesse no estudo dos compostos fenólicos para aplicação industrial, relacionados com as suas propriedades organolépticas, como cor, adstringência e sabor (Naczki e Shahidi, 2004). Esses compostos também podem, em parte, substituir alguns aditivos alimentares sintéticos, como os corantes artificiais, que nos últimos anos foram limitados em muitos países devido à sua toxicidade e carcinogenicidade (Valls *et al.*, 2009; Ignat, Volf e Popa, 2011). A indústria alimentícia lançou inúmeros produtos funcionais relacionados com o maior teor de polifenóis presentes ou adicionados aos alimentos, quando comparados aos tradicionais (Valls *et al.*, 2009). Esses alimentos compreendem leites enriquecidos com isoflavonas de soja, chocolates enriquecidos com procianidinas, bebidas com antocianinas ou chá. Os fenólicos também são explorados pela indústria química e farmacêutica para produção de cosméticos, medicamentos e suplementos nutricionais (Valls *et al.*, 2009).

A identificação de compostos fenólicos aumentou bastante nos últimos anos, e anualmente um grande número de novas estruturas são identificadas. Isso acontece devido ao desenvolvimento de novas técnicas de separação, isolamento e identificação, proporcionando melhor compreensão dos mecanismos que regulam as atividades bioativas dos alimentos. Há várias dificuldades relacionadas a identificação de polifenólicos, pois inclui um grande número de famílias, com diferentes propriedades e estruturas químicas, além da alta instabilidade. Porém, nenhum método universal pode ser utilizado para a identificação e quantificação de todos os compostos fenólicos, sendo necessário abordagens diferentes de acordo com as características dos alimentos e os polifenóis de interesse (Valls *et al.*, 2009).

#### 2.2.3.1 Flavonóides

Os flavonóides se dividem em diferentes classes de compostos de acordo com as suas variações químicas do “anel C”, enquanto as substituições nos anéis A e B dão origem aos diferentes compostos dentro de cada classe dos flavonóides (Figura 16) (Pietta, 2000). Assim, os flavonóides podem compartilhar a mesma estrutura primária, e também algumas atividades biológicas, embora apresentem atividades distintas. Esses compostos encontram-se classificados em flavononas (naringerina), isoflavonas (genisteína, daidiceína), flavanóis (catequina), flavonas (apigenina, luteolina), flavonóis (caempferol, quercetina), antocianidinas (cianidinas, pelargonidina, delfinidina peonidina e malvidina) e antocianinas (antocianidinas glicosiladas) (Vermerris e Nicholson, 2006). A denominação da classe de flavonóides amarelos, englobam os flavonóides como as chalconas, auronas, naringerina e alguns flavonóis (Pietta, 2000).

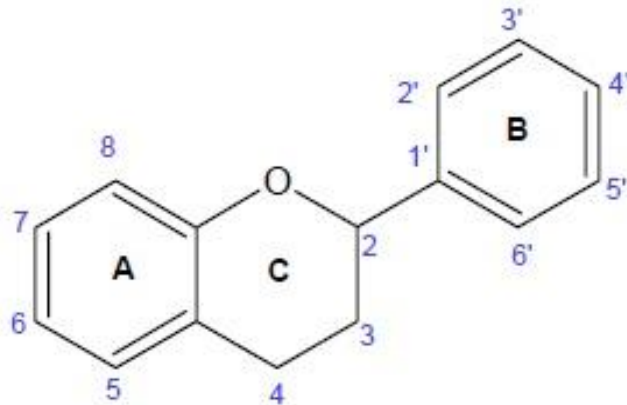


Figura 16 – Estrutura básica dos flavonóides (Vermerris e Nicholson, 2006)

### 2.2.3.1.1 Flavononas

Flavononas ou flavanonas são compostos caracterizados pela presença de anel heterocíclico com 6-membros. Apresentam três carbonos saturados, não há ligação entre carbonos insaturado, e contém ainda um átomo de oxigênio na posição C<sub>4</sub>, o grupo cetona (Figura 17). Em geral, são compostos glicosilados de um dissacarídeo em C7 (Valls *et al.*, 2009). Estão presentes em concentrações elevadas nas frutas cítricas, e também em tomates e certas ervas aromáticas, tais como hortelã. Os principais representantes do grupo são as agliconas naringenina, hesperetina e eriodictiol (Valls *et al.*, 2009).

As flavononas estão associadas tradicionalmente com efeitos laxante e tratamento de escaras, feridas e dores abdominais. Um estudo realizado com extratos metanólicos do rizoma seco e moído da flor-da-ressurreição (*Kaempferia rotunda*) mostrou efeito antimutagênico em enterócitos de ratos machos Balb-c (Atun *et al.*, 2013).

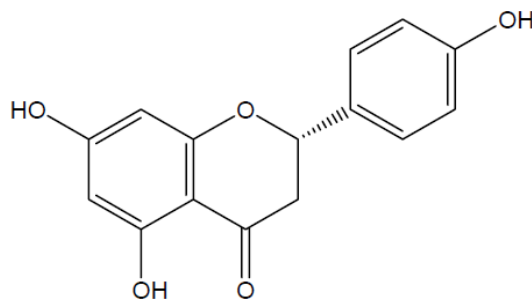


Figura 17 – Estrutura básica de uma flavanona (Valls *et al.*, 2009)

### 2.2.3.1.2 Isoflavonas

As isoflavonas possuem semelhanças estruturais com os hormônios estrogênicos. Todos eles tem estrutura  $C_6-C_3-C_6$ , mas o anel B está em uma posição diferente do oxigênio heterocíclico (Figura 18). São compostos encontrados em muitas plantas, e apresentam efeitos biológicos importantes a saúde, auxiliando na prevenção ou tratamento de algumas doenças, tais como aterosclerose e câncer (Klejdus *et al.*, 2007). Alguns efeitos fisiológicos são atribuídos às suas semelhanças estruturais com os estradióis, e são por vezes referidos como fitoestrogênicos (Klejdus *et al.*, 2007). São representados pelos compostos genisteína, daidizeína, glicitina e formononetira (Liu, 2004).

A identificação de derivados das isoflavonas, assim como dos demais flavonóides, cresce com o desenvolvimento de novas tecnologias e a melhor compreensão das suas características químicas. Na casca do caule de *Platyclaphium voense*, uma leguminosa encontrada na África, foram isoladas e caracterizadas quatro novas isoflavonas, denominadas de platyusoflavanona A, B, C e D. Os pesquisadores ainda verificaram atividade antibacteriana em *Mycobacterium tuberculosis*, porém verificaram efeitos tóxicos em ensaios celulares (Gumula *et al.*, 2012).

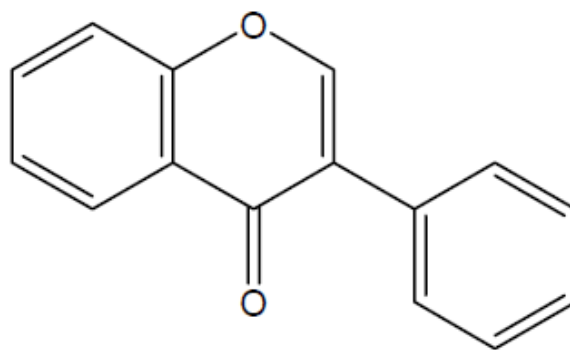


Figura 18– Estrutura básica das isoflavonas (Vermerris e Nicholson, 2006)



### 2.2.3.1.3 Flavanóis

Os flavanóis são compostos sintetizados a partir dos flavanonóis através da redução do grupo cetona na posição 4 do anel C. Apresentam características de saturação do anel heterocíclico. Estão presentes principalmente em madeiras e frutas, e desempenham um papel importante na formação de taninos condensados. Os compostos mais importantes desse grupo encontrados nos alimentos são as catequinas, galocatequinas, epigalocatequinas, epicatequina-3-galato e epigalocatequina-3-galato (Figura 19) (Vermerris e Nicholson, 2006).

Ao contrário da maioria dos flavonóides, os flavanóis estão presentes como agliconas livres, ou polímeros de agliconas, ou seja, não são moléculas glicosiladas. A molécula de catequina, a mais comum entre os flavanóis, também pode ser encontrada na forma de ésteres de ácido gálico (Vermerris e Nicholson, 2006). As catequinas são compostos com atividade antioxidante encontrados principalmente em frutas vermelhas, cacau e chá verde, sendo mais abundantes nas partes externas das plantas, como na casca das frutas. Estão associadas a prevenção do câncer (Nile e Park, 2013).

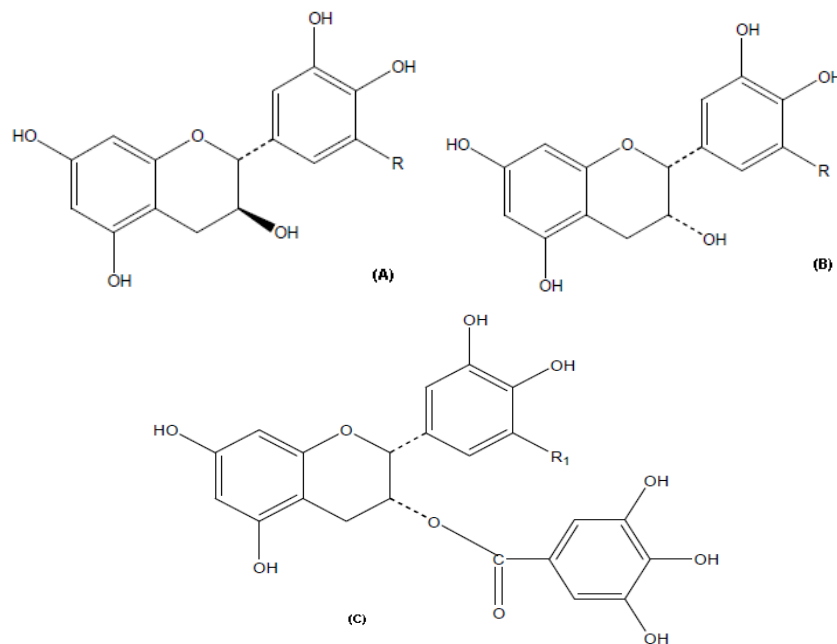


Figura 19 – Estrutura química dos flavanóis: Catequina: R = H; Galocatequina: R = OH. (B) epicatequina: R = H; Epigalocatequina: R = OH. (C) Epicatequina-3-galato: R<sub>1</sub>=H; Galato de epigalocatequina: R<sub>1</sub> = OH (Vermerris e Nicholson, 2006, adaptado)

O cacau é reconhecido como importante fonte de flavanóis, e apresenta efeitos antioxidantes, antiinflamatórios, com benefícios para o sistema cardiovascular e neurocognitivo. Foram observados efeitos protetores do consumo de flavanóis a longo prazo sobre o comportamento e declínio cognitivo em modelos animais, e alguns estudos observacionais em humanos também parecem corroborar com essas descobertas (Nurk *et al.*, 2009). Acredita-se que os flavanóis absorvidos se acumulam na região do cérebro envolvidas com aprendizagem e memória, e atuam de duas formas principais: (1) interações diretas com cascatas celulares que promovem a neurogênese, produzindo proteínas neuroprotetoras e neuromoduladoras; e (2) melhoria do fluxo sanguíneo e angiogênese no cérebro (Sokolova *et al.*, 2013).

#### 2.2.3.1.4 Flavonas

As flavonas são conhecidas como deoxiantocianidinas não possuem hidroxila na posição C<sub>3</sub> (Figura 20). Essa classe é representada pelos compostos apigenina, luteolina, crisina e rutina (quercetina – 3- rutinosídeo). São encontrados principalmente em casca de frutas, vinho tinto, pimenta vermelha e na casca do tomate. Algumas flavonas como *primuletin*, crisina e luteolina possuem efeitos vasoconstritor, antioxidante e anti-carcinogênico, respectivamente (Calderone *et al.*, 2004).

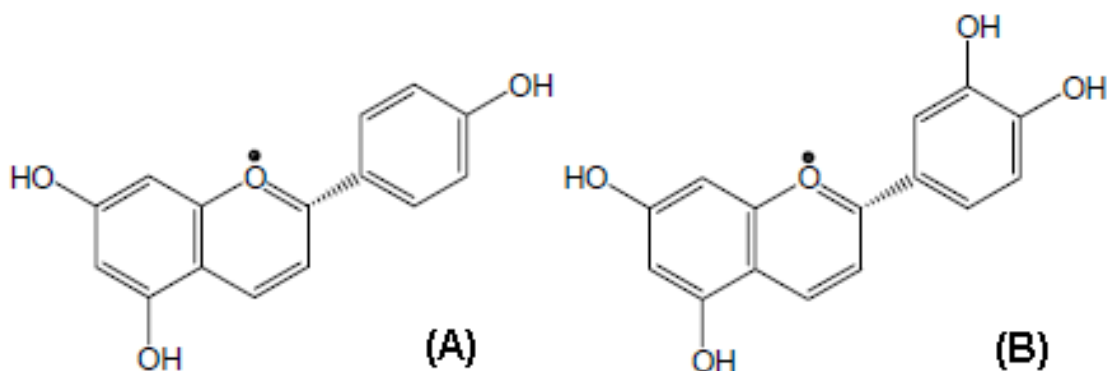


Figura 20– Estrutura química da apigenina e luteolina (Vermerris e Nicholson, 2006)

As flavonas são compostos que apresentam atividade antimicrobiana, e podem ter aplicações na indústria de alimentos, atuando como conservantes (Wu *et al.*, 2014). Muitas plantas ricas nessa classe de compostos são usadas pela medicina tradicional Chinesa no tratamento de doenças antiinflamatórias, cardiovasculares e câncer. A luteolina é descrita na literatura por apresentar efeitos antihipertensivos, e sugerida para uso em tratamentos terapêuticos para hipertensão arterial (Lv *et al.*, 2013).

### 2.2.3.1.5 Flavonóis

A classe dos flavonóis é representada principalmente pela quercetina, caempferol e miricetina (Figura 21). Essa classe tem um grupo cetona no anel heterocíclico e uma ligação entre carbono insaturado, o que caracteriza quimicamente o grupo. Geralmente se apresentam como O-glicosídeos, sendo a D-glicose o resíduo de açúcar mais comum, e se apresenta normalmente na posição C<sub>3</sub>. Apresentam coloração amarelo-pálida, e são fracamente solúveis em água. Estão presentes frequentemente em flores e folhas dos vegetais, e também em frutas vermelhas (Vermerris e Nicholson, 2006).

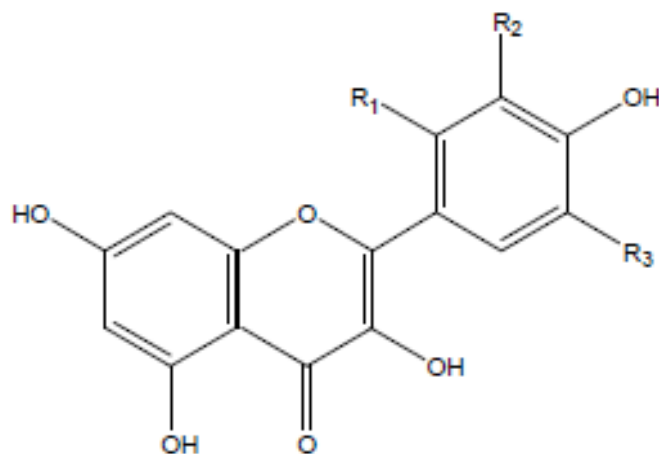


Figura 21 – Representação química dos flavonóis: campferol: R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub> = H, R<sub>3</sub> = H; quercetina: R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub> = OH, R<sub>3</sub> = H; (C) miricetina: R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub> = OH, R<sub>3</sub> = OH (Vermerris e Nicholson, 2006)

Uma meta-análise realizada nos bancos de dados do PubMed e EMBASE (*Biomedical Database*), para estudos realizados entre 1966 a agosto de 2013, forneceram o risco relativo estimado, com intervalo de confiança maior que 95% (RR>95% IC), para a associação entre consumo de flavonóis e a redução de acidente vascular cerebral. Incluiu oito estudos, com 280.174 participantes e 5.228 casos de acidente vascular cerebral. A análise indicou uma associação significativa entre o consumo de flavonóis e a redução de acidente vascular. Além disso, associaram o consumo de 20 mg/dia de flavonóis com a redução de 14% no risco dessa doença. As análises sugeriram uma associação inversa significativa entre o maior consumo de flavonóis e o risco de AVC entre homens, mas o mesmo não foi observado para mulheres. Os autores não explicaram essa diferença entre os sexos (Wang *et al.*, 2013).

O flavonol mais abundante nos vegetais é a quercetina, amplamente encontrado em frutas e hortaliças. Apresenta potente capacidade antioxidante, e está relacionada na medicina popular ao tratamento da gripe, ou com efeito diurético e anti-reumático. Também apresenta potenciais propriedades anticancerígenas, o que reforça o interesse na identificação de novos alimentos fontes de flavonóis (Dias *et al.*, 2013; Nile e Park, 2013).

#### 2.2.3.1.6 Antocianidinas e antocianinas

As antocianidinas representam uma classe de moléculas que possuem um anel *pirilium* (sistema heterocíclico com carbonos conjugados, e uma substituição de carbono por átomo de oxigênio positivamente carregado), encontradas na forma de aglicona. Estão presentes em tecidos vegetais coloridos, como folhas, pétalas de flores e frutos, as cores vão do rosa ao azul-violeta. Os principais compostos desse grupo são a pelargonidina (vermelho-alaranjado), cianidina (vermelho), peonidina (rosa vermelho), delphinidina (violeta azul), e malvidina (roxo), dessas, a mais comum é a cianidina. A coloração dos compostos é influenciada pelo pH do meio, pela presença de íons metálicos, e da combinação de açúcares, sendo que as diferentes

combinações de compostos podem resultar em diferentes cores dos vegetais (Figura 22) (Vermerris e Nicholson, 2006).

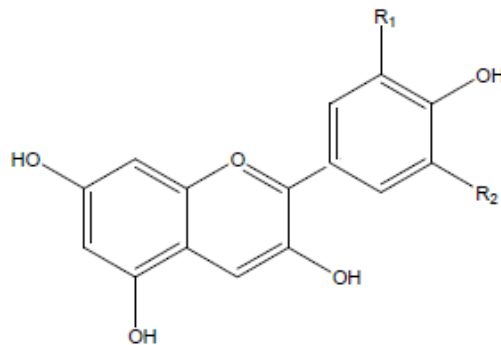


Figura 22 – Representação química das antocianidinas: cianidina:  $R_1 = \text{OH}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ; delphinidina:  $R_1 = \text{OH}$ ,  $R_2 = \text{OH}$ ; peonidina:  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ ; e malvidina  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = \text{OCH}_3$  (Vermerris e Nicholson, 2006)

As antocianinas são formas solúveis glicosiladas das antocianidinas. Esses açúcares geralmente são monossacarídeos (glicose, galactose, ramnose e arabinose), sendo o 3-glicosídeo o mais comum, ou ainda di ou oligossacarídeos, formados pela combinação de até quatro monossacarídeos (Giusti e Wrolstad, 2003). Esses açúcares conferem maior estabilidade e solubilidade às moléculas (Ignat, Volf e Popa, 2011). As diversas antocianinas se diferenciam pelo número de grupos hidroxílicos, grau de metilação destes grupos, natureza e número de açúcares ligados à molécula, e ainda em relação a posição dessas ligações, bem como no número de ácidos alifáticos ou aromáticos ligados aos açúcares da molécula de antocianina (Konczak e Zhang, 2004).

Assim como as antocianidinas, existem seis antocianinas predominante nas plantas: pelargonidina, cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina e malvidina, todas apresentam-se na natureza na forma glicosilada. Quando isoladas são altamente instáveis e muito susceptíveis a degradação (Giusti e Wrolstad, 2003). A estabilidade dessas moléculas podem ser afetadas pelo pH, temperatura de armazenamento, estrutura química, concentração, presença de luz ou oxigênio, e pelos tipos de solventes, além da presença de enzimas, proteínas e íons metálicos (Konczak e Zhang, 2004).

Antocianinas (do grego, anthos = flor, ciano = azul) são pigmentos coloridos que podem aparecer na coloração vermelha, roxa ou azul, de acordo com a estrutura química, pH do meio e presença de íons metálicos. São obtidos

naturalmente em tecidos vegetais, incluindo as folhas, caules, raízes, flores, e frutas, e encontrados facilmente na dieta (frutas vermelhas, romãs, ameixas, cerejas, berinjelas, beterrabas ou batatas rosa). Tem sido o grupo de flavonóides mais estudado nos últimos tempos devido a coloração característica, as propriedades farmacológicas, e funções biológicas desempenhadas, tais como atividades antioxidantes, anti-inflamatórios, e efeitos benéficos a saúde contra a hipertensão arterial, prevenção de câncer e síndrome metabólica (Kong *et al.*, 2003; Valls *et al.*, 2009).

A atividade antioxidante das antocianinas está relacionada com a capacidade da molécula em doar hidrogênio para compostos reativos, impedindo assim uma reação em cadeia. Esta atividade antioxidante depende do número e do arranjo dos grupos hidroxilas, como também da extensão e elétrons substituintes na estrutura do anel (Iversen, 1999). Antocianinas e seus derivados formados por reações com outros componentes do vinho são os principais pigmentos do vinho tinto, e mostram efeitos benéficos *in vitro* em reações envolvendo geração de espécies reativas. Esses compostos são capazes de reduzir rapidamente espécies oxidativas e estabilizá-las, além disso, apresentam um núcleo catecol (derivados de cianidinas), capaz de quelar metais de transição envolvidos no desenvolvimento do estresse oxidativo (Halliwell e Gutteridge, 2007). Os compostos formados no vinho durante o envelhecimento (antocianinas e catequinas), mesmo pouco biodisponíveis, demonstram um potencial protetor *in vivo* contra o estresse oxidativo no trato gastrointestinal, mais especificamente, inibem a peroxidação de ácidos graxos poliinsaturados da dieta. O forte poder redutor foi demonstrado também pelo teste de DPPH e peroxidação lipídica induzida por ferro heme em soluções levemente ácidas, evidenciando uma forte capacidade de doar elétrons e estabilizar a reação oxidativa (Goupy *et al.*, 2009).

Em um estudo realizado com casca de jaboticaba, a qual possui alto teor de antocianinas (532,9 mg/100 g de peso fresco), mostrou efeito positivo do consumo de 1 a 2% de casca liofilizada por dia sobre o potencial antioxidante plasmático de ratos machos. No entanto, não foram observados efeitos semelhantes com o consumo de 4% de casca de jaboticaba, ou com a administração de casca liofilizada por gavagem (quantidade de casca equivalente a 7 mg de antocianinas/100 g de peso corporal). Esses resultados sugerem que a ingestão excessiva de antocianinas

pode reduzir a atividade antioxidante plasmática em ratos, e portanto, a quantidade a ser consumida precisa ser bem estabelecida para humanos (Leite *et al.*, 2011).

Além dos potenciais efeitos benéficos a saúde, as antocianinas também tem sido usadas pela indústria como potenciais substitutos para os corantes alimentares proibidos, utilizados na produção de bebidas, molhos, doces e produtos de confeitaria e panificação, pois tem cores brilhantes e atraentes, e são facilmente solúveis em água, conseqüentemente permitem a incorporação em alimentos com característica hidrofílica (Kammerer, Carle e Schieber, 2004; Valls *et al.*, 2009; Ignat, Volf e Popa, 2011). Porém, uma das maiores dificuldades da utilização pela indústria alimentar desses compostos é a instabilidade de acordo com o meio, enquanto a indústria farmacêutica, muitas vezes, utiliza esses compostos como corantes de medicamentos ou xaropes, e apresentam estabilidade quanto a coloração.

#### 2.2.3.2 Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos constituem cerca de um terço dos fenóis dietéticos, podem estar presentes nas plantas nas formas livres ou conjugadas (Robbins, 2003). Os fenóis conjugados podem estar ligados a componentes das plantas através de ligações éster, éter ou acetal (Zadernowski, Czaplicki e Naczki, 2009). Os ácidos fenólicos se dividem em dois sub-grupos, os ácidos hidroxibenzóicos e os hidroxicinâmicos (Figura 23). Entre os ácidos hidroxibenzóicos estão o ácido gálico, o p-hidroxibenzóico, o ácido protocatecúico, estes tem em comum a estrutura C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>. Os ácidos hidroxicinâmicos, são compostos aromáticos com uma cadeia lateral de três-carbono (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>), entre esses os representantes mais comuns são o ácido caféico, o ferúlico, o p-cumárico e o ácido sinápico (Bravo, 1998). As diversas formas dos ácidos fenólicos são facilmente degradadas, dificultando sua identificação por uso das técnicas de cromatografia, portanto é importante avaliar as adequadas condições de extração e as diferentes susceptibilidade dos compostos a degradação no meio (Ross, Beta e Arntfield, 2009).

O ácido gálico e seus derivados são potentes antioxidantes e apresentam capacidade três vezes maior que a vitamina C ou tocoferol. São facilmente

encontrados em frutas, chá preto e vinho tinto. Esses compostos inibem a proliferação de células carcinogênicas da próstata. Apresentam efeito citotóxico *in vitro* contra várias linhagens de células tumorais, causando morte celular, além disso, apresentam efeitos protetores em células hepáticas de animais experimentais. Grande parte desses estudos verificam efeitos positivos em doses muito elevadas, não sendo capaz de se obter pela dieta (Nile e Park, 2013).

O ácido caféico e seus derivados são ácidos fenólicos encontrados relativamente em altas concentrações em muitas plantas como um intermediário da biossíntese das ligninas. É encontrado no mel de abelhas, o qual apresenta propriedades anticancerígena, antiinflamatória e antioxidante. Apresentaram efeitos protetores contra o câncer sem afetar as células saudáveis, o que torna esse composto interessante para o tratamento de pacientes com câncer, ou ainda como alimento preventivo (Sanderson *et al.*, 2013).

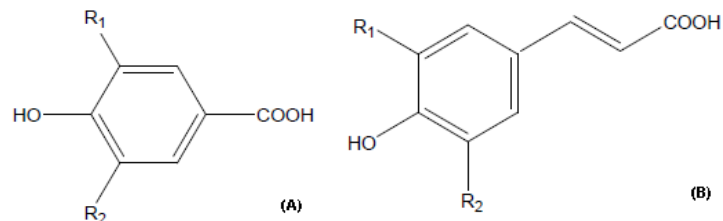


Figura 23- Ácidos fenólicos: (A) ácidos hidroxibenzoíco; (B) ácidos cinâmicos (Vermerris e Nicholson, 2006).

### 2.2.3.3 Taninos

Os taninos são compostos de alto peso molecular, constituem o terceiro grupo mais importante dos fenólicos. São agrupados de acordo com suas características estruturais e propriedades químicas. Apresentam capacidade de se ligar e precipitar proteínas, inativando-as, ou ainda de se ligar a alguns minerais essenciais, reduzindo sua disponibilidade para absorção (Khanbabaee e Van Ree, 2001).

São utilizados na medicina natural oriental como anti-inflamatório, antioxidante e anti-séptico, além de ser utilizado no tratamento de algumas doenças, incluindo diarreia e os tumores no estômago ou duodeno (Khanbabaee e Van Ree, 2001). Outra aplicação dos taninos é na indústria de alimentos, na produção de



vinho e cerveja, onde são usados para precipitar as proteínas; e também são usados comercialmente como corantes e adstringentes. Os taninos podem ser subdivididos em taninos condensados, complexos e hidrolisáveis (Vermerris e Nicholson, 2006).

Os taninos condensados, conhecidos como proantocianidinas, são polímeros de flavonóides que constituem os flavanóis (catequinas e epicatequinas) (Figura 24). A condensação e polimerização em taninos acontece por ação de ácidos ou enzimas, e o mecanismo exato ainda não foi compreendido (Ignat, Volf e Popa, 2011). Sabe-se que o grau de polimerização está relacionado com a capacidade de precipitação das proteínas (Wu e Lu, 2004), tal fato é de grande importância na produção de vinhos, em que um alto teor de taninos condensados, especialmente em vinhos tintos, resultam em sensação de “ressecamento na boca” (Vermerris e Nicholson, 2006). Os taninos quando aquecidos e em soluções alcoólicas acidificadas sofrem auto-oxidação produzindo pigmentos vermelhos de antocianidinas (Vaccari, Soccol e Ide, 2009).

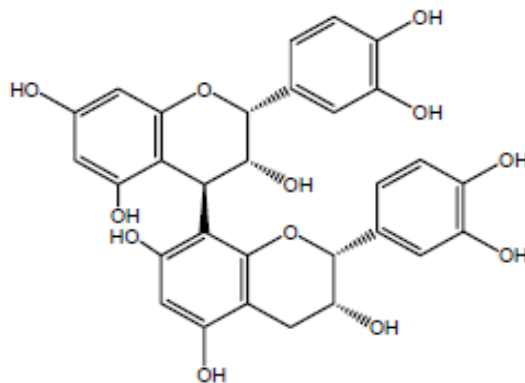


Figura 24 – Estrutura química de taninos condensados (Vermerris e Nicholson, 2006)

Os taninos hidrolisáveis constituem o maior grupo de taninos conhecidos, são encontrados em alimentos como castanhas, frutas vermelhas e vinho. São derivados dos ácido gálico e ácido elágico, e se dividem em galotaninos e elagiotaninos, respectivamente. Os galotaninos são ésteres simples, e se refere a um composto com um núcleo poliol, com múltiplos grupos hidroxila (Figura 25), são encontrados com abundância em folhas e frutos dos vegetais (Khanbabaee e Van Ree, 2001). Os elagiotaninos estão presentes em muitas plantas utilizadas como ervas medicinais e na fabricação de bebidas (Khanbabaee e Van Ree, 2001; Vermerris e Nicholson, 2006).

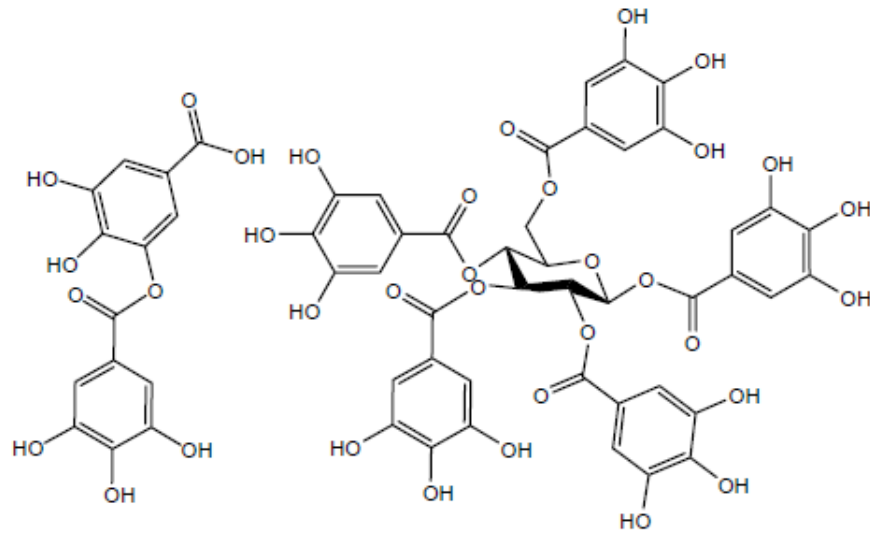


Figura 25– Estrutura química dos taninos hidrolisáveis (Vermerris e Nicholson, 2006)

Os taninos complexados são taninos em que uma unidade de catequina está ligada glicosidicamente a uma unidade de galotanino ou de elagitanino, formando estruturas muito complexas. Este tanino pode ser formado durante o processo de envelhecimento de vinho tinto, a partir das catequinas e elagitaninos originárias das uvas, e da vescalagina, originária das barricas de carvalho (Vermerris e Nicholson, 2006; Quideau *et al.*, 2011).

O ácido elágico é o composto fenólico mais abundante, entre todos os fenólicos, nos vegetais, compreende 51% do total de fenólicos, e pode existir na forma livre, glicosilada ou ligada a taninos, formando os elagitaninos. Sua identificação é facilitada pela hidrólise ácida, tendo sido identificado em frutas e nozes. É um composto que apresenta atividade antioxidante, antiviral, e proterora contra o câncer de cólon, pulmão e esôfago, o que causa maior interesse em estudar esses compostos. A associação de flavonóides e derivados de ácido elágico são os principais fatores associados aos efeitos benéficos a saúde do consumo de frutas vermelhas (Nile e Park, 2013).

#### 2.2.3.4 Estilbenos e lignanas

Estilbenos são estruturas que tem uma cadeia  $C_6-C_2-C_6$ , e estão associados ao cerne das árvores. Pequenas quantidades de estilbenos estão presentes na dieta humana, e o principal representante do grupo é o resveratrol (Figura 26), esse existe nas formas isoméricas cis e trans. Os estilbenos são produzidos pelas plantas em resposta à infecção por agentes patogênicos ou por uma variedade de condições de estresse ambiental (Vergara *et al.*, 2012). Já foram identificadas em mais de 70 espécies de plantas, incluindo uvas e amendoins.

O resveratrol é um composto polifenólico que é encontrado em uvas, frutas vermelhas e castanhas. Está associado a resposta ao estresse, como um mecanismo de defesa contra infecções e danos causados pela exposição à radiação, agressão fúngica, bacteriana e viral. O resveratrol apresenta função antiinflamatória, inibindo o fator nuclear (NF- $\kappa$ B). É um potente antioxidante, sendo associado a proteção a diversas doenças crônicas, como câncer, doenças cardiovasculares e neurológicas (Wanga *et al.*, 2013).

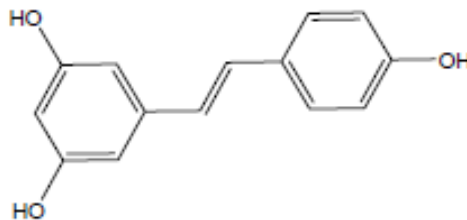


Figura 26 – Estrutura do resveratrol (Valls *et al.*, 2009)

Lignanas são dímeros ou oligômeros mais abundantes na Terra depois da celulose. São produzidos por dimerização oxidativa de duas unidades de fenilpropano, e estão presentes na natureza, na maioria das vezes, na forma livre. O interesse nas lignanas e seus derivados sintéticos está relacionado ao aumento das potenciais aplicações em quimioterapia no tratamento do câncer, e possíveis efeitos para outros medicamentos (Saleem *et al.*, 2005).

## 2.3 METABOLIZAÇÃO E BIODISPONIBILIDADE DOS COMPOSTOS BIOATIVOS

Os compostos bioativos, embora não sejam descritos como compostos essenciais, exercem vários benefícios a saúde do indivíduo. Para desempenhar esses efeitos tais compostos necessitam serem liberados da matriz antes de serem absorvidos, e devem suportar as etapas de digestão dos alimentos, ou seja, precisam estar disponíveis para a utilização. Muitos dos mecanismos de absorção e metabolização dos polifenóis ainda não estão bem esclarecidos devido a enorme diversidade dessas substâncias, bem como sua ocorrência em materiais vegetais como uma mistura complexa de compostos (Manach *et al.*, 2004).

Os mecanismos de digestão, absorção e metabolização dos constituintes dos alimentos que contém grupos fenólicos são determinados primeiro pela sua estrutura química, a qual depende do grau de glicosilação, da conjugação com outros grupamentos fenólicos, do tamanho da molécula, do grau de polimerização e da sua solubilidade (Scalbert e Williamson, 2000). A digestão dos compostos fenólicos parece ocorrer inicialmente no estômago, com ação dos sucos gástricos, como por exemplo os oligômeros de proantocianidinas, que são quebrados em moléculas menores e liberam epicatequinas. A absorção dos polifenóis parece ter início no estômago ou no intestino delgado. No intestino delgado os fenólicos podem sofrer transformações distintas determinadas por sua estrutura química, e então serem absorvidos por difusão passiva na membrana intestinal. Depois são transportados até o fígado, onde são metabolizados, e então distribuídas aos tecidos ou vão diretamente para os rins, e são excretadas pela urina (Manach *et al.*, 2004).

Acredita-se que as formas agliconas possam ser absorvidas diretamente pelo intestino delgado, entretanto, muitos polifenóis estão presentes em alimentos na forma de ésteres de glicosídeos, ou ainda, como polímeros que não podem ser absorvidos na sua forma original, e são hidrolisadas por enzimas intestinais ou pela microflora do cólon antes de serem absorvidas (Santos-Buelga e Scalbert, 2000). O cólon também tem importante papel na hidrólise de outros compostos fenólicos que são absorvidos no intestino delgado e metabolizados no fígado, e são re-excretados na bile, atingindo novamente o cólon, porém em forma química diferente (Scalbert e Williamson, 2000). Tal mecanismo de re-excreção pode favorecer uma maior

permanência de polifenóis no organismo, porém, nem todos os polifenóis consumidos apresentaram atividade funcional (Manach *et al.*, 2004).

Para a hidrólise e absorção de alguns flavonóides glicosilados é indispensável a presença de bactérias entéricas. A necessidade da microflora intestinal para hidrólise de rutinosídeos pode explicar a baixa biodisponibilidade da rutina (quercetina-3-rutinosídeo) comparada com a quercetina-3-glicosídeo em humanos. Após a administração oral de rutina, a quercetina é gradualmente recuperada no plasma de indivíduos com cólon intacto (Olthof *et al.*, 2000), mas não é detectada no plasma de pacientes com ileostomia (Hollman *et al.*, 1995). Nesse mesmo estudo, foi observado que as frações glicosiladas da quercetina apresentam maior absorção (52%) no intestino delgado, comparada as frações de quercetina livre (24%), o que sugere que os transportadores epiteliais de glicose podem estar envolvidos com a absorção destes compostos.

A determinação da biodisponibilidade dos nutrientes, que pode ser entendida como a fração de nutrientes ingerida e a quantidade utilizada pelo organismo, é muito importante na nutrição. Outro fator importante é o conhecimento dos metabólitos produzidos a partir dos compostos originais, o que leva a compreensão dos mecanismos de ação em relação aos benefícios a saúde e a própria biodisponibilidade (Rein *et al.*, 2013). Avaliar a biodisponibilidade de nutrientes e de compostos bioativos nos alimentos é muito difícil quando comparado a fórmulas farmacêuticas. Envolve a complexidade do processo e dos vários fatores que afetam a digestão dos alimentos, como as enzimas digestivas, acidez gástrica, e também os diferentes mecanismos de absorção de moléculas, relacionados a sua solubilidade, interações com a microbiota intestinal, ou interações com outros compostos do próprio alimento, e, portanto podem ser diferentes entre os indivíduos (Rein *et al.*, 2013). A avaliação da biodisponibilidade de compostos é importante para compreensão da relação entre a alimentação e nutrição, a fim de aumentar o potencial de ação dos compostos bioativos e promover a saúde.

Um trabalho realizado por Williamson e Clifford (2010) discutiu a biodisponibilidade de compostos fenólicos presentes na dieta, e relatou que a microbiota intestinal ajuda na transformação de compostos bioativos em formas absorvíveis, dessa forma os metabólitos produzidos no cólon devem ser considerados quando se pretende estabelecer uma relação entre o consumo de

determinados polifenóis e a sua atividade biológica (Williamson e Clifford, 2010). Um polifenol pode apresentar certa atividade biológica *in vitro* e, *in vivo*, esse composto pode ser pouco biodisponível, ou ser rapidamente metabolizado e excretado, tornando-se ineficaz. Dessa forma a quantidade de compostos bioativos presentes nos alimentos não reflete necessariamente a quantidade absorvida e metabolizada pelo organismo (Medjakovic e Jungbauer, 2013).

Os hábitos alimentares podem influenciar na atividade antioxidante plasmática, e esta é considerada como um bom marcador para avaliar o risco de desenvolvimento de doenças crônicas. Um estudo que investigou a biodisponibilidade de nutrientes da dieta através da avaliação dos teores plasmáticos de carotenóides, vitamina C, tocoferol, zinco, enzimas antioxidantes, como glutathione peroxidase (GPX), superóxido dismutase (SOD), glutathione transferase (GST) e da capacidade total de redução de ferro (FRAP) em indivíduos vegetarianos e onívoros observou-se que os vegetarianos apresentaram níveis plasmáticos de carotenóides aumentados comparado aos onívoros, porém os demais marcadores não apresentaram diferenças entre esses dois grupos, inclusive para os valores de FRAP. Observou-se ainda associação positiva entre o consumo de vegetais e níveis plasmáticos de carotenóides e vitamina C; o consumo de chá e vinho foi associado positivamente ao valor de FRAP (Haldar *et al.*, 2007).

Um outro estudo avaliou *in vitro* a influência do processo digestivo na biodisponibilidade de vitamina C, compostos fenólicos e carotenóides, assim como da atividade antioxidante de uma mistura de frutas (laranja, kiwi e abacaxi). A vitamina C e os compostos fenólicos apresentaram boa estabilidade sob a simulação das condições gástricas (maior que 75%), enquanto os carotenóides apresentaram redução de quase 64% nesta condição de acidez. De forma geral a concentração de todos os compostos analisados, bem como a atividade antioxidante, diminuiu significativamente durante a simulação da digestão intestinal. A biodisponibilidade dos constituintes hidrofílicos foi maior do que a dos componentes lipofílicos. Flavonóides, vitamina C e ácidos fenólicos mostraram biodisponibilidade de 20,1; 15,0 e 12,7%, respectivamente, enquanto os carotenos de 7,6%. Os autores sugeriram que, apesar da redução significativa da concentração destes compostos bioativos depois de serem submetidos a digestão *in vitro*, a biodisponibilidade dos componentes da mistura de frutas ainda pode ser elevada o suficiente para serem

absorvidos e utilizadas, proporcionando benefícios aos indivíduos (Rodriguez-Roque *et al.*, 2013).

A biodisponibilidade dos compostos bioativos também pode ser influenciada por outros nutrientes. Um estudo avaliou a atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* do chá verde e preto ingeridos sozinhos e com leite. Verificou-se que a adição de leite aos chás não alterou a atividade antioxidante *in vitro*. Porém, no experimento *in vivo* foi observada uma redução da atividade antioxidante plasmática comparada a ingestão de chá isoladamente. Os autores sugeriram que ocorre uma interação entre os compostos bioativos do chá, os polifenóis, com a proteína do leite, a qual inibe o potencial antioxidante plasmático (Serafini, Ghiselli e Ferroluzzi, 1996). Em estudos subsequentes *in vivo* observaram resultados plasmáticos contraditórios quando comparados ao estudo anterior. As catequinas presentes no chá verde e no chá preto foram rapidamente absorvidas, e a ingestão de leite não prejudicou a biodisponibilidade das catequinas do chá (Van Het Hof *et al.*, 1998; Reddy *et al.*, 2005). Portanto, mais estudos sobre a biodisponibilidade desses compostos são necessários para se conhecer a melhor forma de aproveitá-los.

## 2.4 AGENTES ANTIOXIDANTES NA PREVENÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO

Os antioxidantes podem ser definidos como compostos que em baixas concentrações retardam ou inibem a oxidação de moléculas, e portanto, reduzem o estresse oxidativo *in vivo* (Halliwell e Gutteridge, 2007). Também podem ser definidos como compostos naturais ou sintéticos, que apresentam elevada estabilidade oxidativa e que tem propriedade de prevenir a oxidação das biomoléculas (Englberger *et al.*, 2009). Podem atuar como sequestradores de radicais livres (RL) (*scavengers*), ou como quelantes de metais, complexando metais de transição, e impedindo que estes participem de reações oxidativas em cadeia, e assim causem danos ao organismo (Halliwell e Gutteridge, 2007). O mecanismo de ação dos antioxidantes pode ocorrer por interrupção das cadeias de reações oxidativas, através do bloqueio da decomposição dos peróxidos e hidroperóxidos, convertendo-os na forma inativa, ou agindo como doadores de prótons e elétrons,

impedindo o processo de iniciação desencadeado pelos radicais livres (Halliwell e Gutteridge, 2007; Pecal, Biesaga e Pyrzyńska, 2011).

Os compostos antioxidantes podem ser classificados em enzimáticos e não enzimáticos, e ainda em relação a origem, em endógenos e exógenos (Halliwell e Gutteridge, 2007). Os mamíferos desenvolveram complexos sistemas de defesas antioxidantes para se adaptarem as condições aeróbias, incluindo enzimas e proteínas quelantes. O organismo também é capaz de utilizar os antioxidantes de natureza exógena, aqueles obtidos através da alimentação, principalmente a partir de alimentos de origem vegetal (frutas e hortaliças), que se destacam pela presença de vitaminas antioxidantes e compostos bioativos. O equilíbrio entre a geração das espécies reativas e as defesas antioxidantes pode determinar o estado de saúde ou doença do indivíduo (Asare *et al.*, 2009).

Os antioxidantes endógenos enzimáticos de maior importância incluem as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) e glutathione-redutase (GR), estas duas últimas fazem parte do ciclo redutor da glutathione (Cerqueira, Medeiros e Augusto, 2007). Enquanto o sistema de defesa antioxidante não-enzimático é composto por moléculas de baixo peso molecular (Kamkar *et al.*, 2010), que incluem metabólitos endógenos, como lactato, piruvato, ácido úrico, estrógenos, ácido lipóico, melatonina, e bilirrubina (Asare *et al.*, 2009). Compreendem ainda as proteínas que se ligam aos metais de transição, como a transferrina, a ferritina e a ceruloplasmina, evitando assim que os metais fiquem disponíveis para catalisarem reações de oxidação (Block *et al.*, 2002).

As defesas não-enzimáticas exógenas incluem as vitaminas C, E ( $\alpha$ -tocoferol), cofatores enzimáticos (selênio), carotenóides, e os compostos bioativos, que incluem principalmente os polifenóis (flavonóides, ácidos clorogênicos e ácido caféico) (Huang, Ou e Prior, 2005; Valko *et al.*, 2007). Dentre os principais antioxidantes não-enzimáticos encontrados no plasma humano estão proteínas/peptídeos com grupamento tiol (SH) (800-1000  $\mu\text{mol/L}$ ), sendo a albumina a principal representante; em seguida estão o ácido úrico (150-400  $\mu\text{mol/L}$ ); ácido ascórbico (30-150  $\mu\text{mol/L}$ ); tocoferol (20-50  $\mu\text{mol/L}$ ) e carotenóides (0,08-3  $\mu\text{mol/L}$ ) (Cerqueira, Medeiros e Augusto, 2007).

Estudos sugerem que os antioxidantes são eficazes na prevenção de doenças crônicas associadas ao estresse oxidativo quando administrados em



grupos populacionais que apresentam baixas concentrações plasmáticas desses compostos (Hercberg *et al.*, 2004; Knoop *et al.*, 2004). Não existem evidências de que o consumo de alimentos ricos em antioxidantes ao longo da vida acarrete efeitos prejudiciais. Ao contrário, há fortes evidências epidemiológicas de que o consumo desses alimentos estejam associados a um envelhecimento saudável e à longevidade funcional (Kamkar *et al.*, 2010; Long, Hoi e Halliwell, 2010). A maioria dos estudos que apresentam resultados controversos utiliza antioxidantes em doses suplementares (Asare *et al.*, 2009).

O consumo de frutas e hortaliças está associado positivamente a saúde e a presença dos antioxidantes (Kamkar *et al.*, 2010; Long, Hoi e Halliwell, 2010). Dessa forma, cada vez mais são necessários estudos que identifiquem compostos bioativos com atividade antioxidante assim como seus mecanismos de ação. Esses estudos são importantes no sentido de estabelecer a eficiência de absorção no trato gastrointestinal, a biodisponibilidade, o mecanismo de ação e as recomendações desses compostos para consumo humano, como também avaliar os efeitos sinérgicos com outras substâncias, e evitar possíveis efeitos tóxicos. Há perspectivas de que esses compostos possam ser usados futuramente no tratamento de doenças cuja gênese envolva processos oxidativos.

As doenças crônicas (DC) são um importante e crescente fator que contribui para o aumento da morbi-mortalidade no mundo, e a nutrição é uma variável capaz de ser determinante dessas doenças (Lenoir-Wijnkoop *et al.*, 2013). Atualmente as DC, principalmente as cardiovasculares, o câncer, as doenças respiratórias crônicas e o diabetes, são responsáveis por cerca de 63% de todas as mortes no mundo (36 milhões a 57 milhões). Aproximadamente 80% das DC acontecem em países subdesenvolvidos, e matam prematuramente, antes dos 60 anos, cerca de nove milhões de pessoas. O combate a essas doenças é um grande problema para saúde pública, e também para o desenvolvimento do país, pois requerem altos custos com o tratamento das doenças crônicas e tem grande impacto sobre a produtividade da população economicamente ativa (World Health Organization, 2011).

Em 2010, cerca de 43 milhões de crianças menores de 5 anos estavam acima do peso, e dois anos antes, cerca de 1,5 bilhão de adultos, com vinte anos ou mais, apresentavam-se com sobrepeso ou obesidade. Hábitos alimentares inadequados resultam em maior número de hipertensão, diabetes, dislipidemias e doenças

cardiovasculares (World Health Organization, 2011). A alimentação rica em frutas e hortaliças está diretamente associada a prevenção destas doenças, e o consumo desses alimentos tem sido cada vez mais estimulado por instituições ligadas a promoção de saúde (Roopchand *et al.*, 2013). Investigações clínicas demonstram a redução da morbimortalidade causada por várias doenças em indivíduos que consomem frutas e hortaliças frequentemente. Esse assunto foi discutido na Conferência Européia de Nutrição em 2011, onde abordaram, entre outros assuntos, o papel da nutrição nas carências nutricionais e a incorporação dos alimentos funcionais para melhor qualidade de vida e promoção a saúde (Nery *et al.*, 2010; Lenoir-Wijnkoop *et al.*, 2013; Neyrinck *et al.*, 2013).

A atividade biológica das frutas e hortaliças em relação a proteção das doenças crônicas está relacionada a atividade antioxidante de algumas vitaminas, como ácido ascórbico, carotenóides e tocoferol; e de polifenóis, principalmente os flavonóides, como flavanóis (catequinas), antocianinas (cianidina, malvidina) e flavonóis (quercetina, rutina) (De Oliveira E Silva *et al.*, 2012; Gao *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2012). Frações fenólicas de alga verde (*Halimeda opuntia*) apresentam efeito protetor contra o estresse oxidativo hepático induzido por substâncias químicas. Tal proteção foi verificada através da modulação da expressão gênica e da atividade de enzimas antioxidantes, catalase e superóxido desmutase (De Oliveira E Silva *et al.*, 2012).

A relação entre consumo de alimentos e saúde humana aumentou o interesse das pesquisas em relação aos alimentos funcionais, especialmente frutas e hortaliças. Alimentos ricos em fenólicos (flavonóides, antocianinas, ácidos fenólicos, estilbenos, taninos), assim como nutrientes (ácidos graxos essenciais, vitaminas, carotenóides e minerais) revelam ser potentes antioxidantes, e apresentam propriedades anticancerígena, antimutagênica, antimicrobiana, antiinflamatória e antineurodegenerativa (Nile e Park, 2013). Em um estudo *in vivo* foi demonstrado que os polifenóis da maçã apresentaram efeito protetor sobre a lesão pulmonar aguda em ratos expostos a fumaça de cigarro por 6 horas ao dia. As doses de polifenóis foram ofertadas uma hora antes da exposição a fumaça. Esse estudo sugere que a maçã possa ser um potente agente da dieta para melhorar a qualidade de vida de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (Bao *et al.*, 2013).

O consumo de alimentos fontes de polifenóis, carotenóides e vitamina C foi associado positivamente ao controle da pressão arterial em uma população de 3.995 indivíduos com risco para hipertensão ou hipertensos do Mediterrâneo que consumiam semanalmente *Gazpacho*, sopa fria com tomate, pepino, pimentão verde, cebola, alho e azeite (Medina-Remón *et al.*, 2013). O consumo dessa sopa fria, bem como a dieta rica em hortaliças e azeite, foram recomendadas como um fator benéfico para o tratamento da hipertensão.

Alguns estudos demonstraram que as fibras dietéticas auxiliam na modulação da flora intestinal e auxilia na biotransformação dos compostos presentes nas plantas, tornando-os bioativos ou aumentando a atividade do bioativo (Neyrinck *et al.*, 2013; Rein *et al.*, 2013). A romã, fruta utilizada há séculos na medicina tradicional, está associada ao tratamento de doenças antiinflamatórias, infecções e câncer, e os efeitos protetores desse alimento são relacionados a presença de polifenóis (elagitaninos e antocianinas), os quais apresentam atividade antioxidante e anti-inflamatória *in vitro* e *in vivo*. O extrato de romã mostrou efeitos benéficos na redução dos níveis séricos de LDL-colesterol (*low-density lipoprotein*) induzido por dietas hiperlipídicas em ratos, além disso, reduz a expressão gênica de marcadores inflamatórios tanto no cólon quanto no tecido visceral. Os autores sugeriram o extrato de romã como um alimento promissor no controle de doenças inflamatórias e aterogênicas associadas a obesidade, e ainda associaram que a microbiota intestinal pode estar envolvida no metabolismo destes compostos, favorecendo a sua biodisponibilidade (Neyrinck *et al.*, 2013).

Roopchand *et al.* (2013) em um experimento realizado em camundongos obesos e diabéticos alimentados com dieta rica em gorduras adicionada com farinha desengordurada de soja ou com farinha desengordurada de soja suplementada com polifenóis de mirtilo, verificaram que o grupo que recebeu a farinha de soja acrescida de mirtilo apresentou menor ganho de peso, melhor tolerância a glicose, e menor concentração de colesterol sérico comparado ao grupo que ingeriu apenas dieta adicionada de farinha de soja desengordurada. Esses resultados sugerem que há uma interação positiva entre a matriz protéica da soja e a estabilidade de compostos fenólicos, podendo ser útil para o tratamento ou controle da dieta para pacientes diabéticos ou pré-diabéticos, além de possibilitar maior tempo de vida para utilização desses compostos (Roopchand *et al.*, 2013).

Portanto, o consumo de alimentos ricos em antioxidantes alimentares, como os polifenóis e vitaminas, encontrados principalmente em frutas, hortaliças e chás, auxiliam na prevenção e controle do estresse oxidativo. Esses compostos antioxidantes neutralizam os radicais livres e as espécies reativas normalmente produzidas no organismo, e reduzem o nível de estresse oxidativo, prevenindo a oxidação de biomoléculas, e conseqüentemente o aparecimento de doenças como câncer, doenças coronarianas, artrite reumatóide, diabetes, hipertensão e doenças relacionadas ao envelhecimento (Parkinson e Alzheimer) (Almeida *et al.*, 2011).

## 2.5 RADICAIS LIVRES E ESTRESSE OXIDATIVO

O oxigênio molecular é essencial a vida de organismos aeróbicos, sendo capaz de proporcionar um melhor aproveitamento de energia a partir dos alimentos. As mitocôndrias consomem mais de 90% do oxigênio disponível no organismo. Durante a produção de adenosina trifosfato (ATP), ocorre a redução completa do  $O_2$  molecular em  $H_2O$ , com a utilização de 4 elétrons. Entretanto, a molécula de  $O_2$  pode ser reduzida parcialmente levando a formação de espécies químicas intermediárias, denominadas radicais livres (RL) e espécies reativas de oxigênio (ERO), tais como os radicais superóxido e hidroxil, e o peróxido de hidrogênio (Figura 27) (Halliwell e Gutteridge, 2007).

O termo radicais livres é usado para definir qualquer espécie química, com existência independente, que possui em sua estrutura um ou mais elétrons desemparelhados na sua última camada, passando a ter uma função oxidante ou redutora. As espécies reativas podem ou não apresentar elétrons desemparelhados em seu orbital de maior energia, podendo assim ser radicalares ou não radicalares, as principais espécies reativas no organismo são as de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN) (Halliwell e Gutteridge, 2007). Mesmo as espécies não radicalares podem intermediar a geração de espécies radicalares e causar danos ao organismo. (Hermes-Lima, 2004). Estima-se que 1 a 4% do  $O_2$  consumido, principalmente pela mitocôndria na cadeia de transporte de elétrons, pode ser reduzido de forma parcial originando as ERO (Figura 27). Essas moléculas podem ser altamente danosas a

integridade celular, e podem ocasionar perda de funções essenciais, dependendo do local de atuação (Halliwell e Gutteridge, 2007).

Os RL, as ERO e ERN podem promover com a oxidação de carboidratos, proteínas, ácido 2'-desorirribonucléico (DNA), ácido ribonucléico (RNA) e de componentes de membranas biológicas. Em situações de acúmulo ou produção excessiva de espécies reativas levam a danos oxidativos nas membranas celulares, podendo provocar reações em cadeia, como a peroxidação lipídica ou protéica (Halliwell e Gutteridge, 2007). Os produtos da peroxidação podem danificar tecidos através do processo oxidativo, estando intimamente relacionadas aos processos de envelhecimento e de desenvolvimento de desordens neurodegenerativas (Kaur *et al.*, 2006; Halliwell e Gutteridge, 2007; Valko *et al.*, 2007).

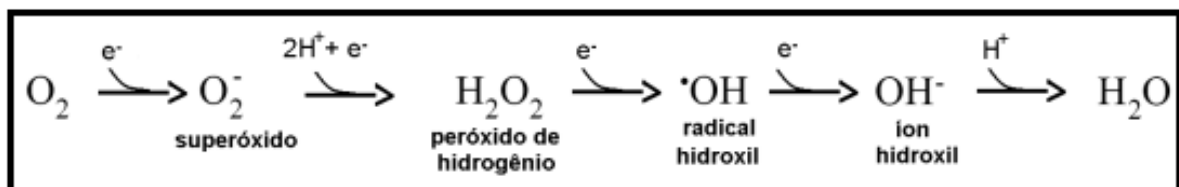


Figura 27- Formação de espécies reativas na cadeia transportadora de elétrons: a adição de 1 elétron ao  $\text{O}_2$  origina o íon superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet -}$ ) que, ao reagir com outro elétron e sofrer protonação, gera o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e o radical hidroxil ( $\text{HO}^{\bullet}$ ) (Marzocco e Torres, 2007)

No entanto, a geração destas moléculas nem sempre é prejudicial ao organismo (Matsuo e Kaneco, 2000). As espécies reativas são produzidas naturalmente no metabolismo de organismos aeróbicos, exercendo funções fisiológicas essenciais. Encontram-se envolvidas na produção de energia, na cadeia de transporte de elétrons, no processo de fagocitose, na regulação do crescimento celular, na sinalização intercelular, nos processos inflamatórios e na síntese de substâncias biológicas importantes. Atuam como mediadores na transferência de elétrons, podem doar ou receber elétrons, sendo oxidadas ou reduzidas. Essas reações ocorrem principalmente nas mitocôndrias, mas também podem ocorrer no citoplasma e membranas (Valko *et al.*, 2007).

É importante que haja um balanço entre a formação das espécies reativas, ou agentes oxidantes, e as defesas do organismo, ou agentes antioxidantes, para evitar danos celulares. Quando a geração de RL e espécies reativas se sobrepõe as defesas antioxidantes, ocorre um desequilíbrio, condição denominada como estresse oxidativo (Halliwell e Gutteridge, 2007). Diversos fatores exógenos, como

raios ionizantes, medicamentos, fumo, poluentes ambientais e alimentos podem potencializar o desenvolvimento do estresse oxidativo.

## 2.6 ESTRESSE OXIDATIVO E DOENÇAS CRÔNICAS

Os radicais livres e as espécies reativas estão associados a origem e ao desenvolvimento de diversas doenças crônicas devido a alterações nos mecanismos fisiológicos e bioquímicos, causadas pelos danos oxidativos as biomoléculas. O estresse oxidativo, por causar danos e morte celular, tem sido relacionado com o desenvolvimento de DC, como câncer, doenças cardiovasculares (aterosclerose e infarto agudo do miocárdio), artrite reumatóide, e também com o processo de envelhecimento (Liu e Xu, 2011).

Há fortes evidências que demonstram que as doenças cardiovasculares, maior causa de morte no mundo (World Health Organization, 2011), estão associadas a oxidação das lipoproteínas plasmáticas, ricas em colesterol. A oxidação dos lipídeos aumenta aterogenicidade, geram os ateromas, facilitando a penetração na parede arterial, podendo causar a obstrução dos vasos sanguíneos, o que pode levar ao infarto agudo do miocárdio e pode ocasionar a morte. A produção ou formação de ateroma é um processo lento, cujo desenvolvimento pode ser assintomático (Block *et al.*, 2002).

Os principais fatores de risco para aterosclerose são os elevados níveis de colesterol total e de baixa densidade, de triglicerídeos e de apolipoproteínas B e C-III, além de reduzidos níveis de colesterol de alta densidade e apolipoproteína A-I. Esses fatores estão inversamente relacionados com uma alimentação e estilo de vida saudáveis (Hassimoto, Genovese e Lajolo, 2005). Um estudo mostrou a relação entre o consumo de frutas e hortaliças com marcadores de estresse oxidativo em homens de meia idade ( $50 \pm 5$  anos), e mostrou que o consumo desses alimentos (200 g/dia), por no mínimo 4 vezes na semana, está associado com a redução do colesterol de baixa densidade. Esses efeitos podem estar relacionados ao conteúdo de vitamina C, fibras e magnésio nos alimentos, demonstrando o

importante papel dos nutrientes presentes na dieta para a proteção cardiovascular (Cocate *et al.*, 2013).

A oxidação protéica e lipídica catalisada pelos radicais livres e espécies reativas está relacionada também à gênese de tumores em diferentes níveis, podendo promover o desenvolvimento do câncer. Os mecanismos envolvidos podem estar relacionados a alterações na proliferação celular, redução da enzima polimerase, união de produtos finais da peroxidação lipídica à molécula de DNA, levando a lesões mutagênicas direto no DNA (Halliwell e Gutteridge, 2007). Os antioxidantes de origem dietética, como vitamina C, tocoferol e polifenóis, podem contribuir para a prevenção da carcinogênese devido a redução da lesão oxidativa relacionada a sua atividade sequestradora de radicais livres ou quelante de metais, impedindo a propagação das reações e consequente dano tecidual (Valko *et al.*, 2007).

Um estudo recente avaliou *in vitro* a atividade antiproliferativa dos extratos da casca, da polpa e da semente de 61 frutos em quatro linhagens de células cancerígenas (pulmonar, mama, hepática e cólon). Alguns frutos, como uchuva, semente de melão, polpa de laranja, semente de ameixa, pêra doce e *salak* (fruta Indonésia) apresentaram capacidade antiproliferativa de maneira dose dependente, e essa capacidade variou com a linhagem celular estudada e com a parte do fruto utilizada. Esses achados sugerem que algumas frutas podem servir como alimento para a prevenção e tratamento de câncer (Li *et al.*, 2013).

Um estudo epidemiológico realizado no sul da China mostrou que o consumo de frutas e hortaliças foi inversamente associado com a incidência de câncer epitelial de ovário (Tang *et al.*, 2013). O consumo de frutas e hortaliças dos pacientes com câncer ( $324,2 \pm 161,9$  e  $582,7 \pm 250,2$  g de frutas e hortaliças, respectivamente) foi significativamente menor que o encontrado em pacientes controles ( $477,3 \pm 362,1$  e  $983,3 \pm 739,9$  g, respectivamente), sugerindo que compostos presentes nas frutas e hortaliças teriam um potencial redutor anticancerígeno.

Outro grupo de doenças crônicas que também apresenta forte relação com o estresse oxidativo são as doenças neurodegenerativas. Alguns estudos relacionam a produção de espécies reativas de oxigênio no organismo como um dos principais fatores associados a fisiopatologia de doenças como o mal de Parkinson e o mal de

Alzheimer (Yang e Liu, 2012; Parker *et al.*, 2013). Embora não exista tratamento eficaz para essas doenças, a prevenção parece estar associada a potentes antioxidantes dietéticos. Um estudo *in vitro* realizado por Chang *et al.* (2013) avaliou o efeito protetor de extratos da fruta espinheira vermelha (*Crataegus pinnatifida*) contra a oxidação do peróxido de hidrogênio em células neurais (PC12). Foi verificado que os extratos protegeram as células contra a oxidação e que essa proteção estava associada a capacidade antioxidante dos compostos fenólicos totais, flavonóides e taninos presentes na fruta (Chang *et al.*, 2013).



### 3 OBJETIVO

Avaliar o teor de compostos bioativos e a capacidade antioxidante de extratos aquosos e de acetato de etila de doze frutos do Cerrado em comparação com a maçã *Red Delicious*, e identificar e quantificar compostos fenólicos presentes no fruto do Cerrado com maior teor de compostos bioativos e capacidade antioxidante.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS

Os reagentes acetato de etila, acetato de sódio, ácido acético glacial, ácido hidrocloreídrico, ácido meta-fosfórico, acetona, carbonato de sódio, clorofórmio, etanol, éter de petróleo, hexano, metanol, reagente Folin-Ciocalteu e sulfato de sódio anidro utilizados para realização das análises foram obtidos da empresa Merck (Darmstadt, Germany). Os reagentes ácido linoléico, butilato hidroxianisol (BHA),  $\beta$ -caroteno cloreto férrico, p-dimethylaminocinnamaldehyde (DMACA), 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ), e tween-40 foram obtidos da empresa Sigma-Aldrich Inc. (Saint Louis, MO, USA). O ácido ascórbico, ácido fórmico, catequina e 2,6-dichloroindophenol (DCF1) foram obtidos da empresa Fluka<sup>®</sup> (Steinheim, Germany). Os padrões fenólicos utilizados para identificação foram: ácido caféico, cloreto de cianidina, ácido cinâmico, ácido clorogênico, ácido elágico, ácido ferúlico, ácido gálico, ácido sinápico, catequina, cloreto de delfinidina, caempferol, cloreto de pelargonidina, quercetina dihidratada, trans resveratrol, rutina trihidratada e xantina forma adquiridos da Sigma-Aldrich<sup>®</sup> (Saint Louis, MO, USA). Em todas as análises foi utilizada água deionizada (MiliQ<sup>®</sup>). Para as etapas de filtração utilizou-se papel filtro JP41 (JProlab<sup>®</sup>, Alemanha).

## 4.2 PRIMEIRA PARTE: DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE 12 FRUTOS DO CERRADO

### 4.2.1 Coleta das Amostras

As amostras vegetais nativas do Cerrado: araticum (*Annona crassiflora* Mart.); cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.), cajuzinho-do-Cerrado (*Anacardium humile* St. Hil.), guariroba (*Syagrus oleracea* Becc.), ingá (*Inga laurina* Willd.), jatobá-do-Cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.), jenipapo (*Genipa americana* L.), jurubeba (*Solanum paniculatum* L.), lobeira (*Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.), mangaba (*Hancornia speciosa*), tucum-do-Cerrado (*Bactris setosa* Mart) foram coletadas na área de conservação Estação Ecológica da Universidade de Brasília ou na Fazenda Água Limpa (FAL). A gestão nacional dessa unidade de Conservação pertence a própria Universidade de Brasília. A permissão para coleta e estudos das amostras foi emitida pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) / Ministério do Meio Ambiente (MMA) (Autorização nº 9/2012, IBAMA/MMA). Para todas as amostras foram obtidos no mínimo um quilo de cada espécie, coletadas na época de safra e no estágio ótimo de maturidade horticultural. As amostras de maçã *Red Delicious* (*Malus* cf), a qual foi utilizada como padrão para comparação, foram obtidas em três mercados locais do Distrito Federal, Brasil.

### 4.2.2 Determinação da Umidade

As partes comestíveis dos frutos-do-Cerrado, aproximadamente 10 g, foram maceradas em nitrogênio líquido utilizando almofariz e pilão de porcelana. Em seguida foram liofilizadas em liofilizador Liotop L101 (São Paulo, Brasil) até não obter diferenças entre as pesagens. O teor de umidade foi calculado pela diferença entre o peso seco e o peso úmido, e expresso em valor percentual. As medidas foram realizadas em triplicata.

### 4.2.3 Preparação da Amostra

Os extratos das porções comestíveis das espécies nativas do Cerrado foram obtidos segundo método descrito por Singh, Murthy e Jayaprakasha (2002). Com exceção da maçã, cagaita, cajuzinho, jurubeba e tucum-do-Cerrado, todos os frutos foram descascados, e a casca descartada, restando apenas as porções comestíveis dos frutos. Brevemente, aproximadamente 12,5 g de amostra comestível dos vegetais foram macerados em nitrogênio líquido, e homogeneizados em 50 mL de solvente com diferentes polaridades, água MiliQ®, 100% de acetato de etila ou 100% hexano (descartado pelos baixos resultados apresentados). Em seguida as amostras foram agitadas a 125 rpm, 30 °C durante 1h. Posteriormente o homogeneizado foi filtrado a vácuo, em papel filtro JP41 (JProlab®), para remoção de resíduos e partículas remanescentes. Os resíduos do papel de filtro foram novamente submetidos à extração com mesmo volume de solvente, e filtrado, sob as mesmas condições. As soluções extrativas foram transferidos para um frasco, armazenado a -80 °C até a realização dos ensaios *in vitro*. Todos as soluções extrativas foram feitos em triplicata. As soluções extrativas que em testes preliminares apresentaram baixa atividade antioxidante foram concentrados em evaporador rotativo a temperatura de 40 °C ou liofilizador até o volume aproximado de 10 mL. O volume ou peso foram obtidos para cada extrato foi determinado para cálculo da concentração, g fruto/mL extrato. Todo o procedimento foi realizado protegido da luz (Singh, Murthy e Jayaprakasha, 2002).

#### 4.2.4 Atividade Antioxidante

##### 4.2.4.1 Capacidade total de redução de ferro (*Ferric reducing antioxidant power: FRAP*)

A capacidade antioxidante dos diferentes extratos dos frutos do Cerrado foi estimada pela metodologia de FRAP, realizada de acordo com o descrito por Benzie e Strain (1996), com modificações. Brevemente, o reagente FRAP foi preparado no momento da realização do teste a partir das soluções de tampão acetato de sódio 300 mmol/L a pH 3,6; solução de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) 10 mmol/L em HCl 40 mmol/L, e solução de cloreto férrico 20 mmol/L, nas proporções 10:1:1; e posteriormente incubado a 37 °C por 30 minutos. Em seguida foi preparado o sistema reacional contendo 900 µL de reagente FRAP, 90 µL de água e 30 µL do extrato do vegetal. O reagente FRAP e o solvente do extrato (900 e 120 µL, respectivamente) foram utilizados como branco e a leitura da absorbância realizada à 595 nm após 4 minutos de reação. Foram preparadas soluções aquosas de FeSO<sub>4</sub>, na faixa de concentração entre 0 – 2000 µmol/L, para construção da curva de calibração ( $y = 0,00057x + 0,00339$ ;  $r^2 = 0,998$ ). Os valores foram expressos em triplicata e os valores expressos em µmol de FeSO<sub>4</sub>/g de fruto fresco (Benzie e Strain, 1996).

##### 4.2.4.2 Sistema β-caroteno/ácido linoléico

A atividade antioxidante dos extratos foi avaliada empregando-se o ensaio colorimétrico β-caroteno/ácido linoléico descrito por Jayaprakasha, Singh e Sakariah (2001), modificado por Singh, Murthy e Jayaprakasha (2002). Brevemente: para o preparo da mistura reacional, foram adicionados em um tubo 20 mg de ácido linoléico, 200 mg de tween-40, e uma solução contendo 0,2 mg de β-caroteno diluído em clorofórmio. Posteriormente o clorofórmio foi evaporado utilizando nitrogênio

gasoso. A essa mistura isenta de clorofórmio foram adicionados 50 mL de água aerada (água deionizada saturada com oxigênio por 30 minutos), sendo agitada vigorosamente por 1 hora a 150 rpm, em temperatura ambiente, para obtenção de uma emulsão límpida. A solução apresentou uma absorvância inicial a 470 nm entre 0,6 a 0,8. O ensaio colorimétrico foi realizado utilizando 4 mL da mistura reacional e 0,2 mL de extrato vegetal, ou solvente (solução branco), ou solução padrão de BHA em etanol (100 ppm). As leituras iniciais de absorvância foram realizadas no comprimento de onda de 470 nm imediatamente após a adição do extrato vegetal ou solução padrão, em seguida as amostras foram incubadas em banho-maria a 50°C para acelerar as reações de oxidação do  $\beta$ -caroteno. As leituras foram realizadas em intervalos de 15 minutos durante 180 minutos. A solução branco (controle) foi feita seguindo a mesma metodologia descrita anteriormente sem a adição do  $\beta$ -caroteno, cada amostra analisada tinha seu respectivo controle. O potencial antioxidante relativo de cada amostra foi determinado através da equação:  $AA = 100[1 - (A_0 - A_t)/(A_0^o - A_t^o)]$ , onde  $A_0$  e  $A_0^o$  representa a absorvância no tempo 0, e  $A_t$  e  $A_t^o$  representa a absorvância no tempo final, da amostra e do controle, respectivamente. Todas as análises foram realizadas em triplicata (Singh, Murthy e Jayaprakasha, 2002).

#### **4.2.5 Determinação de Compostos Bioativos**

##### **4.2.5.1 Flavanóis totais**

A concentração de flavanóis totais foi determinada utilizando o reagente DMACA, segundo o método descrito por Arnous, Makris e Kefalas (2002). Para a análise 0,2 mL dos extratos metanólicos acidificados (HCl 1%) diluídos no mesmo solvente foi adicionado 1 mL de solução de DMACA (0,1% em HCl 1 mol/L em metanol). A mistura foi agitada em agitador automático e deixada à temperatura ambiente durante 10 minutos. Em seguida, a leitura da absorvância foi realizada em espectrofotômetro a 640 nm, utilizando como branco a solução pura de DMACA. A

concentração dos flavanóis totais foi estimada a partir da curva de calibração, construída com padrão de catequina na faixa de concentração de 1 – 43 mg/L ( $r^2 = 0,9993$ ). Os resultados foram expressos em mg de equivalente de catequina (ECT) por 100 gramas de peso úmido (Arnous, Makris e Kefalas, 2002).

#### 4.2.5.2 Antocianinas e Flavonóides amarelos

As concentrações de antocianinas totais e flavonóides amarelos foram determinadas de acordo com método desenvolvido por Francis (1982). As amostras foram extraídas utilizando solução de etanol em HCl 1,5 mol/L (85:15) e diluídas com o mesmo solvente para as leituras de absorbância em espectrofotômetro, no comprimento de onda igual a 535 nm para antocianinas e 374 nm para flavonóides amarelos. Foi utilizado como branco a solução de etanol: HCl 1,5 mol/L (85:15). Todos os procedimentos foram realizados na ausência de luz. A concentração foi determinada utilizando a equação  $Abs_{535nm} \times \text{fator de diluição}/98,2$  e  $Abs_{374nm} \times \text{fator de diluição}/76,6$  para antocianinas e flavonóides amarelos, respectivamente. Os resultados foram expressos em mg do composto por 100 gramas de peso úmido (Francis, 1982).

#### 4.2.5.3 Ácido ascórbico

O teor de ácido ascórbico foi determinado utilizando a metodologia oficial estabelecida pela AOAC (2000), a qual se baseia no método titulométrico do 2,6-dicloroindofenol (DCFI). Brevemente, foram extraídos 0,3 mL de polpa de suco das frutas analisadas em extrator de suco tipo “juice”, e adicionado a 6,7 mL de solução ácida (ácido acético glacial a 3,0% e ácido metafosfórico a 8%). A amostra foi então titulada com uma solução de DCFI 0,025% até o aparecimento da cor rosa, aguardando o tempo de verificação de 15 segundos após a viragem da cor. O teor de vitamina C das amostras foi calculado a partir da comparação com uma solução

padrão de ácido ascórbico com concentração já conhecida (1 mg/mL). Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico (AAsc)/100 g de peso úmido. Todas as amostras foram feitas em triplicata (Aoac, 1998).

#### 4.2.5.4 Carotenóides totais

Os carotenóides totais foram extraídos e quantificados usando o método descrito por Rodriguez-Amaya (1999). Foram pesados cerca de 5 g de cada amostra, maceradas em nitrogênio líquido e adicionados 20 mL de acetona gelada para solubilizar e extrair os carotenóides, homogeneizando por 1 hora em agitador automático (125 rpm). Os extratos foram filtrados a vácuo em funil de Buchner, utilizando papel filtro JP41, esse procedimento foi repetido por três vezes, seguindo os mesmos procedimentos, até que o extrato ficasse incolor. O filtrado foi transferido para um funil de separação, contendo 40 mL de éter de petróleo, e foram acrescentados 300 mL de água deionizada lentamente. Após a separação das fases foi descartada a fase aquosa (inferior) e repetiu-se o procedimento com adição de água por três vezes para remoção total da acetona, melhorando a extração dos carotenóides. Então, a fase superior de éter de petróleo foi filtrada em um funil de vidro coberto com 15 g de sulfato de sódio anidro para a remoção final da água. Em seguida mediu-se o volume do extrato etéreo para o cálculo da concentração de carotenóides. A leitura da absorbância foi realizada a 450 nm, para  $\beta$ -caroteno, utilizado éter de petróleo como o branco. A concentração foi calculada utilizando o  $A_{1\%}^{1\text{cm}} \text{ a } 450\text{nm} = 2.592$  para  $\beta$ -caroteno. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{g}$  de carotenóides por 100 gramas de peso úmido (Rodriguez-Amaya, 1999).



### 4.3 SEGUNDA PARTE: IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DO FRUTO TUCUM-DO-CERRADO (*Bactris setosa* Mart.)

Os testes de potencial antioxidante *in vitro* nos três extratos iniciais, hexano, acetato de etila e aquoso, dos frutos do Cerrado, identificaram os extratos de lobeira, araticum e tucum-do-Cerrado como os com maior potencial antioxidante. Devido a estudos em andamento sobre o araticum em outras instituições, e a possível toxicidade da lobeira para aplicação em estudo *in vivo*, que aconteceu paralelamente a este, o fruto selecionado para a segunda parte do trabalho foi o tucum-do-Cerrado. Nesse fruto foi realizada a identificação dos compostos antioxidantes através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC – High performance liquid chromatography) com detector fotodiodo (DAD).

#### 4.3.1 Coleta das Amostras

A amostra do Tucum-do-Cerrado (*Bactris setosa* Mart.), fruto selecionado para a segunda parte do trabalho, foi coletada em estágio ótimo de maturidade horticultural. Foram coletados na área de conservação Estação Ecológica da Universidade de Brasília ou na Fazenda Água Limpa (FAL). A gestão nacional dessa unidade de Conservação pertence a própria Universidade de Brasília. A permissão para coleta e estudos das amostras foi emitida pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA)/Ministério do Meio Ambiente (MMA) (Autorização nº 9/2012, IBAMA/MMA). Foram obtidos aproximadamente cinco quilos (5 kg) do fruto, que foram selecionados, lavados com água destilada e água deionizada sendo em seguida homogeneizados e quarteados. Retirou-se alíquotas de 400 g, as quais foram congeladas a -80 °C até a preparação dos extratos e realização das análises. As partes comestíveis do fruto, casca e polpa, foram separadas utilizando materiais inoxidáveis. A identificação botânica dos frutos foi realizada pela equipe do herbário do Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade de Brasília, Distrito Federal, Brasil.

### 4.3.2 Determinação da Umidade

O teor de umidade do tucum-do-Cerrado foi realizado com a casca e polpa juntos (inteiro), e cascas ou polpa, separadamente, aproximadamente 10 g, foram maceradas em nitrogênio líquido utilizando almofariz e pilão de porcelana. Em seguida foram liofilizadas em liofilizador Liotop L101 (São Paulo, Brasil) até não obter diferenças entre as pesagens. O teor de umidade foi calculado pela diferença entre o peso seco e o peso úmido, e expresso em valor percentual. Foram realizadas em triplicata.

### 4.3.3 Preparação das Amostras do Tucum-do-Cerrado

Os extratos de casca e polpa de tucum-do-Cerrado foram preparados separadamente utilizando três diferentes solventes: água deionizada (MiliQ®) (EAq), etanol acidificado em HCl 1,5 mol/L (85:15) (EE) e metanol acidificado (HCl 1%) (EM). Os solventes foram selecionados por apresentar melhor resultado na primeira parte do trabalho, e por afinidade em relação a polaridade dos possíveis compostos presentes no fruto, baseado em dados da literatura por comparação com frutos de características físicas similares (açai, uva, jaborcaba, ameixa). Para o preparo do extrato aquoso, 200 gramas de casca ou de polpa foram macerados em 300 mL de água deionizada. As amostras foram deixadas sob agitação a 125rpm durante 1 hora a temperatura de 30° C, e em seguida filtradas sob vácuo em papel filtro JP41 (JProlab ® - Alemanha). Esse procedimento de extração foi realizado mais três vezes, sob as mesmas condições, com o resíduo restante no papel de filtro após cada extração (Singh, Murthy e Jayaprakasha, 2002). O EAq foi liofilizado, pesado e armazenado a -80° C até o momento das análises.

O extrato aquoso liofilizado (EAq) foi submetido ao processo de partição líquido-líquido utilizando os solventes hexano (F-Hex), acetato de etila (F-AE) e solução de metanol/água (1:3) (F-MAq), obtendo assim três frações: F-MeAq, F-Hex e F-AE. Resumidamente, cerca de 3 g do EAq liofilizado da casca ou da polpa do

Tucum-do-Cerrado foram solubilizados em 50 mL da solução metanol/água (1:3, v:v). Essa solução foi então colocada em um funil de separação e 50 mL de hexano foram adicionados, e a solução agitada vigorosamente, no escuro, por cerca de 20 minutos. Após agitação deixou-se repousar até a completa separação das duas fases. Foi recolhida a fase hexânica (F-Hex), e a fase metanol/água foi submetida novamente a partição com o hexano por mais duas vezes para a máxima extração dos compostos. Em seguida foram adicionados 50 mL de acetato de etila e realizado o mesmo procedimento descrito para o solvente hexano, obtendo-se assim a fração acetato de etila (F-AE). A terceira subfração foi constituída pela solução de metanol/água que restou no funil, a qual originou a subfração F-MAq. As F-Hex e F-AE foram concentradas utilizando nitrogênio gasoso, enquanto a subfração F-MeAq foi liofilizada (Chirinos *et al.*, 2009). As frações foram pesadas e armazenadas a -80° C até o momento das análises.

Amostras de casca e a polpa frescas do tucum-do-Cerrado também foram utilizadas para preparar o extrato etanólico (EE) e metanólico (EM), ambos acidificados, para aumentar a polaridade da solução, manter o pH abaixo do pKa dos compostos e suprimir a ionização dos grupos fenólicos e carboxílicos, desta forma, melhorando a resolução e a reprodutibilidade das corridas cromatográficas, e facilitar a identificação dos compostos. Aproximadamente 2 a 4 g de polpa ou casca frescas foram macerados com 10 mL de etanol acidificado com HCl 1,5 mol/L (85:15) ou metanol acidificado (HCl 1%), em seguida, as soluções foram deixadas em repouso por 16 horas a temperatura de 4° C. Posteriormente foram submetidas a agitação (125 rpm) durante 1 hora a 30 °C, em seguida foram filtradas a vácuo em papel filtro JP41 para remoção das partículas remanescentes. O resíduo do papel foi reextraído mais uma vez sob as mesmas condições, e o volume final de solução foi completado para 25 mL. A concentração foi determinada por grama de fruta por mL de extrato. Todas as subfrações e extratos foram armazenados a -80° C até o momento das análises.

#### **4.3.4 Atividade Antioxidante do Tucum-do-Cerrado**

A capacidade antioxidante dos extratos aquosos e suas frações, e dos extratos metanólicos e etanólicos, da casca ou polpa do Tucum-do-Cerrado foram estimada pela metodologia de FRAP (Benzie e Strain, 1996) e  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico (Singh, Murthy e Jayaprakasha, 2002), conforme descrição anterior.

#### **4.3.5 Determinação de Compostos Bioativos**

##### **4.3.5.1 Fenólicos Totais**

O teor de fenólicos totais (FT) da casca, polpa ou fruto inteiro do tucum-do-Cerrado foram determinados de acordo com a metodologia descrita por Jayaprakasha, Singh e Sakariah (2001). Uma alíquota de 0,2 mL de cada extrato foi adicionada a 1,0 mL de reagente Folin-Ciocalteu 10% e 0,8 mL de solução de carbonato de sódio 7,5%. A reação foi incubada a temperatura ambiente, ao abrigo de luz, por 30 minutos. A absorbância foi mensurada a 765 nm usando espectrofotômetro UV-visível (Shimadzu, model UV- 1800, Japan). Para a quantificação das amostras do teor de fenólicos totais da casca ou polpa ou fruto inteiro do tucum-do-Cerrado foi baseada na curva de calibração do ácido gálico (0.0 – 100 mg/mL) e os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) /100 g de frutos frescos. Todas as amostras foram analisadas em triplicata (Jayaprakasha, Singh e Sakariah, 2001).

#### 4.3.5.2 Flavanóis totais, Antocianinas, Flavonóides amarelos, Ácido ascórbico e Carotenóides totais

As concentrações de flavanóis totais, antocianinas, flavonóides amarelos, ácido ascórbico e carotenóides totais da casca, polpa ou fruto inteiro do tucum-do-Cerrado foram estimadas conforme descrição dos tópicos 4.2.5, citados anteriormente.

#### 4.3.6 Identificação dos Compostos Bioativos do Tucum-do-Cerrado por HPLC-DAD

O EAq liofilizado e suas frações F-MeAq, F-Hex e F-AE da casca ou polpa do tucum-do-Cerrado foram solubilizadas em solução de água acidificada (ácido fórmico a 2%) e metanol acidificado (ácido fórmico a 0,5%), na proporção 9:1 (v/v). Os extratos de etanol e de metanol da casca e polpa foram dissolvidos nos seus respectivos solventes. Todas as amostras foram filtradas em membranas de 0,45 µm de nylon (Millipore Co®, Bedford, MA). As análises foram realizadas protegidas da luz e em triplicata.

A identificação e quantificação dos compostos fenólicos presentes no tucum-do-Cerrado foram realizadas através da metodologia proposta por Simirgiotis et al. (2012), com modificações. A análise cromatográfica dos compostos fenólicos presentes no tucum-do-Cerrado foram realizadas por um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (High Performance/Pressure Liquide Chromatography, HPLC) Shimadzu® LC-20AD (Kyoto, Japão), equipado com uma bomba LC-20AD, injetor automático SIL-20AD, forno CTO-20AD e um detector de arranjo fotodiodo SPD-20AD (DAD - Diode-Array Detection). A coluna analítica utilizada foi uma coluna de separação de fase reversa C-18, com fase estacionária de octadecil (CLS-ODS; ODS C18-CLS 250 mm x 4,6 mm, tamanho da partícula de 5 µm; Restek®, Bellefonte, PA, EUA), protegida por uma pré-coluna (Restek®, Bellefonte, PA, EUA), sendo mantida a 25 °C. A fase móvel constituiu de uma solução de ácido

fórmico a 2% (Bomba A) e solução de metanol:água acidificada (0,5% de ácido fórmico; 9:1, v/v) (Bomba B). O perfil de eluição foi de 0-35 min passando de 90 a 75% de A; 35-65 min passando de 75 a 40% de A, 65-70 min passando de 40 a 90% de A, e 70-75 minutos em 90% de A. O fluxo foi de 1 mL/minuto e foram injetados volumes entre 20 e 50 µL de amostra. Os cromatogramas foram monitorados nos comprimentos de onda de 200 a 600 nm e processados a 280 (flavanóis – catequina e ácido gálico), 320 (derivados dos ácidos hidroxicinâmicos e estilbenos), 360 (flavonóis) e 520 nm (antocianinas). Os compostos fenólicos foram identificados de acordo com o perfil cromatográfico, o espectro de absorção, tempo de retenção dos padrões e adição de padrão externo na amostra, além de comparar com espectros de absorção dos compostos citados na literatura (Simirgiotis *et al.*, 2012).

#### 4.3.7 Determinação do limite de detecção e do limite de quantificação

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados pelo método baseado nos parâmetros da curva analítica, em que os limites de detecção e quantificação são definidos, respectivamente, como a concentração mínima de uma substância que pode ser medida e informada com 95% de confiança. Abaixo estão descritas as equações utilizadas no cálculo do limite de detecção e quantificação (Miller e Miller, 1992).

$$LD = 3,3 \frac{S_{y/x}}{b}$$

$$LQ = 10 \frac{S_{y/x}}{b}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}}$$

Onde  $S_{x/y}$  = erro associado a resposta;  $b$  = coeficiente angular;  $y_i$  = resposta obtida experimentalmente;  $\hat{y}_i$  = estimativa de  $y$  (resposta) dada pela reta de regressão;  $n$  = número de pontos utilizados para construção da curva padrão.

As curvas de calibração foram elaboradas a partir da injeção de solução padrão em triplicata em cinco diferentes concentrações para cada composto fenólico. As concentrações foram baseadas na faixa de concentração esperada para as amostras: ácido caféico ( $y = 162.729,5073x - 29.814,3416$ ,  $R^2 = 0,9999$ ); ácido clorogênico ( $y = 44.479,8702x + 24.066,7376$ ,  $R^2 = 0,9994$ ); ácido ferúlico ( $y = 214.257,9178x - 51.858,2788$ ,  $R^2 = 0,9994$ ); ácido gálico ( $y = 57.468,37x + 43.855$ ,  $R^2 = 0,9984$ ); catequina ( $y = 8.983,27x + 11.302,09$ ,  $R^2 = 0,9997$ ); cianidina ( $y = 220.965,7017x + 156.221,1511$ ,  $R^2 = 0,9932$ ); resveratrol ( $y = 400.310,2283x - 826,9633$ ,  $R^2 = 0,9999$ ); rutina ( $y = 54.930,8408x + 217.578,1713$ ,  $R^2 = 0,9990$ ); quercetina ( $y = 260.030,3332x - 199.831,9572$ ,  $R^2 = 0,9998$ ).

#### 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As comparações entre os valores médios dos extratos de cada fruto e da maçã, ou entre os extratos da fruta inteira, casca e polpa do tucum-do-Cerrado e cada fração e subfração foram feitas pelo teste T para amostras independentes utilizando o programa SPSS Statistics 17.0, (SPSS Inc., Chicago, EUA). Todos os testes foram realizados em triplicata ( $n=3$ ). A significância foi definida como  $p < 0,05$  e as variáveis foram apresentados como média  $\pm$  DP.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este trabalho foi dividido em duas etapas, ambas *in vitro*. A primeira foi realizada em conjunto com o grupo de pesquisa do Laboratório de Bioquímica Nutricional e resultou na publicação do trabalho intitulado “Brazilian Savanna Fruits Contain Higher Bioactive Compounds Content and Higher Antioxidant Activity Relative to the Conventional *Red Delicious* Apple” na revista Plos One, 2013. Especificamente no presente trabalho foi realizada a identificação do potencial antioxidante dos doze frutos do Cerrado e da maçã pelas metodologias de FRAP e oxidação do beta-caroteno pelo ácido linoléico, também foram analisados o teor de flavanóis totais, antocianinas totais, flavonóides amarelos, vitamina C e carotenóides totais.

A segunda etapa constituiu na identificação de compostos fenólicos do tucumdo-Cerrado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-DAD); o qual foi um dos frutos classificado com maior teor de compostos bioativos e capacidade antioxidante na primeira etapa do trabalho.



## PRIMEIRA PARTE:

### 5.1 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE 12 FRUTOS DO CERRADO

Atualmente existem diversos métodos *in vitro* de avaliação da atividade antioxidante de vegetais, o que contribui para a identificação de uma grande variedade de compostos com propriedades funcionais distintas, além da descoberta da complexidade quanto ao modo de atuação desses compostos *in vivo*. Dentre os métodos mais citados na literatura tem-se o FRAP, DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazina) e inibição da oxidação do  $\beta$ -caroteno (Floegel *et al.*, 2011; Souza *et al.*, 2012). O crescente interesse pelos antioxidantes de extratos vegetais pode ser relacionado a sua baixa toxicidade em relação a antioxidantes sintéticos, além dos demais benefícios associados ao consumo de frutas e hortaliças.

Há estudos na literatura que citam a maçã como um dos frutos convencionais com alta atividade antioxidante, e sugerem que os antioxidantes dessa fruta podem ser mais eficazes que suplementos comercializados. Cerca de 100 gramas da maçã *in natura* apresenta uma AA equivalente a 1.500 mg de vitamina C (Eberhardt, Lee e Liu, 2000). Um estudo verificou os cinquenta alimentos ricos em antioxidantes mais populares na dieta dos Estado Unidos, a maçã foi classificada como um dos dez melhores alimentos com essa atividade (Floegel *et al.*, 2011). Outros autores descobriram que entre quinze frutas popularmente consumidas nos Estados Unidos, a maçã foi a que mais contribuiu com compostos fenólicos na dieta americana e, ao lado dos morangos, foram os maiores fornecedores de atividade antioxidante celular (Wolfe *et al.*, 2008). A maçã apresenta elevado teor de compostos bioativos, tais como polifenólicos, flavonóides, e ácidos fenólicos, os quais são encontrados principalmente na casca, e apresentam efeitos benéficos ao indivíduo por auxiliarem na redução do risco de doenças cardiovasculares, câncer entre outras (Tsao *et al.*, 2005). Dessa forma, a maçã *Red Delicious* (*Malus cf*) foi utilizada neste trabalho como fruta convencional padrão para efeito de comparação com o potencial antioxidante dos frutos do Cerrado, em função da sua alta atividade antioxidante relatada na literatura.

Vale ressaltar que os frutos incluídos neste estudo apresentam um importante papel econômico e sócio-cultural para o Brasil. O que reforça a importância em conhecer suas propriedades nutricionais e funcionais como forma de estimular o consumo e descobrir mais sobre a flora nacional.

### **5.1.1 Determinação dos compostos bioativos dos frutos do Cerrado**

Para que os compostos bioativos sejam considerados antioxidantes e exerçam sua função biológica é necessário que, em baixas concentrações sejam capazes de impedir, retardar ou prevenir a oxidação, estabilizando o produto final da reação (Halliwell e Gutteridge, 2007). Os compostos fenólicos são relatados como os principais compostos com atividade antioxidante presentes nos frutos, e podem ser analisados através da reação com o reagente Folin-Cicalteau, e os resultados expressos em equivalentes de ácido tânico (EAT) ou equivalentes de ácido gálico (EAG). Os compostos fenólicos são divididos em não flavonóides e flavonóides, nesse último grupo encontram-se as antocianinas, flavanóis, flavonóis, isoflavonas, flavononas, entre outros. Há métodos espectrofotométricos que dosam o teor de alguns grupos de compostos da classe dos flavonóides, os quais são rápidos, práticos e podem ser reproduzidos com facilidade.

Vale ressaltar que a concentração de compostos fenólicos e seus derivados pode ser subestimada, pois no processo de extração podem ocorrer perdas, restando no bagaço outras classes de flavonóides que se encontram mais fortemente ligados à parede celular, como os ácidos fenólicos e compostos fenólicos de alto peso molecular ligados a açúcares ou lignina. Ou ainda, alguns compostos de interesse podem apresentar baixa solubilidade em determinados solventes, o que pode levar a interpretação errônea de que tais compostos estariam presentes em baixa concentração na amostra estudada. Portanto, são importantes testes preliminares para avaliar a solubilidade e polaridade dos compostos presentes nos frutos, de forma a potencializar ao máximo a extração das substâncias de interesse.

Os flavanóis totais são um grupo de compostos que tem como o principal representante a catequina, e estão presentes como agliconas livres. A catequina

pode ser encontrada na forma de ésteres de ácido gálico (Vermerris e Nicholson, 2006). Neste trabalho a determinação de flavanóis totais (FT) foi realizada pelo ensaio de DMACA, sendo os resultados expressos em equivalentes químico de catequina (ECT) (Tabela 02). As médias de concentrações de FT variaram entre 0,28 a 717 mg ECT/ 100 g de peso úmido, valores correspondentes a mangaba e ao tucum-do-Cerrado, respectivamente. Os maiores valores foram obtidos para o tucum-do-Cerrado, seguido do araticum, valores esses, cerca de 15 a 19 vezes maiores que o da maçã *Red Delicius*. Apenas para o jenipapo e a lobeira não foi possível detectar a concentração de flavanóis totais. Soares et al. (2008) encontraram valores totais de  $11,05 \pm 1,24$  mg ECT/100g de amostra úmida no bagaço da maçã Gala, e Chinnici et al. (2004) encontraram valores totais de flavanóis de  $22,3 \pm 2,64$  e  $0,46 \pm 0,92$  mg ECT/ kg de peso fresco, para casca e polpa da maçã, respectivamente (Chinnici *et al.*, 2004; Soares *et al.*, 2008). Tais dados sugerem que a maçã analisada está com valores próximos aos encontrados na literatura, e ainda que não foi o fruto com maior teor de flavanóis, o que reforça o alto teor de compostos da classe dos flavanóis nos frutos do Cerrado.

Os flavanóides englobam uma classe de compostos com pigmentos presentes nos vegetais, compreendendo entre outros, as antocianinas e flavonóis. As antocianinas são compostos responsáveis pela coloração vermelha, azul e roxa, presentes principalmente em frutas vermelhas e negras, enquanto os flavonóis variam do branco ao amarelo claro. A análise desses compostos foi realizada baseada em espectrofotometria pela metodologia descrita por Francis (1982) em comprimento de onda de 535 e 374 nm, respectivamente, para antocianinas totais (AT) e flavonóides amarelos (FA).

Neste trabalho as concentrações de AT foram maiores no tucum-do-Cerrado, seguido do cajuzinho e jurubeba, enquanto na maçã o teor AT foi de 2,35 mg/100 g peso úmido (Tabela 02). A concentração de AT no tucum-do-Cerrado foi cerca de 35 vezes maior que a concentração encontrada na maçã. Dados da literatura relatam o mirtilo (*Vaccinium* sp.) como um dos frutos com maior teor de antocianinas, apresenta 113,55 mg/100 g peso úmido (Sellappan, Akoh e Krewer, 2002), o valor encontrado para o tucum-do-Cerrado *in natura* representa cerca de 75% da concentração de AT do mirtilo. Os teores de AT do tucum-do-Cerrado foram próximos aos encontrados no açaí (111 mg/100g peso úmido), jambolão (93,3

mg/100 g peso úmido) e puça-preto (*Mouriri pusa*) (103 mg/100g peso úmido), três frutos tropicais de coloração roxa que se destacaram na composição de antocianinas totais em um estudo realizado com frutas brasileiras (Rufino *et al.*, 2009)

Na maçã *Red Delicious* foram identificadas cianidina-3-glicosídeo ( $1,26 \pm 0,06$  mg/100g peso úmido), além de ácido clorogênico ( $1,72 \pm 0,23$  mg/100g peso úmido) e ácido gálico ( $5,28 \pm 0,20$  mg /100 g peso úmido) (Grigoras *et al.*, 2013). Analisando o teor de fenólicos totais e antocianinas totais alguns autores encontraram teores de antocianinas totais e fenólicos totais inferiores ao desse estudo, 0,03 mg e 56,84 mg EAG/100 g peso úmido, respectivamente, e o valor de FRAP  $9,43 \mu\text{mol de Fe}^{2+} / \text{kg}$  peso úmido (Contessa *et al.*, 2013).

Quanto ao teor de flavonóides amarelos encontrados nos frutos do Cerrado se destacam a jurubeba, seguido pelo tucum-do-Cerrado, lobeira, jatobá e a cagaita, o que representa valores cerca de 9, 8, 7, 4 e 1,5 vezes maiores que o da maçã, respectivamente (Tabela 02). Dentre os frutos analisados a maçã ocupa a nona posição. Apenas o araticum, a guariroba e o ingá tiveram valores iguais ou menores de FA que a maçã. O teor de FA em frutas tropicais do Brasil variou entre 65 a 200 mg/100 g de matéria fresca para o açaí, carnaúba, jaboticaba, jambolão, juçara, murta e puça preto (Rufino *et al.*, 2009).

Os frutos que se destacaram em relação ao teor de vitamina C foram o cajuzinho, seguido pelo tucum-do-Cerrado, mangaba, cagaita e a lobeira, e ocupando o sexto lugar a maçã. O valor dessa última foi cerca de 2,5 a 3 vezes menor que o do tucum-do-Cerrado e cajuzinho, respectivamente. O araticum, guariroba, jenipapo, jurubeba, ingá e jatobá apresentaram valores iguais ou menores que a maçã.

Os maiores teores de carotenóides totais foram encontrados para jurubeba, jatobá, cagaita, mangaba e araticum. A maçã teve resultados maiores comparados a lobeira, ingá, jenipapo e guariroba.

Tabela 02 – Compostos bioativos (mg/100 g matéria fresca) de maçã e de doze frutos nativos do Cerrado Brasileiro.

Frutas	Compostos Bioativos				
	Flavanóis Totais (mg catequina/ 100 g)	Flavonóides Amarelos (mg / 100 g)	Antocianinas totais (mg / 100g)	Vitamina C (mg / 100 g)	Carotenóides totais mg $\beta$ -caroteno/100 g
Maçã	37,06 $\pm$ 2,64	5,21 $\pm$ 0,89	2,35 $\pm$ 0,41	26,55 $\pm$ 3,79	0,14 $\pm$ 0,03
Araticum	549,19 $\pm$ 22,12**	4,58 $\pm$ 0,61	0,85 $\pm$ 0,10**	7,88 $\pm$ 1,58*	0,35 $\pm$ 0,04**
Baru	0,28 $\pm$ 0,05**	5,05 $\pm$ 0,29	1,97 $\pm$ 0,15	0,22 $\pm$ 0,00	0,10 $\pm$ 0,01
Cagaita	2,55 $\pm$ 0,38***	8,03 $\pm$ 1,27**	0,46 $\pm$ 0,04**	64,10 $\pm$ 6,39**	0,72 $\pm$ 0,09***
Cajuzinho	11,37 $\pm$ 0,41***	5,59 $\pm$ 0,88	6,90 $\pm$ 0,45***	89,44 $\pm$ 5,86***	0,29 $\pm$ 0,05*
Guariroba	3,83 $\pm$ 0,13***	4,08 $\pm$ 0,199	0,39 $\pm$ 0,03**	4,77 $\pm$ 2,07**	0,02 $\pm$ 0,01**
Ingá	26,18 $\pm$ 2,38**	3,04 $\pm$ 0,45*	0,56 $\pm$ 0,04**	20,19 $\pm$ 3,36	0,06 $\pm$ 0,00**
Jatobá	9,61 $\pm$ 0,66***	22,58 $\pm$ 0,91***	3,44 $\pm$ 0,40*	0,40 $\pm$ 0,17	0,75 $\pm$ 0,13**
Jenipapo	< LD	7,83 $\pm$ 0,43*	0,22 $\pm$ 0,05**	12,18 $\pm$ 2,11**	0,04 $\pm$ 0,00**
Jurubeba	2,56 $\pm$ 0,26***	48,22 $\pm$ 5,32***	4,65 $\pm$ 0,11**	12,95 $\pm$ 3,24*	1,36 $\pm$ 0,15***
Lobeira	< LD	35,12 $\pm$ 3,86***	0,19 $\pm$ 0,02**	55,36 $\pm$ 3,26*	0,06 $\pm$ 0,01**
Mangaba	2,36 $\pm$ 0,46***	6,52 $\pm$ 0,29	0,29 $\pm$ 0,03**	73,41 $\pm$ 15,82**	0,36 $\pm$ 0,01***
Tucum	717,56 $\pm$ 50,67**	42,25 $\pm$ 2,11***	83,17 $\pm$ 6,48**	78,37 $\pm$ 15,83**	0,15 $\pm$ 0,02

Média  $\pm$  DP (n = 3) seguido por \*, \*\*, \*\*\* são significativamente diferentes dos valores obtidos para a maçã (\* p < 0,05; \*\* p < 0,01; \*\*\* p < 0,001; teste T, amostras independentes). < LD: limite de detecção.

No presente trabalho, entre todas as amostras analisadas o tucum-do-Cerrado foi o fruto que demonstrou ser destaque como excelente fonte de compostos bioativos. Apresentou valores elevados de flavanóis, flavonóides amarelos, antocianinas totais e vitamina C, quando comparado a outras amostras, entre essa a própria maçã. Considerando a relação positiva entre o teor de fenólicos e a atividade antioxidante em frutas e hortaliças, os altos teores de fenólicos encontrados nos frutos do Cerrado indicam, possivelmente, que os mesmos tem maior atividade antioxidante comparados a maçã. Para investigar esta hipótese foi analisada a capacidade antioxidante dessas amostras, utilizando duas metodologias, FRAP e a de descoloração do  $\beta$ -caroteno induzida por ácido linoléico.

### 5.1.2 Determinação da atividade antioxidante dos frutos do Cerrado

A metodologia que avalia a capacidade antioxidante total de redução do ferro, ou FRAP, foi realizada de acordo com o descrito por Benzie e Strain (1996). Essa metodologia foi desenvolvida para determinar a redução de ferro em fluídos biológicos, e adaptada para soluções aquosas de compostos puros e para extratos de alimentos. O método avalia a capacidade de redução do  $\text{Fe}^{3+}$ , presente no complexo TPTZ- $\text{Fe}^{3+}$  do reagente FRAP, a  $\text{Fe}^{2+}$ , produzindo no sistema reacional o complexo TPTZ- $\text{Fe}^{2+}$ . A reação acontece na presença de um antioxidante, presente nas frutas, os quais atuam como redutores da reação em meio ácido. A reação é praticamente imediata, e o complexo reduzido, TPTZ- $\text{Fe}^{2+}$ , tem coloração azul intensa, e é monitorado em espectrofotômetro a 593 nm (Benzie e Strain, 1996). A principal limitação do método é pelo fato de que nem todo agente capaz de reduzir o  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$  é um antioxidante, como também nem todo antioxidante tem capacidade redutora. Enquanto o ponto positivo da metodologia é que foi avaliada como a técnica mais reprodutível quando comparado com outros testes como ABTS, DPPH e ORAC, além disso apresenta uma elevada correlação com os teores de ácido ascórbico e grupos fenólicos (Thaipong *et al.*, 2006).

Os resultados encontrados para FRAP mostram que os extratos aquosos, incluindo a maçã, apresentaram valores superiores de atividade antioxidante quando

comparados aos extratos de acetato de etila (EAE) para todos os frutos analisados (Tabela 03). Dentre os extratos aquosos que apresentaram maiores valores de FRAP estão o tucum-do-Cerrado, araticum, cagaita, jurubeba e mangaba, que variaram cerca de 1,5 a 6,5 vezes maiores comparados a maçã. O extrato de EAE também apresentou o maior valor no ensaio de FRAP para o tucum-do-Cerrado, aproximadamente 6 vezes maior que a maçã. E os extratos EAE da cagaita, cajuzinho, lobeira e araticum foram cerca de duas vezes superiores ao extrato EAE de maçã.

Tabela 3 – Capacidade total de redução de ferro (FRAP) e % de inibição da oxidação do  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico (peso seco) nos extratos aquosos e de acetato de etila da maçã e de doze frutos-do-Cerrado.

Nome comum	FRAP		$\beta$ -Caroteno/linoléico	
	$\mu\text{mol/g}$ de fruta		% Inibição/g	
	EAE	Aquoso	EAE	Aquoso
Maçã	8,6 $\pm$ 1,7	33,8 $\pm$ 3,9 <sup>##</sup>	4,0 $\pm$ 0,3	3,2 $\pm$ 0,6
Araticum	16,0 $\pm$ 1,7 <sup>**</sup>	212,0 $\pm$ 27,5 <sup>***,##</sup>	2,3 $\pm$ 0,1 <sup>**</sup>	17,0 $\pm$ 1,5 <sup>***,##</sup>
Baru	1,3 $\pm$ 0,1 <sup>*</sup>	8,8 $\pm$ 0,2 <sup>***,###</sup>	0,6 $\pm$ 0,1 <sup>***</sup>	6,0 $\pm$ 0,5 <sup>**,#</sup>
Cagaita	19,6 $\pm$ 1,0 <sup>**</sup>	107,0 $\pm$ 2,0 <sup>***,###</sup>	0,6 $\pm$ 0,4 <sup>***</sup>	16,4 $\pm$ 2,0 <sup>***,###</sup>
Cajuzinho	18,5 $\pm$ 0,5 <sup>**</sup>	45,5 $\pm$ 1,9 <sup>*,###</sup>	1,9 $\pm$ 0,4 <sup>**</sup>	0,7 $\pm$ 0,3 <sup>*,#</sup>
Gueroba	2,2 $\pm$ 0,8 <sup>**</sup>	8,8 $\pm$ 1,6 <sup>**,##</sup>	1,5 $\pm$ 0,4 <sup>**</sup>	0,7 $\pm$ 0,1 <sup>**,#</sup>
Ingá	2,0 $\pm$ 0,3 <sup>*</sup>	14,9 $\pm$ 3,3 <sup>**,##</sup>	0,1 $\pm$ 0,1 <sup>***</sup>	0,4 $\pm$ 0,2 <sup>**,#</sup>
Jatobá	0,7 $\pm$ 0,1 <sup>*</sup>	5,4 $\pm$ 1,3 <sup>***,##</sup>	0,4 $\pm$ 0,0 <sup>***</sup>	0,4 $\pm$ 0,1 <sup>**</sup>
Jenipapo	1,3 $\pm$ 0,2 <sup>*</sup>	8,2 $\pm$ 3,0 <sup>**,#</sup>	1,1 $\pm$ 0,1 <sup>***</sup>	0,4 $\pm$ 0,2 <sup>**,##</sup>
Jurubeba	8,6 $\pm$ 0,3	54,1 $\pm$ 0,4 <sup>**,###</sup>	0,7 $\pm$ 0,3 <sup>***</sup>	4,7 $\pm$ 0,2 <sup>*,###</sup>
Lobeira	17,5 $\pm$ 0,7 <sup>**</sup>	39,7 $\pm$ 0,6 <sup>###</sup>	-0,3 $\pm$ 0,5 <sup>**</sup>	45,1 $\pm$ 1,2 <sup>***,###</sup>
Mangaba	7,4 $\pm$ 2,2	47,2 $\pm$ 2,3 <sup>**,###</sup>	5,7 $\pm$ 0,1 <sup>**</sup>	5,3 $\pm$ 0,9 <sup>*</sup>
Tucum	53,2 $\pm$ 3,9 <sup>***</sup>	220,0 $\pm$ 19,6 <sup>***,###</sup>	6,0 $\pm$ 0,5 <sup>**</sup>	19,9 $\pm$ 3,0 <sup>**,#</sup>

Média  $\pm$  DP (n = 3), seguido por \*, \*\*, \*\*\* são significativamente diferentes dos valores da maçã, e seguido por #, ##, ### são significativamente diferentes do extrato acetato de etila (EAE) (\*<sup>#</sup> p < 0,05; \*\*<sup>,##</sup> p < 0,01; \*\*\*<sup>,###</sup> p < 0,001; teste T, amostras independentes).

A atividade antioxidante estimada por FRAP em extratos aquosos de araticum, cagaita, cajuzinho, jurubeba, lobeira, magaba e tucum-do-Cerrado (39,7 – 220  $\mu\text{mol/g}$  de fruta) foram maiores do que algumas frutas convencionais comumente consumidas pela população, tais como abacate, banana, uva, laranja, mamão, abacaxi e melância, cujos valores variaram entre 2,76 a 14,5  $\mu\text{mol/g}$  de fruta (Fu *et al.*, 2011).

Observou-se ainda uma alta correlação entre o teor de fenóis totais e a atividade antioxidante obtida pelo ensaio de FRAP nos extratos aquosos dos frutos do Cerrado ( $r = 0,689$ ,  $p = 0,000$ ) (dados não mostrados). Nos extratos de EAE esta correlação foi menor, porém ainda significativa ( $r = 0,404$ ,  $p = 0,011$ ). Uma correlação forte e também positiva entre o teor de flavanóis totais e a capacidade antioxidante obtida por FRAP foram observadas tanto no extrato aquoso ( $r = 0,918$ ,  $p = 0,000$ ), quanto no EAE ( $r = 0,765$ ,  $p = 0,004$ ). As concentrações de antocianinas também foram positivamente correlacionadas com os valores do ensaio FRAP para os extratos aquosos ( $r = 0,630$ ,  $p = 0,028$ ) e extratos de EAE ( $r = 0,873$ ,  $p = 0,000$ ). Tais resultados reforçam que os flavonóides, entre estes os flavanóis, possivelmente são os principais compostos antioxidantes presentes nos frutos-do-Cerrado, e as antocianinas também podem contribuir para a capacidade antioxidante de alguns destes frutos.

A outra metodologia de avaliação da atividade antioxidante baseia-se na descoloração do  $\beta$ -caroteno induzida pelo ácido linoléico. Esse método baseia-se na redução da coloração do  $\beta$ -caroteno medido pelo decréscimo de absorbância (470 nm), em função da peroxidação do ácido linoléico na emulsão, acelerada pela temperatura e presença de oxigênio no meio de reação. Os carotenóides podem perder a coloração através da auto-oxidação, oxidação induzida por luz ou calor, ou por radicais peroxil, portanto, na presença de um antioxidante a reação de descoloração é mais lenta, pois estes podem doar átomos de hidrogênio para estabilizar os radicais livres formados (Prior, Wu e Schaich, 2005). É um método simples, sensível, mas não específico, pois substâncias oxidantes ou redutoras interferem no ensaio. A principal limitação da metodologia é o fato das reações ocorrerem em uma emulsão, o que pode interferir no comportamento de alguns antioxidantes, e isso, muitas vezes, leva a falta de reprodutibilidade. Nas emulsões de óleo em água há maior eficácia protetora de antioxidantes lipofílicos, enquanto



em sistemas lipídicos a melhor atividade são de antioxidantes hidrofílicos (Kiokias, Varzakas e Oreopoulou, 2008). Além disso também há limitações em relação ao número de análises simultâneas que são realizadas, ao controle de temperatura e, em alguns casos a presença de sais nos extratos pode fazer com que flavonóides apresentem comportamento pró-oxidante. Apesar das dificuldades, é um método amplamente utilizado, e como não recorre a altas temperaturas, permite a determinação do poder antioxidante de compostos termo-sensíveis (Duarte-Almeida *et al.*, 2006).

Os resultados desse teste são expressos em valores percentuais, que significam proteção contra o decaimento de coloração do  $\beta$ -caroteno. Pode-se observar que esta metodologia seguiu a mesma tendência observada na metodologia de FRAP em relação aos diferentes solventes, os extratos aquosos da maioria das espécies analisadas inibiram a oxidação de  $\beta$ -caroteno em uma extensão maior do que os extratos de EAE. Notavelmente, o percentual de inibição induzido pelo extrato aquoso da lobeira foi cerca de 14 vezes superior ao encontrado para a maçã. Seguido pelo tucum-do-Cerrado, que apresentou o segundo maior valor de atividade antioxidante neste ensaio, aproximadamente 6 vezes maior que o extrato aquoso da maçã, e ainda, os extratos aquosos do araticum e cagaita foram 5 vezes mais potente que a maçã. Os extratos aquosos da mangaba e jurubeba também apresentaram maior atividade antioxidante neste ensaio comparados a maçã ( $p < 0,05$ ). Exceto para tucum-do-Cerrado e mangaba, os EAE dos demais frutos apresentaram atividades antioxidantes igual ou menor que o extrato da maçã para esse solvente. Não foram observadas correlações entre os níveis de nenhuma das classes dos compostos bioativos analisados e a atividade antioxidante pelo ensaio  $\beta$ -caroteno/linoléico, em ambos os extratos.

Portanto, comparando a maçã *Red Delicious* com as espécies vegetativas do Cerrado estudadas, os frutos araticum, cagaita, cajuzinho, ingá, jenipapo, jurubeba, lobeira, magaba e tucum-do-Cerrado mostraram altos níveis de compostos fenólicos. O araticum e tucum-do-Cerrado são ricos em flavonóides. O cajuzinho, jatobá, jurubeba e tucum-do-Cerrado apresentaram altos teores de antocianinas. A cagaita, cajuzinho, lobeira, mangaba e tucum-do-Cerrado mostraram altos níveis de vitamina C. O alto teor de compostos bioativos encontrados no araticum, cagaita, cajuzinho, jurubeba, lobeira, magaba e tucum-do-Cerrado corresponderam à alta

atividade antioxidante destes frutos. O consumo diário de pelo menos um dos sete desses frutos-do-Cerrado estudados, particularmente, araticum, cagaita, lobeira, tucum-do-Cerrado pode proteger os tecidos humanos contra o estresse oxidativo e, assim, prevenir doenças crônicas e o envelhecimento precoce. Além disso, esses frutos podem proporcionar uma fonte de novos compostos bioativos com propriedades funcionais benéficas a saúde, o que deverá estimular as indústrias farmacêutica e de alimentos para o desenvolvimento de novos produtos, promovendo o desenvolvimento sustentável das regiões do Cerrado.

## SEGUNDA PARTE:

### 5.2 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ALGUNS COMPOSTOS FENÓLICOS DO TUCUM-DO-CERRADO

Na primeira parte desse trabalho, o tucum-do-Cerrado foi identificado como um dos frutos do Cerrado brasileiro com alto teor de compostos bioativos e alta atividade antioxidante em relação a maçã *Red Delicious*. Considerando esses dados, a segunda parte desse trabalho teve por objetivo identificar e quantificar compostos fenólicos presentes na casca do tucum-do-Cerrado. Inicialmente foram realizadas as análises do teor de umidade, fenólicos totais, flavanóis totais, antocianinas totais, flavonóides amarelos, carotenóides totais e vitamina C presentes no fruto inteiro e nas suas partes (casca ou polpa), separadamente.

#### 5.2.1 Determinação dos compostos bioativos do tucum-do-Cerrado

O tucum é um fruto comestível, com sabor ácido, levemente adocicado, apresenta uma semente muito resistente de coloração escura. A casca é muito fibrosa, com coloração arroxeada intensa; e a polpa é suculenta, de coloração branca, lembra um “algodão umidecido”. Fisicamente esse fruto tem semelhança com outros frutos tropicais encontrados no Brasil, como a jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), açaí (*Euterpe oleracea*), jambolão (*Syzygium cumini*) e juçara (*Euterpe edulis*), e também são popularmente conhecidos como a “uva-do-cerrado” (Figura 28).

Os resultados do teor de umidade, teores de fenólicos totais, flavanóis, antocianinas, flavonóides amarelos, vitamina C e carotenóides totais foram obtidos separadamente para a casca, a polpa ou fruto inteiro do tucum-do-Cerrado e estão apresentados na tabela 4. Devido a textura fibrosa, o teor de umidade da casca foi menor que o teor obtido para a polpa do tucum-do-Cerrado. Um resultado similar para o teor de umidade foi obtido com a casca de jaboticaba (79,5 %), fruto que

apresenta características físicas semelhantes ao tucum-do-Cerrado (Leite-Legatti et al., 2012).



Figura 28 – Frutos tropicais brasileiros com características físicas similares: (A) tucum-do-Cerrado (*Bactris setosa*), (B) jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*), (C) camu-camu (*Myrciaria dubia*), (D) açaí (*Euterpe oleracea*), (E) jambolão (*Syzygium cumini*), (F) juçara (*Euterpe edulis*),

A casca do tucum-do-Cerrado apresentou maiores concentrações de todos os compostos analisados quando comparada a polpa e ao fruto inteiro, sugerindo que a casca é a parte do fruto que mais contribui com o conteúdo de compostos bioativos do tucum-do-Cerrado (Tabela 04). Além disso os compostos bioativos tem a função

de proteger as plantas contra agressões externas, portanto, sendo a casca a parte do fruto com maior contato com o meio externo, esta deve conter a maior parte dos compostos responsáveis pelas defesas da planta. Resultados similares foram relatados por outros autores, os quais encontraram maior concentração de compostos fenólicos na casca comparados a polpa de frutos (Li *et al.*, 2006; Barros, Ferreira e Genovese, 2012).

Tabela 04 – Teor de umidade (%) e compostos bioativos (mg/100 g) da casca, polpa ou fruto inteiro do tucum-do-Cerrado expressos em amostra fresca

	Tucum-do-Cerrado		
	Casca	Polpa	Fruto inteiro
Umidade	71,43 ± 0,84 <sup>**,###</sup>	91,23 ± 1,26 <sup>***</sup>	77,90 ± 0,99
Fenólicos totais <sup>§</sup>	28.287,6 ± 614,76 <sup>***,###</sup>	230,47 ± 0,93 <sup>***</sup>	5.214,32 ± 132,5
Flavanóis totais <sup>§</sup>	1.068,48 ± 10,25 <sup>***,###</sup>	79,23 ± 1,97 <sup>***</sup>	746,69 ± 4,61
Antocianinas totais	638,52 ± 3,30 <sup>***,###</sup>	2,42 ± 0,11 <sup>**</sup>	83,17 ± 6,48
Flavonóides amarelos	322,97 ± 7,90 <sup>***,###</sup>	5,26 ± 0,12 <sup>***</sup>	42,25 ± 2,11
Vitamina C	181,21 ± 23,25 <sup>*,#</sup>	53,69 ± 0,00 <sup>*</sup>	100,60 ± 20,31
Carotenóides totais	290,41 ± 20,66 <sup>***,###</sup>	56,54 ± 4,67 <sup>**</sup>	147,80 ± 20,47

Média ± DP (n = 3) seguidos por \*, \*\*, \*\*\* são significativamente diferentes dos valores obtidos no fruto inteiro e seguidos por #, ##, ### são significativamente diferentes da polpa (\*:# p < 0,05; \*\*:## p < 0,01; \*\*\*,### p < 0,001;); teste T, amostras independentes). § Resultados de fenólicos totais e flavanóis foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico e mg de equivalentes de catequina / 100 g, respectivamente. Carotenóides totais expressos µg de β-caroteno/100g.

Entre as classes de compostos analisados, os fenólicos totais, flavanóis e antocianinas totais foram os principais compostos presentes na casca, enquanto na polpa as maiores concentrações encontradas foram de fenólicos e flavanóis totais. Notavelmente, a concentração dos compostos fenólicos, flavanóis, antocianinas e flavonóides amarelos foi, respectivamente, 112, 14, 264 e 64 vezes maior na casca comparada a polpa. A maior exposição da casca as agressões ambientais pode explicar o alto conteúdo de antioxidante encontrado nesta porção do fruto. De acordo com Ignat, Volf e Popa (2011), os compostos fenólicos podem atuar como agentes protetores contra a radiação ultra-violeta, patógenos e predadores em vegetais, portanto a casca estaria mais desenvolvida para sintetizar compostos fenólicos como mecanismo de defesa aos agentes agressores (Ignat, Volf e Popa, 2011).

O teor de fenólicos totais encontrados no tucum-do-Cerrado (fruta inteira) foi maior que o teor obtido em outros seis frutos tropicais não-tradicionais do Brasil, açai, camu-camu, jaboticaba, jambolão, juçara e murta (185 a 1176 mg GAE/100g peso úmido) (Rufino *et al.*, 2010), que se assemelham fisicamente com o tucum-do-Cerrado, apresentando coloração roxa e polpa branca ou transparente. Segundo Souza *et al.* (2012), as frutas podem ser classificadas em três categorias de acordo com seu teor de fenólicos totais: baixo (<100 mg GAE/100 g), médio (100-500 mg GAE/100g) e alto (> 500 mg GAE/100 g). De acordo com essa classificação, o tucum-do-Cerrado pode ser classificado como um fruto de alto teor de compostos fenólicos (Souza *et al.*, 2012).

Os resultados de flavanóis totais mostram que a casca apresentou concentração cerca de 14 vezes maior que a polpa do tucum-do-Cerrado. O conteúdo de flavanóis totais encontrados no fruto inteiro foi cerca de 5 a 107 vezes maior comparado ao conteúdo relatado na literatura para o jambolão (Luximon-Ramma, Bahorun e Crozier, 2003; Benherlal e Arumughan, 2007; Faria, Marques e Mercadante, 2011). Esta ampla faixa de concentração de flavanóis totais obtidos para jambolão foi atribuída à variabilidade inerente à matéria-prima, bem como às diferenças em metodologias utilizadas, o que pode refletir para os frutos de forma geral (Faria, Marques e Mercadante, 2011).

Em relação ao teor de antocianinas totais o tucum-do-Cerrado apresentou resultados similares aos valores encontrados em outros frutos tropicais com coloração roxa (açai, camu-camu, jaboticaba e jambolão; 42 – 111 mg de AT / 100 g de peso úmido), no entanto valores ainda maiores foram obtidos para a juçara e a murta, variando entre 140 a 200 mg de AT / 100 g de peso úmido (Rufino *et al.*, 2010). Entretanto, a casca do tucum-do-Cerrado apresentou concentração extremamente alta de antocianinas totais quando comparada aos frutos tropicais citados acima, ou ainda, ao próprio fruto inteiro. Ao comparar os valores de concentrações de antocianinas entre a casca e a polpa, observa-se que estes foram amplamente diferentes, chegando a ser cerca de 250 vezes maior na casca comparada à polpa.

Em relação ao teor de flavonóides amarelos (FA), o tucum-do-Cerrado não pode ser considerado um fruto fonte desse composto quando comparado com outros frutos tropicais, uma vez que o açai, jambolão, juçara e murta (70,9 a 375 mg de FA/

100 g de peso úmido) mostraram conteúdo de FA ao menos duas vezes maior comparado ao fruto inteiro analisado no presente estudo (Rufino *et al.*, 2010).

Ramful *et al.* (2011) classificaram os frutos em três categorias, de acordo com o teor de ácido ascórbico: baixo (<30 mg/100 g), médio (30 - 50 mg/100 g) e alto (> 50 mg/100 g) (Ramful *et al.*, 2011). Segundo essa classificação, o tucum-do-Cerrado pode ser considerado um fruto com alto teor de ácido ascórbico, apresentando uma concentração semelhante ao de algumas frutas tropicais: açaí, caju, carnaúba, jambolão, juçara, mangaba, murici e murta (78 a 190 mg de ácido ascórbico/ 100 g de peso úmido), embora maiores concentrações tenham sido obtidas para o camu-camu e a acerola ( $1.882 \pm 43,2$  e  $1.357 \pm 9,5$  mg/100g de peso úmido, respectivamente), frutas que são consideradas excelentes fontes de vitamina C (Rufino *et al.*, 2010). Os teores de vitamina C e carotenóides também foram maiores na casca comparados a polpa.

Os carotenóides são importantes precursores de vitamina A presentes em alimentos de origem vegetal, sendo também considerados como compostos com alta atividade antioxidante, podendo prevenir contra o aparecimento de doenças crônicas associadas ao estresse oxidativo. De acordo com dados da literatura, alimentos que tem concentração  $\beta$ -caroteno maior ou igual a 20  $\mu\text{g}$  / g de alimento são considerados excelente fonte de carotenóides (Rodrigues-Amaya, Kimura e Amaya-Farfan, 2008). Portanto, o tucum-do-Cerrado não pode ser considerado uma fonte potencial de carotenóides, pois a concentração desse composto foi de 1,4  $\mu\text{g}$  /g de fruto fresco. Tal concentração foi significativamente menor quando comparado a outros frutos tropicais considerados fontes deste nutriente, como buriti, tucumã, bocaiúva, bacuri e umari (mari), com valores entre 99-364  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno /g de peso úmido (Rodrigues-Amaya, Kimura e Amaya-Farfan, 2008). A mangaba e o gurguri, frutas não-tradicionais do Brasil, também apresentaram concentração de carotenóides totais (300  $\mu\text{g}$  a 4700  $\mu\text{g}$  de carotenóides totais/100 g de peso úmido) maiores que o tucum-do-Cerrado (Rufino *et al.*, 2010).

### 5.2.2 Determinação da atividade antioxidante do tucum-do-Cerrado

Na primeira parte desse estudo foi verificado que o extrato aquoso do tucum-do-Cerrado apresentou entre os doze frutos-do-Cerrado estudados uma das maiores atividade antioxidante quando avaliada pelo ensaio de FRAP (Siqueira *et al.*, 2013). Ao avaliar a capacidade antioxidante das diferentes partes do fruto (casca e polpa) verificou-se que os extratos etanólico e metanólico da casca ou polpa do tucum-do-Cerrado apresentaram maior atividade antioxidante pelo ensaio FRAP quando comparados ao extrato aquoso (Tabela 05). Entre as frações do extrato aquoso, a fração metanol/água (F-MAq) apresentou maior atividade antioxidante em relação as frações F-AE e F-Hex, tanto na casca quanto na polpa de tucum-do-Cerrado.

A atividade antioxidante do tucum-do-cerrado foi também avaliada pelo sistema de oxidação  $\beta$ -caroteno / ácido linoléico, e os resultados expressos em percentual de inibição da oxidação do  $\beta$ -caroteno (Tabela 05). Os resultados demonstram a mesma tendência observada no ensaio de FRAP, em que os extratos etanólicos e metanólicos da casca ou polpa apresentaram maior proteção a oxidação comparado ao extrato aquoso, e ainda, a casca apresentou maior potencial antioxidante comparado a polpa.

Estes dados demonstraram que a capacidade antioxidante do tucum-do-Cerrado está associada principalmente aos compostos presentes na casca. E que, a maioria dos compostos antioxidantes deste fruto apresentam em solventes polares uma maior solubilidade quando comparados ao hexano ou a solventes apolares. Como mostrado na tabela 05, a fração de hexano (F-Hex) da casca ou da polpa praticamente não apresentou atividade antioxidante quando avaliadas pelas metodologias de FRAP e  $\beta$ -caroteno/ ácido linoléico. É importante considerar que o extrato aquoso foi liofilizado, por conseguinte, a sua baixa capacidade antioxidante em relação aos extratos metanólicos e etanólicos pode estar associada à perda de compostos voláteis, com conseqüente decréscimo da atividade antioxidante.

Os compostos voláteis são produzidos por todas as plantas, e são responsáveis pelo aroma característico das mesmas. São compostos orgânicos, geralmente apolares, como o metil antranilato, presente em várias frutas vermelhas. Esses compostos contribuem para o sabor, e são afetados pela maturidade,



crescimento e condições de armazenamento dos frutos. O aroma é específico para cada fruto, no morango é determinado por ésteres com álcoois, aldeídos, cetonas, terpenos; enquanto no mirtilo o aroma é definido pela presença de hidrocarbonetos aromáticos, ésteres, terpenos e álcoois de cadeia longa (Jimenez-Garcia *et al.*, 2013). De maneira geral, durante os processos de extração e desidratação, mesmo em condições de pressão controlada, podem ocorrer perdas de substâncias voláteis em relação a amostra fresca, relacionadas principalmente ao tempo de exposição, osmolaridade da solução (Torres *et al.*, 2007).

Tabela 05 - Atividade antioxidante dos diferentes extratos e frações da casca e polpa do tucum-do-Cerrado, amostra fresca.

	FRAP ( $\mu\text{mol Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$ peso úmido)	$\beta$ -caroteno/ ácido linoléico (%) g peso úmido
<b>Casca</b>		
Extrato Aquoso	160,36 $\pm$ 9,48	3,13 $\pm$ 0,10
Fração metanol / água	68,02 $\pm$ 0,74 <sup>*</sup>	1,12 $\pm$ 0,11 <sup>***</sup>
Fração acetato de etila	37,09 $\pm$ 0,55 <sup>*, \$\$\$</sup>	0,61 $\pm$ 0,04 <sup>***, \$\$</sup>
Fração hexano	2,69 $\pm$ 0,09 <sup>*, \$\$\$</sup>	nd
Extrato metanólico	237,95 $\pm$ 6,50 <sup>**</sup>	3,41 $\pm$ 0,10 <sup>*</sup>
Extrato etanólico	303,90 $\pm$ 12,52 <sup>**</sup>	7,04 $\pm$ 0,42 <sup>***</sup>
<b>Polpa</b>		
Extrato Aquoso	9,66 $\pm$ 0,06 <sup>##</sup>	0,33 $\pm$ 0,08 <sup>###</sup>
Fração metanol / água	3,01 $\pm$ 0,06 <sup>**, ###</sup>	0,15 $\pm$ 0,06 <sup>*, ###</sup>
Fração acetato de etila	2,39 $\pm$ 0,07 <sup>**, ###, \$\$\$</sup>	0,08 $\pm$ 0,03 <sup>**, ###</sup>
Fração hexano	0,22 $\pm$ 0,01 <sup>**, ###, \$\$\$</sup>	nd
Extrato metanólico	26,92 $\pm$ 0,43 <sup>**, ###</sup>	0,67 $\pm$ 0,04 <sup>**, ###</sup>
Extrato etanólico	22,81 $\pm$ 1,16 <sup>*, ###</sup>	0,91 $\pm$ 0,14 <sup>**, ###</sup>

Média  $\pm$  DP (n = 3) seguidos por \*, \*\*, \*\*\* são significativamente diferentes dos valores obtidos para extrato aquoso da casca ou polpa, e seguidos por #, ##, ### são significativamente diferentes dos valores obtidos para a casca no mesmo extrato ou fração, e seguidos por \$\$, \$\$\$ são significativamente diferentes dos valores obtidos para a fração metanol /água para a casca ou polpa (\*:# p < 0,05; \*\*:## p < 0,01; \*\*\*,### p < 0,001;); teste T, amostras independentes).

A atividade antioxidante estimada pelo ensaio FRAP nos extratos aquosos, metanólico e etanólico da casca do tucum-do-Cerrado foram superiores aos valores apresentados por alguns frutos convencionais comumente consumidos pela população, tais como abacate, banana, uva, laranja, mamão, abacaxi e melancia, cujos valores variaram entre 2,76 a 14,5  $\text{Fe}_2\text{SO}_4$   $\mu\text{mol/g}$  de frutas (Fu *et al.*, 2011).

Mesmo os valores dos extratos metanólicos e etanólicos da polpa do tucum-do-Cerrado, que apresentaram menor capacidade antioxidante em relação a casca, foram pelo menos 1,5 vezes maior do que aqueles apresentados pelos frutos convencionais. Estes resultados demonstraram a elevada capacidade antioxidante do tucum-do-Cerrado.

Em outro estudo envolvendo dezoito frutos tropicais não-tradicionais do Brasil, o açaí, camu-camu, jaborcaba, jambolão, juçara e murta, as quais apresentam características físicas semelhantes ao tucum-do-Cerrado, foi observado uma capacidade antioxidante significativamente menor (32,1 a 279  $\text{Fe}_2\text{SO}_4$   $\mu\text{mol/g}$  de peso úmido) comparada ao valor obtido no presente estudo para a casca do tucum-do-Cerrado (Rufino *et al.*, 2010).

Os valores da atividade antioxidante dos extratos aquoso, metanólico e etanólico da casca ou polpa do tucum-do-Cerrado, obtidos pelo ensaio do  $\beta$ -caroteno/ ácido linoléico foram bem menores que os valores encontrados para algumas frutos tropicais não-tradicionais do Brasil (32 a 91% / g de peso úmido). Esse método é baseado no princípio da capacidade dos extratos em inibir a descoloração do  $\beta$ -caroteno causados pelos radicais livres gerados durante a peroxidação de ácido linoléico (Hassimotto, Genovese e Lajolo, 2005). Alguns autores relatam que a vitamina C pode exercer um efeito pró-oxidante no sistema  $\beta$ -caroteno/ ácido linoléico devido à formação de radicais de ascorbil durante a oxidação (Kalt *et al.*, 1999). O tucum-do-Cerrado foi classificado nesse trabalho como um fruto com alto teor de vitamina C e, por isso, provavelmente o teste de  $\beta$ -caroteno/ ácido linoléico não refletiu a capacidade antioxidante real deste fruto, podendo estar subestimada pela atividade pró-oxidante da vitamina C.

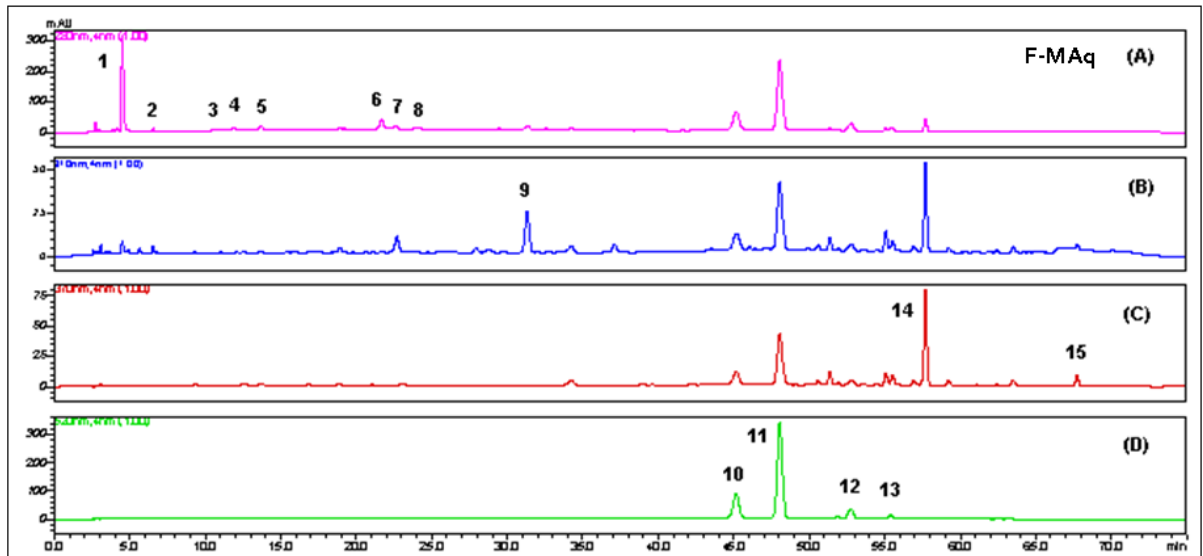
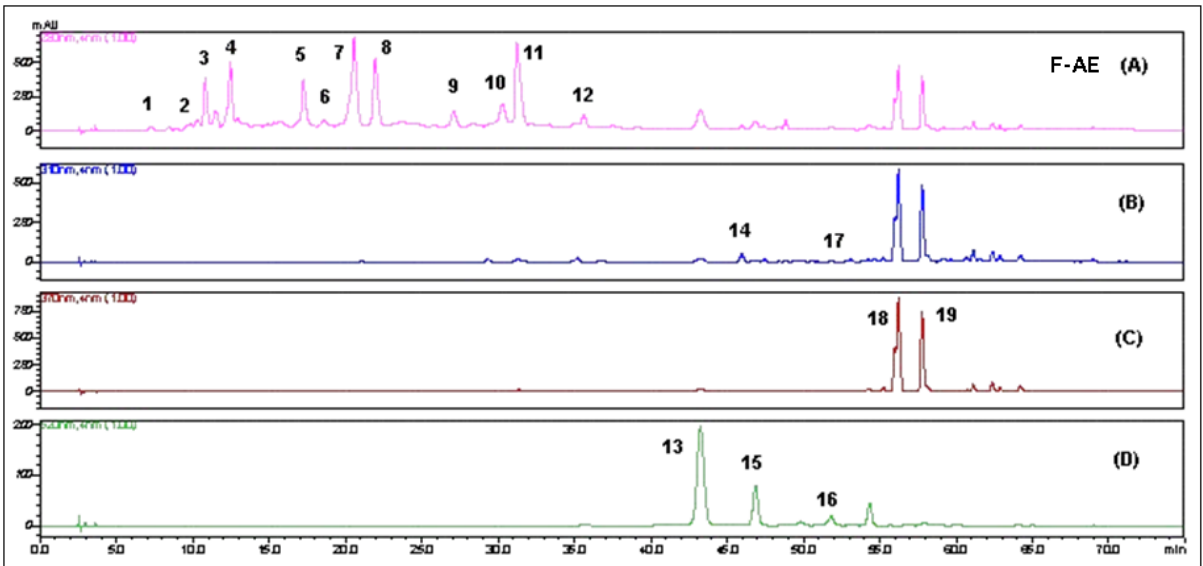
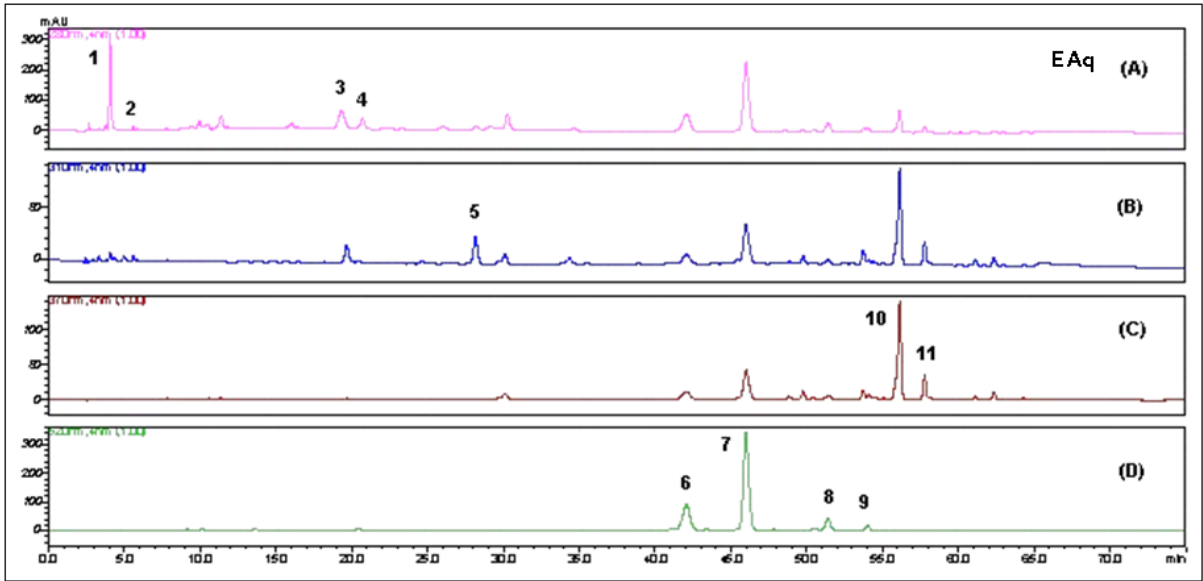
O maior teor de compostos fenólicos presentes na casca do tucum-do-Cerrado comparados ao teor de vitamina C e carotenóides sugerem que estes compostos devem ser responsáveis pela alta atividade antioxidante observada na casca do fruto pelos ensaios de FRAP e  $\beta$ -caroteno/ ácido linoléico. O elevado teor de compostos antioxidantes encontrados na casca do tucum-do-Cerrado comparados a sua polpa podem ser relacionados com a exposição direta da casca com o meio externo, uma vez que a casca é a parte mais susceptível as agressões ambientais. Provavelmente, os fatores abióticos, como acidez do solo, a exposição excessiva à luz solar e frequentes queimadas durante a estação seca, estimulam a

planta a sintetizar compostos antioxidantes para protegê-las contra o estresse oxidativo e, conseqüentemente, esse fato determinou a seleção de espécies resistentes ao estresse ambiental na região do Cerrado.

### **5.2.3 Identificação dos Compostos Fenólicos do Tucum-do-Cerrado por HPLC-DAD**

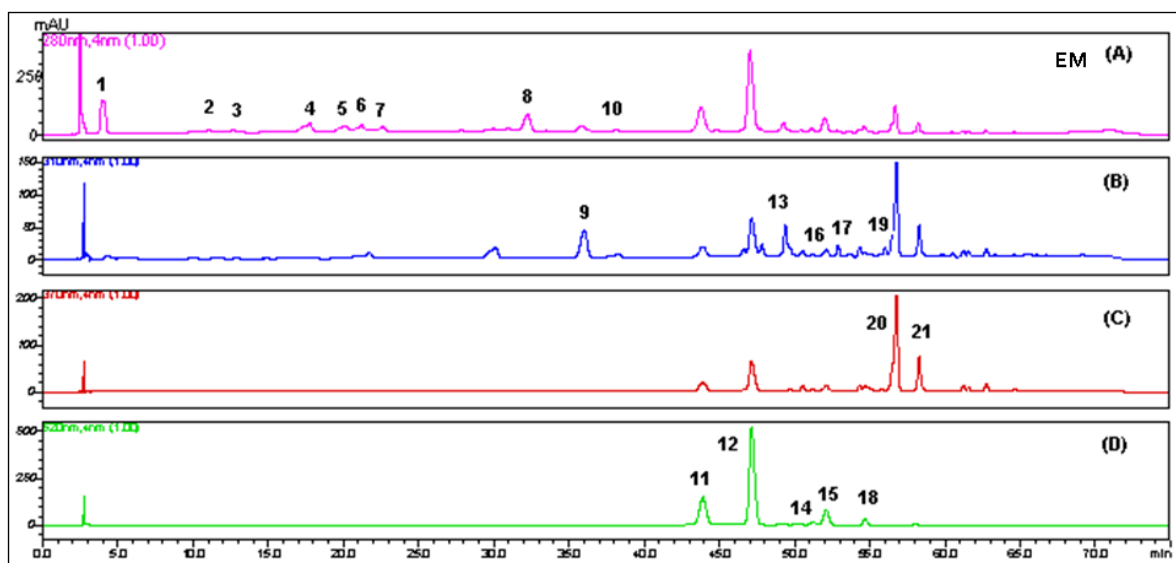
O método analítico Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de arranjo de fotodiodos (HPLC-DAD) foi otimizado com o objetivo de obter maior eficiência cromatográfica de separação, identificação e quantificação dos principais compostos presentes nos diferentes extratos da casca do tucum-do-Cerrado. Os resultados referente a polpa não foram apresentados devido a baixa intensidade dos sinais obtidos para esta amostra. A F-Hex também foi descartada devido a baixa atividade antioxidante dessa fração.

Os cromatogramas foram registrados a 280 nm (ácido gálico e flavanóis - catequina), 310 nm (derivados do ácido hidroxicinâmicos e estilbenos), 370 nm (flavonóis) e 520 nm (antocianinas) para os extratos aquosos (EAq) e suas frações metanol/água (F-MAq), hexano (F-Hex) e acetato de etila (F-AE), extrato metanólico (EM) e extrato etanólico (EE), como mostrado nas figuras 29, 30 e 31. Os compostos identificados, representados pelos picos numerados nos cromatogramas das figuras, estão descritos na tabela em seguida, numerados em ordem para cada extrato ou fração. O espectro de absorção dos picos obtidos em cada cromatograma foram comparados ao espectro de absorção dos padrões e quantificados de acordo com a curva padrão previamente estabelecida para cada composto.



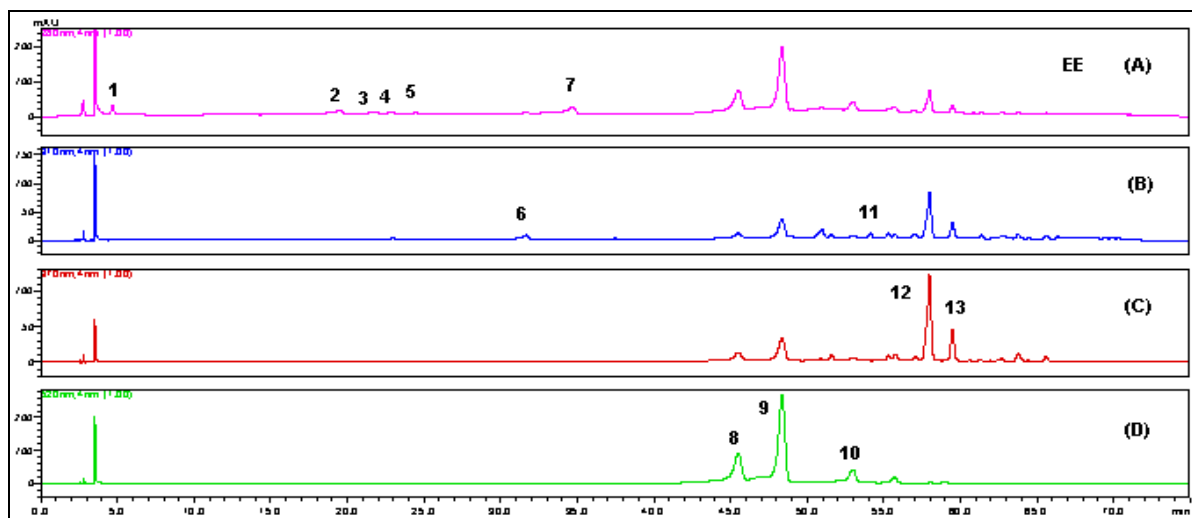
Extrato/ Fração	Pico	Tempo de retenção (min)	Abs Max. (nm)	Composto fenólico identificado	Teor (mg/ 100 g PF)
<b>EAq</b>					
	1	4.05	226, 272, 487, 657, 470	Ácido gálico	61.46
	2	5.60	224/276/241/487/657	Ácido gálico	0.65
	3	19.28	224, 278, 242, 470, 381	Flavanol(Catequina)	214.61
	4	20.70	224, 278, 242, 550, 470	Flavanol(Catequina)	88.97
	5	28.16	319,222, 287, 520, 470	Ácido hidroxicinâmico (Ácido Caféico)	1.95
	6	42.05	516, 279, 234, 329, 657	Antocianina (cianidina)	25.13
	7	45.99	224, 520, 280, 330	Antocianina (cianidina)	71.44
	8	51.41	223, 520, 279, 279,334, 630	Antocianina (cianidina)	6.52
	9	54.03	221, 520, 279, 369, 630	Antocianina (cianidina)	1.74
	10	56.13	224, 356, 355, 234, 425	Rutina	60.56
	11	57.77	222, 355, 257, 470, 630	Rutina	8.19
<b>F-AE</b>					
	1	7.25	226, 242, 278, 657, 582	Ácido gálico	0.93
	2	10.81	224, 242, 278, 657, 583	Flavanol(Catequina)	17.22
	3	11.50	225, 242, 278, 330, 435	Flavanol(Catequina)	6.65
	4	12.46	226, 243, 278,329,657	Flavanol(Catequina)	29.09
	5	17.23	225, 278, 241, 329, 435	Flavanol(Catequina)	26.31
	6	18.62	225, 243, 278, 328, 424	Flavanol(Catequina)	3.93
	7	20.56	227, 278, 243, 329, 442	Flavanol(Catequina)	62.85
	8	21.94	226, 243, 278, 329, 442	Flavanol(Catequina)	38.72
	9	27.08	225, 243, 278, 327, 582	Flavanol(Catequina)	9.44
	10	30.27	225, 243, 278, 582, 442	Flavanol(Catequina)	14.49
	11	31.21	226, 278, 241, 330	Flavanol(Catequina)	50.26
	12	35.61	225, 243, 278, 507, 442	Flavanol(Catequina)	4.95
	13	43.26	225, 516, 279, 682	Antocianina (cianidina)	1.56
	14	45.97	324, 284, 258, 235, 466	Ácido hidroxicinâmico (Ácido ferúlico)	0.25
	15	46.86	519, 279, 234, 674	Antocianina (cianidina)	0.43
	16	51.82	277, 521, 221, 683	Antocianina (cianidina)	0.06
	17	53.08	284, 300, 314, 262, 465	Resveratrol	0.04
	18	56.22	236, 255, 354, 465, 512	Rutina	13.80
	19	57.77	233, 255, 354, 519, 622	Rutina	8.11
<b>F-MAq</b>					
	1	4.50	225, 240, 272, 655	Ácido gálico	27.79
	2	6.54	224, 241, 276, 655, 528	Ácido gálico	0.63
	3	11.87	224, 241, 279, 486, 441	Flavanol(Catequina)	11.07
	4	12.71	224, 241, 179, 529, 330	Flavanol(Catequina)	5.15
	5	13.72	224, 241, 278, 343, 486	Flavanol(Catequina)	12.17
	6	21.66	224, 240, 272, 529, 441	Flavanol(Catequina)	28.32
	7	22.60	224, 241, 280, 324, 486	Flavanol(Catequina)	12.30
	8	24.11	224, 241, 278, 519, 458	Flavanol(Catequina)	6.88
	9	31.31	224, 241, 305, 317, 287	Resveratrol	0.73
	10	45.15	224, 241, 517, 279	Antocianina (cianidina)	8.52
	11	48.03	224, 520, 280, 241, 329	Antocianina (cianidina)	29.34
	12	52.76	224, 521, 279, 248	Antocianina (cianidina)	2.62
	13	55.47	224, 254, 268, 519, 353	Antocianina (cianidina)	0.45
	14	57.69	224, 255, 355, 486, 458	Rutina	10.98
	15	67.73	221, 258, 367, 323, 534	Quercetina	1.26

Figura 29 - Perfil cromatográfico e relação dos compostos identificados e quantificados no extrato aquoso liofilizado (EAq); fração aquosa de acetato de etila solubilizada em solução de água:metanol (9:1) (F-AE); fração aquosa metanol:água (1:3) solubilizada em solução de água:metanol (9:1) (F-MAq) da casca de tucum-do-Cerrado. Detecção espectrofotométrica a 280 nm (A), 310 nm (B), 370 nm (C) e 520 nm (D). Os picos estão numerados de acordo com o tempo de retenção. PF: peso fresco.



Extrato	Pico	Tempo de retenção (min)	Abs Max. (nm)	Composto fenólico sugerido	Teor (mg/ 100 g PF)
EM	1	4.25	224, 240, 272, 486	Ácido gálico	74.30
	2	11.23	224, 241, 278, 486	Flavanol(Catequina)	36.16
	3	12.94	224, 241, 278, 338, 486	Flavanol(Catequina)	27.77
	4	17.96	224, 241, 278, 330, 486	Flavanol(Catequina)	182.32
	5	20.30	224, 241, 278, 330, 486	Flavanol(Catequina)	82.59
	6	21.39	224, 241, 278, 330, 655	Flavanol(Catequina)	57.15
	7	22.79	224, 241, 278, 486, 655	Flavanol(Catequina)	57.44
	8	32.41	224, 241, 278, 330, 655	Flavanol(Catequina)	243.89
	9	35.99	224, 241, 320, 285, 486	Ácido hidroxicinâmico (Ácido ceféico)	7.15
	10	38.29	224, 241, 279, 324, 655	Flavanol(Catequina)	41.63
	11	43.88	224, 516, 241, 279, 330	Antocianina (cianidina)	37.50
	12	47.13	225, 519, 280, 241, 330	Antocianina (cianidina)	105.38
	13	49.04	224, 242, 283, 321, 284, 486	Ácido hidroxicinâmico (Ácido ferúlico)	4.11
	14	51.21	224, 279, 247, 519, 422	Antocianina (cianidina)	1.59
	15	52.10	224, 519, 279, 248, 683	Antocianina (cianidina)	14.85
	16	52.89	224, 307, 287, 248, 529	Resveratrol	0.83
	17	53.67	253, 225, 268, 280, 323	Ácido hidroxicinâmico (Ácido ferúlico)	0.58
	18	54.68	224, 280, 519, 358, 330	Antocianina (cianidina)	5.98
	19	56.02	330, 284, 253, 233, 655	Ácido hidroxicinâmico (Ácido ferúlico)	0.94
	20	56.76	225, 255, 354, 655, 486	Rutina	95.82
	21	58.29	224, 256, 354, 486, 592	Rutina	26.03

Figura 30 - Perfil cromatográfico e relação dos compostos identificados e quantificados no extrato metanólico acidificado com HCl (1%) (EM), da casca de tucum-do-Cerrado. Detecção espectrofotométrica a 280 nm (A), 310 nm (B), 370 nm (C) e 520 nm (D). Os picos estão numerados de acordo com o tempo de retenção. PF: peso fresco.



Extrato	Pico	Tempo de retenção (min)	Abs Max. (nm)	Composto fenólico sugerido	Teor (mg/100 g PF)
EE	1	4.68	224/240/273/655	Ácido gálico	8,37
	2	19.52	224/240/278/521	Flavanol(Catequina)	106.84
	2	21.88	224/240/278/521/481	Flavanol(Catequina)	45.95
	4	22.90	224/241/279/324/524	Flavanol(Catequina)	18.96
	5	24.48	224/241/278/655/521	Flavanol(Catequina)	13.67
	6	31.66	224/241/283/305/486	Resveratrol	1.72
	7	34.70	224/240/278/521/593	Flavanol(Catequina)	126.40
	8	45.50	224/241/517/279/328	Antocianina (cianidina)	32.73
	9	48.35	224/520/280/241/329	Antocianina (cianidina)	83.25
	10	52.97	223/244/279/519/422	Antocianina (cianidina)	9.22
	11	54.14	223/246/281/303/486	Resveratrol	0.62
	12	57.98	224/255/355/486/671	Rutina	78.74
	13	59.47	224/255/355/287/655	Rutina	16.97

Figura 31 - Perfil cromatográfico e relação dos compostos identificados e quantificados no extrato etanólico acidificado com HCl 1,5 mol/L (15:85) (EE), da casca de tucum-do-Cerrado. Detecção espectrofotométrica a 280 nm (A), 310 nm (B), 370 nm (C) e 520 nm (D). Os picos estão numerados de acordo com o tempo de retenção. PF: peso fresco.

Na maior parte dos extratos da casca do tucum-do-Cerrado analisados foram identificadas três principais classes de compostos fenólicos: flavonóides, ácidos fenólicos e estilbenos (Figuras 28, 29 e 30). Entre os flavonóides identificados destacam-se os flavanóis (catequina), flavonóis (quercetina e rutina), algumas antocianinas (cianidina, pelargonidina) e os ácidos fenólicos: gálico, caféico e ferúlico. Em menor quantidade foi também identificado o estilbeno, resveratrol, apenas nos extratos alcoólicos da casca do tucum-do-Cerrado (Figuras 30 e 31). A identificação desses compostos foi confirmada pela injeção de padrões externos, e subsequente comparação do tempo de retenção e do perfil espectrofotométrico UV-Vis das amostras com aqueles obtidos para os padrões (Figura 32).

No extrato aquoso da casca do tucum-do-Cerrado os compostos fenólicos mais abundantes identificados foram as catequinas e antocianinas, seguido de rutina e ácido gálico (Figura 29). A fração acetato de etila apresentou um melhor perfil cromatográfico de separação dos compostos, sendo composta principalmente por flavonóides. O flavanol catequina representou 91% dos compostos fenólicos identificados na fração acetato de etila, seguido pelo flavanol rutina (Figura 29). Enquanto as antocianinas, os ácidos fenólicos e o resveratrol foram detectados em pequenas concentrações na fração acetato de etila. Em um estudo os autores observaram que flavonóis têm alta afinidade por acetato de etila, devido ao seu caráter hidrofóbico (Krasteva, Toshkova e Nikolov, 2004).

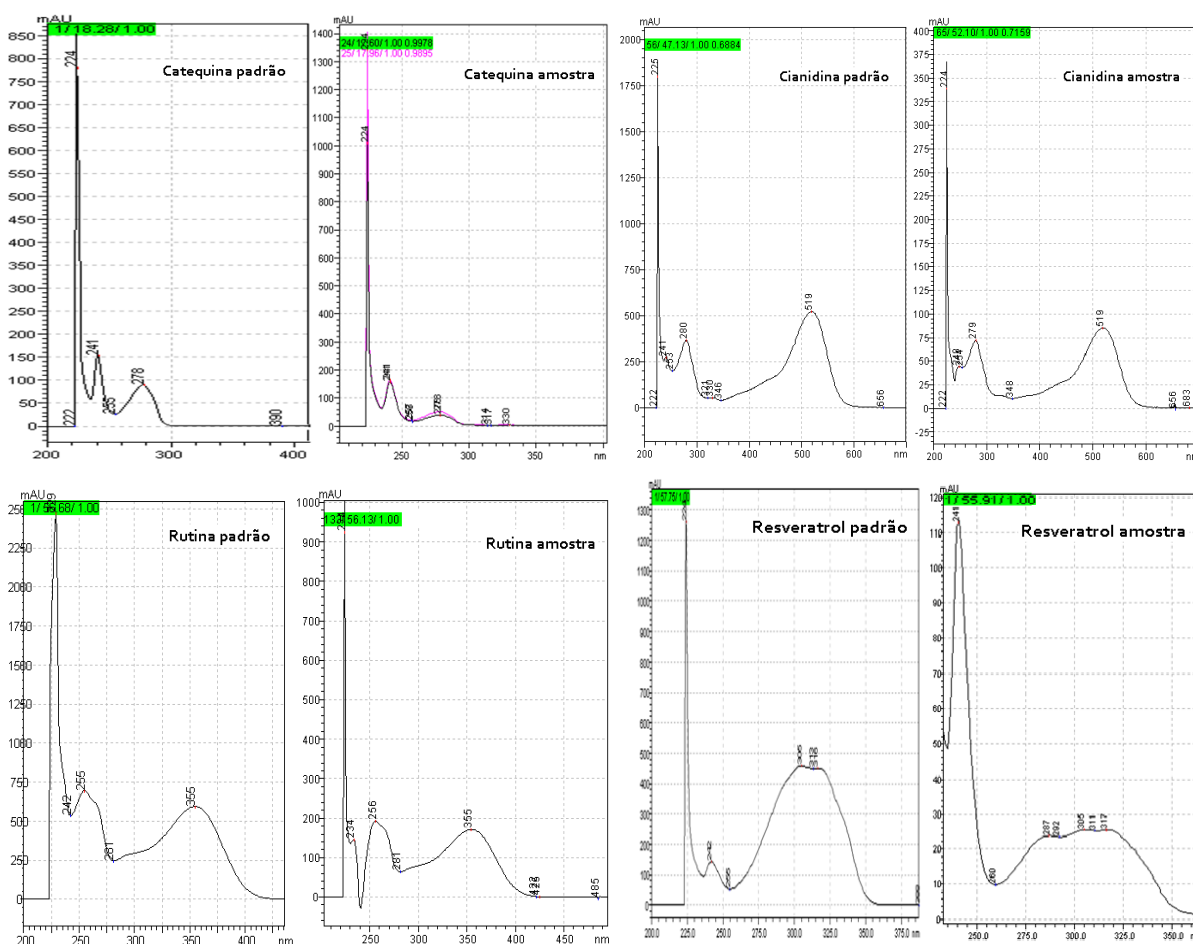


Figura 32 – Espectro de absorção UV-Vis dos padrões fenólicos catequina, cianidina, rutina e resveratrol e do extrato de tucum-do-Cerrado.



Na fração metanol:água foi detectado um alto teor de catequina (75,89 mg/100 g de fruta fresca, representando 48% dos compostos identificados) (Figura 29). No entanto, ao contrário do observado para a fração acetato de etila, a fração metanol:água apresentou substancial concentração de antocianinas e ácido gálico (40,93 e 28,42 mg/100g fruto fresco, respectivamente, representando 26 e 18% dos compostos identificados). Compostos estes que apresentam elevada solubilidade em soluções alcoólicas e aquosas, tais como metanol e etanol (Vermerris e Nicholson, 2006).

Entre os extratos da casca do tucum-do-Cerrado avaliados, o extrato metanólico foi o que apresentou maior concentração de compostos fenólicos identificados (Figura 30), comparados aos extratos aquosos e etanólicos (Figuras 29 e 31, respectivamente). Considerando que apenas o extrato aquoso foi submetido ao processo de liofilização, estes resultados sugerem que o processo de liofilização pode reduzir o conteúdo de fenólicos totais da casca do tucum-do-Cerrado. No entanto, os diferentes compostos fenólicos parecem não ser alterados da mesma forma durante o processo de liofilização, a maior perda foi observada para a catequina, que teve o seu teor reduzido em 2,4 vezes, enquanto a rutina e antocianinas apresentaram redução de 1,8 e 1,6 vezes, respectivamente. O ácido gálico parece ser o composto fenólico mais estável ao processo de secagem por liofilização. Garcia-Salas *et al.* (2013) observaram que o limão liofilizado apresentou conteúdo fenólico inferior ao limão seco em vácuo com baixa pressão (Garcia-Salas *et al.*, 2013).

Mulinacci *et al.* (2011) ao avaliar a melhor forma de extração de compostos fenólicos em folhas de alecrim, observaram que a solução etanol/água apresentou menor concentração de ácido rosmarínico e uma rápida degradação do ácido carnósico a sua forma oxidada em relação ao extrato etanólico. Os autores sugeriram que alguns compostos fenólicos são muito sensíveis à presença de água durante o processo de extração, e que a oxidação de compostos fenólicos é bastante favorecida pela elevada atividade de fenoloxidasas em meio aquoso. Este mesmo estudo mostrou ainda uma redução no teor de flavonóides nas folhas de alecrim liofilizadas em relação as folhas frescas, tendo sido observadas maiores perdas para as formas glicosiladas (Mulinacci *et al.*, 2011). No entanto, o processo de liofilização manteve maior quantidade de compostos fenólicos totais, antocianinas

e flavonóides totais, bem como maior atividade antioxidante em comparação com outros métodos de dessecação, como por exemplo a secagem a temperatura ambiente, vácuo a 40 °C e forno a 40 °C, como demonstrado em amostras de bagaço de uva de vinho (Pinot Noir e Merlot) (Tseng e Zhao, 2012).

Assim, considerando que o extrato etanólico foi preparado de forma semelhante ao extrato metanólico, o menor conteúdo fenólico encontrado no extrato etanólico deve estar relacionado principalmente a solubilidade dos compostos. A solubilidade do polifenol depende principalmente do número de grupos hidroxila, do tamanho molecular e do comprimento da cadeia de hidrocarbonetos (Caunii *et al.*, 2012).

A menor atividade antioxidante do extrato metanólico comparado ao extrato etanólico da casca do tucum-do-Cerrado, apesar da maior concentração de fenólicos do extrato metanólico, sugere que a atividade antioxidante deve estar relacionada com a estrutura química do composto, e não apenas com a concentração. O resveratrol foi identificado apenas nos extratos metanólico e etanólico da casca do tucum-do-Cerrado, e em menor concentração em relação aos outros compostos fenólicos do fruto. É possível que a atividade antioxidante mais elevada nos extratos etanólico e metanólico comparado ao aquoso esteja relacionada com o conteúdo de resveratrol dos extratos alcoólicos (Figuras 30 e 31).

Boulekbache-Makhlouf *et al.* (2013) observaram que o extrato de metanol acidificado tinha maior rendimento para extração de antocianinas, enquanto a acetona acidificada extraia melhor os flavonóides e taninos. Os autores também observaram que o extrato metanólico rico em antocianinas apresentou alta capacidade redutora, enquanto o extrato de acetona, rico em compostos fenólicos, apresentou melhor atividade como quelante de metais (Boulekbache-Makhlouf *et al.*, 2013).

A jaboticaba (*M. jaboticaba* (Vell.) Berg.), uma fruta brasileira com características fenotípicas semelhantes ao tucum-do-Cerrado, como a casca roxa, também apresenta considerável concentração de antocianinas, delphinidina 3-glicosídeo e cianidina 3-glicosídeo (2.598,32 mg/100 g de pó liofilizado de jaboticaba). Assim como observado no tucum-do-Cerrado, esses compostos estavam presentes na casca da jaboticaba (Alezandro *et al.*, 2013).

Um estudo recente com uma palmeira amazônica, *Oenocarpus bataua* ("patawa"), cujo fruto também possui casca roxa, semelhante ao açaí e ao tucum-do-Cerrado, identificou antocianinas, taninos condensados, estilbenos e ácidos fenólicos, como os principais compostos fenólicos presentes no fruto dessa palmeira, bem como uma alta atividade antioxidante (Rezaire *et al.*, 2013), semelhante aos resultados obtidos no presente estudo para tucum-do-Cerrado. A composição fenólica da casca do tucum-do-Cerrado tem um perfil semelhante ao encontrado para o fruto da palmeira brasileira juçara (*Euterpe edulis*). Dentre os compostos fenólicos identificados na fruta juçara estão os ácidos ferúlico, gálico, hidroxibenzóico e p-cumárico, bem como a catequina, epicatequina, quercetina e antocianinas (Borges *et al.*, 2011).

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que o tucum-do-Cerrado é um fruto com alto teor de compostos bioativos e elevada capacidade antioxidante. Apesar dos dados terem sido obtidos *in vitro*, o tucum-do-Cerrado na sua forma integral (casca e polpa) parece ser um fruto promissor no sentido de aumentar a capacidade antioxidante de um organismo e conseqüentemente reduzir e prevenir doenças associadas ao estresse oxidativo. Estudos *in vivo* foram realizados paralelamente em nosso laboratório e mostraram que o tucum-do-Cerrado apresentou efeitos positivos contra a oxidação tecidual em ratos estressados com ferro, como também estudos em células.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados sugerem que os fenólicos (flavanóides, flavonoides amarelos e antocianinas) representam os principais compostos bioativos dos frutos do Cerrado, e que particularmente os frutos araticum, cagaita, lobeira, tucum-do-Cerrado, cajuzinho, jurubeba e mangaba possuem alto teor de bioativos e alta capacidade antioxidante quando comparados a maçã *Red Delicious*. Esses dados sugerem que os compostos fenólicos possam ser os maiores responsáveis pelo elevado potencial antioxidante nos frutos do Cerrado.

O tucum-do-Cerrado foi um dos frutos do Cerrado estudado, que se destacou quanto a composição de compostos bioativos e capacidade antioxidante, estando essas duas propriedades presentes predominantemente na casca do fruto. A catequina, antocianinas, ácido gálico e a rutina foram os principais compostos fenólicos identificados na casca do tucum-do-cerrado, podendo esses serem responsáveis pela capacidade antioxidante do fruto. No entanto, outros compostos fenólicos identificados em menor concentração como o resveratrol podem estar associados à alta capacidade antioxidante desse fruto.

Portanto, o consumo de alguns dos frutos do Cerrado estudados pode proteger organismo do estresse oxidativo e conseqüentemente prevenir o desenvolvimento de doenças crônicas e o envelhecimento precoce. Além disso, muitos desses frutos, especialmente o tucum-do-Cerrado, representam potencial fonte de compostos bioativos, com propriedades funcionais, para o desenvolvimento de novos produtos pela indústria de alimento e farmacêutica, conseqüentemente promovendo o desenvolvimento sustentável da região do Cerrado.

## REFERÊNCIAS

AGOSTINI, T. S.; CECCHI, H. M.; BARRERA-ARELLANO, D. Caracterização química da polpa e do óleo de marolo. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 45, n. 3, 1995.

AGOSTINI, T. S.; CECCHI, H. M.; GODOY, H. T. Composição de carotenóides no marolo in natura e em produtos de preparo caseiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 16, n. 1, p. 67-71, 1996.

AGRICULTURE, U. D. O.; HEALTH, U. D. O.; SERVICES, H. **Dietary Guidelines for Americans**. Washington, DC: US: Government Printing Office, 2010.

ALEZANDRO, M. R. et al. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. **Food Research International**, v. 54, p. 10, 2013.

ALMEIDA, M. M. B. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2155-2159, Aug 2011. ISSN 0963-9969. Disponível em: <<Go to ISI>://000293759400056 >.

ALMEIDA, S. P. D. **Frutas nativas do cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes**. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Ed.). Cerrado: ambiente e flora. Planaltina, DF: 1998. 464.

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists: Vitamins and Other Nutrients**. Maryland: United States of America: Analytical Chemists, 1998. 16-17.

ARNOUS, A.; MAKRIS, D. P.; KEFALAS, P. Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, n. 6, p. 655-665, Dec 2002. ISSN 0889-1575. Disponível em: <<Go to ISI>://000179776800006 >.

ARRUDA, S. F.; SIQUEIRA, E. M. A. Potencial antioxidante del ácido ascórbico. In: (Ed.). **Radicales libres , estrés oxidativos. Aplicaciones médicas**. México: Ied México, 2008. p.257-267.

ASARE, G. A. et al. Effects of exogenous antioxidants on dietary iron overload. **Journal Clinical Biochemistry Nutrition**, v. 44, n. 1, p. 85-94, Jan 2009. ISSN 0912-0009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19177193> >.

ATUN, S. et al. Isolation and antimutagenic activity of some flavanone compounds from *Kaempferia rotunda*. **International Journal of Chemical and Analytical Science**, v. 4, p. 3-8, 2013.

BAO, M. J. et al. Apple polyphenol protects against cigarette smoke-induced acute lung injury. **Nutrition**, v. 29, n. 1, p. 235-243, Jan 2013. ISSN 0899-9007. Disponível em: <<Go to ISI>://000313138200037 >.

BARROS, H. R. D.; FERREIRA, T. A. P. D.; GENOVESE, M. I. Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. **Food Chemistry**, v. 134, n. 4, p. 1892-1898, Oct 15 2012. ISSN 0308-8146. Disponível em: <<Go to ISI>://000305859800025 >.

BATLE-BAYER, L.; BATJES, N. H.; BINDRABAN, P. S. Changes in organic carbon stocks upon land use conversion in the Brazilian Cerrado: A review. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 137, p. 47-57, 2010.

BENHERLAL, P. S.; ARUMUGHAN, C. Chemical composition and *in vitro* antioxidant studies on *Syzygium cumini* fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 9, 2007 2007.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, Jul 15 1996. ISSN 0003-2697. Disponível em: <<Go to ISI>://A1996UY64800010 >.

BEZERRA, J. C. B. et al. Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. **Fitoterapia**, v. 73, n. 5, p. 428-430, Aug 2002. ISSN 0367-326X. Disponível em: <<Go to ISI>://000178029000015 >.

BLOCK, G. et al. Factors associated with oxidative stress in human populations. **American Journal of Epidemiology**, v. 156, n. 3, p. 274-285, Aug 1 2002. ISSN 0002-9262. Disponível em: <<Go to ISI>://000177055400011 >.

BORGES, G. D. C. et al. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2128-2133, Aug 2011. ISSN 0963-9969. Disponível em: <<Go to ISI>://000293759400051 >.

BOULEKBACHE-MAKHLOUF, L. et al. Effect of solvents extraction on phenolic content and antioxidant activity of the byproduct of eggplant. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 668-674, Aug 2013. ISSN 0926-6690. Disponível em: <<Go to ISI>://000324566600090 >.

BRASIL. **Alimentos regionais Brasileiros**. Brasília: Ministério da Saúde: Ministério da Saúde, 2002. ISBN 85-334-0492-1.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-333, Nov 1998. ISSN 0029-6643. Disponível em: <<Go to ISI>://000077165000001 >.

CALDERONE, V. et al. Vasorelaxing effects of flavonoids: investigation on the possible involvement of potassium channels. **Naunyn-Schmiedebergs Archives of Pharmacology**, v. 370, n. 4, p. 290-298, Oct 2004. ISSN 0028-1298. Disponível em: <<Go to ISI>://000225089300007 >.

CARNEIRO, C. E. A.; ROLIM, H. M. V.; FERNANDES, K. F. Estudo das atividades de peroxidases e polifenoloxidase de guariroba (*Syagrus oleracea* Becc) sob a ação de diferentes inibidores. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, v. 26, n. 1, p. 189-193, 2003.

CARNELOSSI, M. A. G. et al. Physico-Chemical Quality Changes in Mangaba (*Hancornia speciosa* gomes) Fruit Stored at Different Temperatures. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n. 4, p. 985-990, Jul-Aug 2009. ISSN 1516-8913. Disponível em: <<Go to ISI>://000269660700023 >.

CAUNII, A. et al. Design of optimal solvent for extraction of bio-active ingredients from six varieties of *Medicago sativa*. **Chemistry Central Journal**, v. 6, Oct 26 2012. ISSN 1752-153X. Disponível em: <<Go to ISI>://000311236600001 >.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G. D.; AUGUSTO, O. Antioxidante dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

CHANG, C. L. et al. Phytochemical composition, antioxidant activity and neuroprotective effect of *Crataegus pinnatifida* fruit. **South African Journal of Botany**, v. 88, p. 432-437, 2013.

CHANG, C. V. et al. Fetal toxicity of *Solanum lycocarpum* (Solanaceae) in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, n. 2, p. 265-269, Jul 2002. ISSN 0378-8741. Disponível em: <<Go to ISI>://000176715300017 >.

CHINNICI, F. et al. Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. golden delicious apples as related to their phenolic composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 15, p. 4684-4689, Jul 28 2004. ISSN 0021-8561. Disponível em: <<Go to ISI>://000222866000014 >.

CHIRINOS, R. et al. HPLC-DAD characterisation of phenolic compounds from Andean oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) tubers and their contribution to the antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 1243-1251, 2009. ISSN 0308-8146. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608009795> >.

CHIRINOS, R. et al. Phenolic profiles of andean mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) tubers: Identification by HPLC-DAD and evaluation of their antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 106, p. 1285-88, 2008.

CLERICI, M. T. P. S.; CARVALHO-SILVA, L. B. Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1658-1670, Aug 2011. ISSN 0963-9969. Disponível em: <<Go to ISI>://000293759400002 >.

COCATE, P. G. et al. Fruit and vegetable intake and related-nutrients are associated with oxidative stress markers in middle-aged men. **Nutrition**, n. 0, 2013. ISSN 0899-9007. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0899900713004644> >.

CONTESSA, C. et al. Total antioxidant capacity and total phenolic and anthocyanin contents in fruit species grown in Northwest Italy. **Scientia Horticulturae**, v. 160, p. 351-357, Aug 27 2013. ISSN 0304-4238. Disponível em: < <Go to ISI>://000323586400045 >.

COSTA, E. S. et al. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the Cerrado, Brazil. **Phytotherapy Research**, v. 22, n. 5, p. 705-707, May 2008. ISSN 0951-418X. Disponível em: < <Go to ISI>://000256128000023 >.

COSTA, T. R. et al. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, n. 1-2, p. 111-117, Sep 2000. ISSN 0378-8741. Disponível em: < <Go to ISI>://000089244700014 >.

COUTINHO, E. **Estudo fitoquímico e de atividade biológica de espécies de *Solanum* (SOLANACEAE)**. 2009. 172 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

DA CONCEIÇÃO, A. O. et al. Genipa americana (Rubiaceae) Fruit Extract Affects Mitogen-Activated Protein Kinase Cell Pathways in Human Trophoblast-Derived BeWo Cells: Implications for Placental Development. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, n. 5, p. 483-494, May 2011. ISSN 1096-620X. Disponível em: < <Go to ISI>://000290471200006 >.

DA COSTA, P. A. et al. Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits. **Food Research International**, v. 43, n. 6, p. 1603-1606, Jul 2010. ISSN 0963-9969. Disponível em: < <Go to ISI>://000282191300006 >.

DA SILVA, T. F. et al. Bacterial community associated with the trunk latex of *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) grown in the northeast of Brazil. **Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 99, n. 3, p. 523-532, Mar 2011. ISSN 0003-6072. Disponível em: < <Go to ISI>://000287450200010 >.

DALL'AGNOL, R.; VON POSER, G. L. The use of complex polysaccharides in the management of metabolic diseases: the case of *Solanum lycocarpum* fruits. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, n. 1-2, p. 337-341, Jul 2000. ISSN 0378-8741. Disponível em: < <Go to ISI>://000088270700041 >.

DAMIANI, C. et al. Characterization of fruits from the savanna: Araça (*Psidium guinnensis* Sw.) and Marolo (*Annona crassiflora* Mart.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 3, p. 723-729, 2011.



DE MESQUITA, M. L. et al. Cytotoxic activity of Brazilian Cerrado plants used in traditional medicine against cancer cell lines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 123, n. 3, p. 439-445, Jun 25 2009. ISSN 0378-8741. Disponível em: <<Go to ISI>://000267557500011 >.

DE OLIVEIRA, A. L. et al. Elemental contents in exotic Brazilian tropical fruits evaluated by energy dispersive X-ray fluorescence. **Scientia Agricola**, v. 63, n. 1, p. 82-84, Jan-Feb 2006. ISSN 0103-9016. Disponível em: <<Go to ISI>://000236086100013 >.

DE OLIVEIRA E SILVA, A. M. et al. In vivo and in vitro antioxidant activity and hepatoprotective properties of polyphenols from *Halimeda opuntia* (Linnaeus) Lamouroux. **Redox Rep**, v. 17, n. 2, p. 47-53, 2012. ISSN 1743-2928. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22564347> >.

DIAS, T. A. et al. Superior anticancer activity of halogenated chalcones and flavonols over the natural flavonol quercetin. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 65, p. 500-510, Jul 2013. ISSN 0223-5234. Disponível em: <<Go to ISI>://000322850100048 >.

DJERASSI, C.; GRAY, J. D.; KINCL, F. A. Naturally Occurring Oxygen Heterocyclics .9. Isolation and Characterization of Genipin. **Journal of Organic Chemistry**, v. 25, n. 12, p. 2174-2177, 1960. ISSN 0022-3263. Disponível em: <<Go to ISI>://A1960WT08600022 >.

DOMENECH-CARBO, M. T. et al. Ageing behaviour and analytical characterization of the Jatoba resin collected from *Hymenaea stigonocarpa* Mart. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 284, n. 1-3, p. 81-92, Jul 1 2009. ISSN 1387-3806. Disponível em: <<Go to ISI>://000268059100011 >.

DRAGSTED, L. O. Biomarkers of exposure to vitamins A, C, and E and their relation to lipid and protein oxidation markers. **European Journal of Nutrition**, v. 47, p. 3-18, May 2008. ISSN 1436-6207. Disponível em: <<Go to ISI>://000256260200002 >.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH•. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 7, 2006.

DUARTE, A. Y. S. et al. Ethnobotany of Natural Fibres - *Bactris setosa* (tucum) in a Traditional Rural Community. **Fibres & Textiles in Eastern Europe**, v. 20, n. 2, p. 18-20, Mar-Apr 2012. ISSN 1230-3666. Disponível em: <<Go to ISI>://000301515600003 >.

EBERHARDT, M. V.; LEE, C. Y.; LIU, R. H. Nutrition - Antioxidant activity of fresh apples. **Nature**, v. 405, n. 6789, p. 903-904, Jun 22 2000. ISSN 0028-0836. Disponível em: <<Go to ISI>://000087732700036 >.

EMBRAPA, E. B. D. P. A.-. **Frutas Nativas da Região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília: EMBRAPA, 2006. 322 ISBN 9788573834826.

ENDRINGER, D. C.; PEZZUTO, J. M.; BRAGA, F. C. NF-kappa B inhibitory activity of cyclitols isolated from *Hancornia speciosa*. **Phytomedicine**, v. 16, n. 11, p. 1064-1069, Nov 2009. ISSN 0944-7113. Disponível em: <<Go to ISI>://000271600400010 >.

ENGLBERGER, L. et al. Carotenoid and vitamin content of Micronesian atoll foods: Pandanus (*Pandanus tectorius*) and garlic pear (*Crataeva speciosa*) fruit. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, n. 1, p. 1-8, Feb 2009. ISSN 0889-1575. Disponível em: <<Go to ISI>://000264989000001 >.

FARIA, A. F.; MARQUES, M. C.; MERCADANTE, A. Z. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1571-1577, 2011.

FERREIRA, H. C. et al. Endothelium-dependent vasodilation induced by *Hancornia speciosa* in rat superior mesenteric artery. **Phytomedicine**, v. 14, n. 7-8, p. 473-478, Aug 2007. ISSN 0944-7113. Disponível em: <<Go to ISI>://000249002600006 >.

FERREIRA, L. G. et al. Biophysical Properties of Cultivated Pastures in the Brazilian Savanna Biome: An Analysis in the Spatial-Temporal Domains Based on Ground and Satellite Data. **Remote Sensing**, v. 5, n. 1, p. 307-326, Jan 2013. ISSN 2072-4292. Disponível em: <<Go to ISI>://000315402400016 >.

FLOEGEL, A. et al. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 7, p. 1043-1048, Nov 2011. ISSN 0889-1575. Disponível em: <<Go to ISI>://000295441600020 >.

FLORES, G. et al. Antioxidants of therapeutic relevance in COPD from the neotropical blueberry *Anthopterus wardii*. **Food Chemistry**, v. 131, n. 1, p. 119-125, Mar 1 2012. ISSN 0308-8146. Disponível em: <<Go to ISI>://000296826400015 >.

FRANCIS, F. J. **Anthocyanins as Food Colors**. New York: Academic Press, 1982. ISBN 0124725503, 9780124725508.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9. São Paulo: Atheneu, 1999. ISBN 8573791349.

FRASER, P. D.; BRAMLEY, P. M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. **Progress in Lipid Research**, v. 43, n. 3, p. 228-265, May 2004. ISSN 0163-7827. Disponível em: <<Go to ISI>://000221215500003 >.

FREITAS, J. B.; NAVES, M. M. Composição química de nozes e sementes comestíveis e sua relação com a nutrição e saúde. **Revista de Nutrição, Campinas**, v. 23, n. 2, p. 269-279, 2010.

FU, L. et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry**, v. 129, p. 06, 2011.

GAO, Y. et al. Fucoïdan, a sulfated polysaccharide from brown algae, improves cognitive impairment induced by infusion of Abeta peptide in rats. **Environ Toxicol Pharmacol**, v. 33, n. 2, p. 304-11, Mar 2012. ISSN 1872-7077. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22301160> >.

GARCIA-SALAS, P. et al. Influence of technological processes on phenolic compounds, organic acids, furanic derivatives, and antioxidant activity of whole-lemon powder. **Food Chemistry**, v. 141, n. 2, p. 869-878, Nov 15 2013. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <Go to ISI>://000321803500031 >.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. **Biochemical Engineering Journal**, v. 14, n. 3, p. 217-225, Jun 2003. ISSN 1369-703X. Disponível em: < <Go to ISI>://000182945900009 >.

GONÇALVES, A. E. D. S.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Chemical Composition and Antioxidant/Antidiabetic Potential of Brazilian Native Fruits and Commercial Frozen Pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 8, p. 4666-4674, Apr 28 2010. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <Go to ISI>://000276782100019 >.

GOUPY, P. et al. Antioxidant Activity of Wine Pigments Derived from Anthocyanins: Hydrogen Transfer Reactions to the DPPH Radical and Inhibition of the Heme-Induced Peroxidation of Linoleic Acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 13, p. 5762-5770, Jul 8 2009. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <Go to ISI>://000267610000017 >.

GRIGORAS, C. G. et al. Evaluation of apple pomace extracts as a source of bioactive compounds. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 794-804, Aug 2013. ISSN 0926-6690. Disponível em: < <Go to ISI>://000324566600106 >.

GUMULA, I. et al. Four isoflavanones from the stem bark of *Platycladum voense*. **Phytochemistry Letters**, v. 5, n. 1, p. 150-154, Mar 2012. ISSN 1874-3900. Disponível em: < <Go to ISI>://000300395900032 >.

HALDAR, S. et al. Influence of habitual diet on antioxidant status: a study in a population of vegetarians and omnivores. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 61, n. 8, p. 1011-1022, Aug 2007. ISSN 0954-3007. Disponível em: < <Go to ISI>://000248556300010 >.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. **Free Radicals in Biology and Medicine**. New York: OUO Oxford, 2007. ISBN 019856869X.

HANSEN, D. D. S. et al. Caracterização química de frutos de jenipapeiros nativos do recôncavo baiano visando ao consumo natural e industrialização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 4, p. 964-969, 2008.

HASSIMOTTO, N. M. A.; GENOVESE, I. S.; LAJOLO, F. M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 8, p. 2928-35, 2005.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, p. 572-584, 2002.

HERCBERG, S. et al. The SU.VI.MAX study - A randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. **Archives of Internal Medicine**, v. 164, n. 21, p. 2335-2342, Nov 22 2004. ISSN 0003-9926. Disponível em: <<Go to ISI>://000225337200006 >.

HERMES-LIMA, M. Oxigen in biology and biochemistry: role of free radicals. In: STOREY, K. B. (Ed.). **Functional Metabolism: Regulation and adaptation**. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2004. p.319-368.

HOLLMAN, P. C. H. et al. Absorption of Dietary Quercetin Glycosides and Quercetin in Healthy Ileostomy Volunteers. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, n. 6, p. 1276-1282, Dec 1995. ISSN 0002-9165. Disponível em: <<Go to ISI>://A1995TJ28400016 >.

HUANG, D. J.; OU, B. X.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, Mar 23 2005. ISSN 0021-8561. Disponível em: <<Go to ISI>://000227736100001 >.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821-1835, Jun 15 2011. ISSN 0308-8146. Disponível em: <<Go to ISI>://000287952000044 >.

IVERSEN, C. K. Black currant nectar: Effect of processing and storage on anthocyanin and ascorbic acid content. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 1, p. 37-41, Jan-Feb 1999. ISSN 0022-1147. Disponível em: <<Go to ISI>://000079019700008 >.

JAYAPRAKASHA, G. K.; SINGH, R. P.; SAKARIAH, K. K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. **Food Chemistry**, v. 73, n. 3, p. 285-290, May 2001. ISSN 0308-8146. Disponível em: <<Go to ISI>://000168475700004 >.

JIMENEZ-GARCIA, S. N. et al. Functional properties and quality characteristics of bioactive compounds in berries: Biochemistry, biotechnology, and genomics. **Food Research International**, v. 54, p. 1195-1207, 2013.

JUSTESEN, U.; KNUTHSEN, P.; LETH, T. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 799, n. 1-2, p. 101-110, 1998.

ISSN 0021-9673. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967397010613>>.

KALT, W. et al. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 47, n. 11, p. 4638-4643, 1999.

KAMKAR, A. et al. The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 7, p. 1796-1800, Jul 2010. ISSN 0278-6915. Disponível em: <<Go to ISI>://000279530500003 >.

KAMMERER, D.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Quantification of anthocyanins in black carrot extracts (*Daucus carota* ssp *sativus* var. *atrorubens* Alef.) and evaluation of their color properties. **European Food Research and Technology**, v. 219, n. 5, p. 479-486, Oct 2004. ISSN 1438-2377. Disponível em: <<Go to ISI>://000224613200008 >.

KAPLAN, M. A. C. et al. A química de leguminosas brasileiras - derivados do lupeol em *Dipteryx alata*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 38, p. 420, 1966.

KAUR, G. et al. *Punica granatum* (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 7, p. 984-993, Jul 2006. ISSN 0278-6915. Disponível em: <<Go to ISI>://000238963900007 >.

KHANBABAEE, K.; VAN REE, T. Tannins: Classification and definition. **Natural Product Reports**, v. 18, n. 6, p. 641-649, 2001. ISSN 0265-0568. Disponível em: <<Go to ISI>://000172902600004 >.

KIOKIAS, S.; VARZAKAS, T.; OREOPOULOU, V. In vitro activity of vitamins, flavonoids, and natural phenolic antioxidants against the oxidative deterioration of oil-based systems. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 1, p. 78-93, Jan 2008. ISSN 1040-8398. Disponível em: <<Go to ISI>://000252851200004 >.

KLEJDUS, B. et al. Rapid-resolution HPLC with spectrometric detection for the determination and identification of isoflavones in soy preparations and plant extracts. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 389, n. 7-8, p. 2277-2285, Dec 2007. ISSN 1618-2642. Disponível em: <<Go to ISI>://000251320100026 >.

KNOOPS, K. T. B. et al. Mediterranean diet, lifestyle factors, and 10-year mortality in elderly European men and women - The HALE project. **Jama-Journal of the American Medical Association**, v. 292, n. 12, p. 1433-1439, Sep 22 2004. ISSN 0098-7484. Disponível em: <<Go to ISI>://000224031800024 >.

KONCZAK, I.; ZHANG, W. Anthocyanins - More than nature's colours. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, n. 5, p. 239-240, Dec 1 2004. ISSN 1110-7243. Disponível em: <<Go to ISI>://000227895100001 >.

KONG, J. M. et al. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 64, n. 5, p. 923-933, Nov 2003. ISSN 0031-9422. Disponível em: <<Go to ISI>://000186208800003 >.

KRASTEVA, I. N.; TOSHKOVA, R. A.; NIKOLOV, S. D. Protective effect of Astragalus corniculatus saponins against myeloid Graffi tumour in hamsters. **Phytotherapy Research**, v. 18, n. 3, p. 255-257, Mar 2004. ISSN 0951-418X. Disponível em: <<Go to ISI>://000221077900015 >.

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.

LEITE-LEGATTI, A. V. et al. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 596-603, Nov 2012. ISSN 0963-9969. Disponível em: <<Go to ISI>://000311592500077 >.

LEITE, A. V. et al. Antioxidant Potential of Rat Plasma by Administration of Freeze-Dried Jaboticaba Peel (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 6, p. 2277-2283, Mar 23 2011. ISSN 0021-8561. Disponível em: <<Go to ISI>://000288401800020 >.

LEMOS, M. R. B. et al. The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of baru nuts [*Dipteryx alata* Vog.]. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 592-597, Oct 2012. ISSN 0963-9969. Disponível em: <<Go to ISI>://000311185100033 >.

LENOIR-WIJNKOOP, I. et al. Nutrition economics - food as an ally of public health. **British Journal of Nutrition**, v. 109, n. 5, p. 777-784, Mar 14 2013. ISSN 0007-1145. Disponível em: <<Go to ISI>://000315456700001 >.

LENQUISTE, S. A. et al. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 153-160, Nov 2012. ISSN 0963-9969. Disponível em: <<Go to ISI>://000311592500023 >.

LEVINE, M.; PADAYATTY, S. J.; ESPEY, M. G. Vitamin C: A Concentration-Function Approach Yields Pharmacology and Therapeutic Discoveries. **Advances in Nutrition**, v. 2, n. 2, p. 78-88, Mar 2011. ISSN 2161-8313. Disponível em: <<Go to ISI>://000208589200002 >.

LI, F. et al. Antiproliferative activity of peels, pulps and seeds of 61 fruits. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 3, p. 1298-1309, Jul 2013. ISSN 1756-4646. Disponível em: <<Go to ISI>://000322691600031 >.

LI, Y. F. et al. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. **Food Chemistry**, v. 96, n. 2, p. 254-260, May 2006. ISSN 0308-8146. Disponível em: <<Go to ISI>://000233423600010 >.

LIMA, A. L.; SOARES, J. J. Aspectos florísticos e ecológicos de palmeira (Arecaceae) da Reserva Biológica de Duas Bocas, Cariacica, Espírito Santo. **Revista de Biologia Mello Leitão**, v. 16, p. 10, 2003.

LIU, D. P.; XU, Y. p53, Oxidative Stress, and Aging. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 15, n. 6, p. 1669-1678, Sep 2011. ISSN 1523-0864. Disponível em: <<Go to ISI>://000293576400012 >.

LIU, R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. **Journal of Nutrition**, v. 134, n. 12, p. 3479s-3485s, Dec 2004. ISSN 0022-3166. Disponível em: <<Go to ISI>://000225774900015 >.

LOKVAM, J. et al. Galloyl depsides of tyrosine from young leaves of *Inga laurina*. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 1, p. 134-136, Jan 2007. ISSN 0163-3864. Disponível em: <<Go to ISI>://000243734900029 >.

LONG, L. H.; HOI, A.; HALLIWELL, B. Instability of, and generation of hydrogen peroxide by, phenolic compounds in cell culture media. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 501, n. 1, p. 162-169, Sep 1 2010. ISSN 0003-9861. Disponível em: <<Go to ISI>://000281826500023 >.

LORENZI, H. et al. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas: de consumo in natura**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006. 672.

LU, Y. Y. et al. Four new steroidal glycosides from *Solanum torvum* and their cytotoxic activities. **Steroids**, v. 74, n. 1, p. 95-101, Jan 2009. ISSN 0039-128X. Disponível em: <<Go to ISI>://000262895500012 >.

LUIZ-FERREIRA, A. et al. Should *Anacardium humile* St. Hil be used as an antiulcer agent? A scientific approach to the traditional knowledge. **Fitoterapia**, v. 79, n. 3, p. 207-209, Apr 2008. ISSN 0367-326X. Disponível em: <<Go to ISI>://000255385400014 >.

LUXIMON-RAMMA, A.; BAHORUN, Y.; CROZIER, A. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, p. 496-495, 2003.

LV, G.-Y. et al. Combined antihypertensive effect of luteolin and buddleoside enriched extracts in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, p. 507-513, 2013.

MACEDO, M. L. R. et al. Characterization of a Kunitz trypsin inhibitor with a single disulfide bridge from seeds of *Inga laurina* (SW.) Willd. **Phytochemistry**, v. 68, n. 8, p. 1104-1111, Apr 2007. ISSN 0031-9422. Disponível em: <<Go to ISI>://000246331900002 >.

MACHADO, L. D. et al. Selection of parents and clones of mangabeira for in vitro cultivation. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 5, p. 431-435, May 2004. ISSN 0100-204X. Disponível em: <<Go to ISI>://000223274500004 >.

MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, May 2004. ISSN 0002-9165. Disponível em: <<Go to ISI>://000221044600005 >.

MAOKA, T. Recent progress in structural studies of carotenoids in animals and plants. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 483, n. 2, p. 191-195, Mar 15 2009. ISSN 0003-9861. Disponível em: <<Go to ISI>://000264851300008 >.

MARIN, A. M. F.; SIQUEIRA, E. M. A.; ARRUDA, S. F. Minerals, phytic acid and tannin contents of 18 fruits from the Brazilian savanna. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, p. 177-187, 2009. ISSN 0963-7486. Disponível em: <<Go to ISI>://000272942700017 >.

MARINHO, D. G. et al. The latex obtained from *Hancornia speciosa* Gomes possesses anti-inflammatory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, n. 2, p. 530-537, May 17 2011. ISSN 0378-8741. Disponível em: <<Go to ISI>://000291716000042 >.

MARUO, V. M.; BERNARDI, M. M.; SPINOSA, H. S. Toxicological evaluations of long-term consumption of *Solanum lycocarpum* St. Hill fruits in male and female adult rats. **Phytomedicine**, v. 10, n. 1, p. 48-52, Jan 2003. ISSN 0944-7113. Disponível em: <<Go to ISI>://000181973200007 >.

MARUO, V. M. et al. Embryotoxic effects of *Solanum lycocarpum* St. Hill fruits consumption during preimplantation and organogenesis in rats. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 25, n. 5, p. 627-631, Sep-Oct 2003. ISSN 0892-0362. Disponível em: <<Go to ISI>://000185552500013 >.

MARZOCCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica Básica**. Rio de Janeiro: 2007. 388 ISBN 9788527712842.

MATSUO, W.; KANECO, T. The chemistry of reactive oxygen species and related free radicals. In: RADÁK, Z. (Ed.). **Free Radicals in Exercise and Aging** Champaign: Human Kinetics, 2000. p.265. ISBN 0880118814, 9780880118811.

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

MEDINA-REMÓN, A. et al. Gazpacho consumption is associated with lower blood pressure and reduced hypertension in a high cardiovascular risk cohort. Cross-sectional study of the PREDIMED trial. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 23, p. 9, 2013.



MEDJAKOVIC, S.; JUNGBAUER, A. Pomegranate: a fruit that ameliorates metabolic syndrome. **Food & Function**, v. 4, n. 1, p. 19-39, Jan 2013. ISSN 2042-6496. Disponível em: <<Go to ISI>://000312544200003 >.

MENDONÇA, R. C. et al. **Flora vascular do cerrado**. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Ed.). **Cerrado ambiente e flora**. . 1998.

MILLER, J. C.; MILLER, J. N. **Statistics for Analytical Chemistry**. New York: Wiley, 1992.

MORAES, T. D. M. et al. Hancornia speciosa: Indications of gastroprotective, healing and anti-Helicobacter pylori actions. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, n. 2, p. 161-168, Nov 20 2008. ISSN 0378-8741. Disponível em: <<Go to ISI>://000261520900006 >.

MULINACCI, N. et al. Storage method, drying processes and extraction procedures strongly affect the phenolic fraction of rosemary leaves: An HPLC/DAD/MS study. **Talanta**, v. 85, n. 1, p. 167-176, Jul 15 2011. ISSN 0039-9140. Disponível em: <<Go to ISI>://000292848900024 >.

MUNARI, C. C. et al. Evaluation of cytotoxic, genotoxic and antigenotoxic potential of Solanum lycocarpum fruits glicoalkaloid extract in V79 cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 10, p. 3696-3701, Oct 2012. ISSN 0278-6915. Disponível em: <<Go to ISI>://000309897100041 >.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-857, 2000.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **J Chromatogr A**, v. 1054, n. 1-2, p. 95-111, Oct 29 2004. ISSN 0021-9673. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15553136> >.

NERY, P. S. et al. Effects of Anacardium humile leaf extracts on the development of gastrointestinal nematode larvae of sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 171, n. 3-4, p. 361-364, Aug 4 2010. ISSN 0304-4017. Disponível em: <<Go to ISI>://000280659700028 >.

NEYRINCK, A. M. et al. Polyphenol-rich extract of pomegranate peel alleviates tissue inflammation and hypercholesterolaemia in high-fat diet-induced obese mice: potential implication of the gut microbiota. **British Journal of Nutrition**, v. 109, n. 5, p. 802-809, Mar 14 2013. ISSN 0007-1145. Disponível em: <<Go to ISI>://000315456700004 >.

NILE, S. H.; PARK, S. W. Edible berries: Review on bioactive components and their effect on human health. **Nutrition**, v. xxx, p. 11, 2013.

NOGUEIRA, R. T. et al. Clerodane-type diterpenes from the seed pods of Hymenaea courbaril var. stilbocarpa. **Phytochemistry**, v. 58, n. 8, p. 1153-1157, Dec 2001. ISSN 0031-9422. Disponível em: <<Go to ISI>://000172949900002 >.

NURK, E. et al. Intake of Flavonoid-Rich Wine, Tea, and Chocolate by Elderly Men and Women Is Associated with Better Cognitive Test Performance. **Journal of Nutrition**, v. 139, n. 1, p. 120-127, Jan 2009. ISSN 0022-3166. Disponível em: <<Go to ISI>://000261777100021 >.

OLIVEIRA, D. D. **Nhanderukeri Ka'aguy Rupa - As Florestas que Pertencem aos Deuses**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2009. 182 Disponível em: <<http://www.pluridoc.com/Site/FrontOffice/default.aspx?Module=Files/FileDescription&ID=4402&language=>>.

OLTHOF, M. R. et al. Bioavailabilities of quercetin-3-glucoside and quercetin-4'-glucoside do not differ in humans. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 5, p. 1200-1203, May 2000. ISSN 0022-3166. Disponível em: <<Go to ISI>://000086873200020 >.

ONO, M. et al. Three new monoterpenoids from the fruit of *Genipa americana*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 55, n. 4, p. 632-634, Apr 2007. ISSN 0009-2363. Disponível em: <<Go to ISI>://000246377800024 >.

ORSI, P. R. et al. *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne: A Brazilian medicinal plant with gastric and duodenal anti-ulcer and antidiarrheal effects in experimental rodent models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, n. 1, p. 81-90, Aug 30 2012. ISSN 0378-8741. Disponível em: <<Go to ISI>://000308678600009 >.

PARKER, S. J. et al. Biometals in rare neurodegenerative disorders of childhood. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 5, 2013-March-25 2013. ISSN 1663-4365. Disponível em: <[http://www.frontiersin.org/Journal/Abstract.aspx?s=18&name=aging\\_neuroscience&ART\\_DOI=10.3389/fnagi.2013.00014](http://www.frontiersin.org/Journal/Abstract.aspx?s=18&name=aging_neuroscience&ART_DOI=10.3389/fnagi.2013.00014) >.

PEKAL, A.; BIESAGA, M.; PYRZYNSKA, K. Interaction of quercetin with copper ions: complexation, oxidation and reactivity towards radicals. **Biometals**, v. 24, n. 1, p. 41-49, Feb 2011. ISSN 0966-0844. Disponível em: <<Go to ISI>://000286322800004 >.

PEREIRA, A. B. D. et al. Development and validation of an HPLC-DAD method for quantification of bornesitol in extracts from *Hancornia speciosa* leaves after derivatization with p-toluenesulfonyl chloride. **Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 887, p. 133-137, Mar 1 2012. ISSN 1570-0232. Disponível em: <<Go to ISI>://000302049600019 >.

PERIOTTO, F. **Efeito alelopático de *Andira humilis* e de *Anacardium humilie* na germinação e no crescimento de *Latuca sativa* e de *Raphanus sativus***. 2003. 52 (Mestrado). Instituto de Biologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, Jul 2000. ISSN 0163-3864. Disponível em: <<Go to ISI>://000088562000038 >.

PINTO, E. G. **Caracterização da espuma de Jenipapo (*Genipa americana* L.) com diferentes aditivos visando à secagem em leite de espuma.** 2009. 69 (Mestrado). Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, Itapetinga.

PRIOR, R. L.; WU, X. L.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4290-4302, May 18 2005. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <Go to ISI>://000229049000082 >.

QUIDEAU, S. et al. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. **Angew Chem Int Ed Engl**, v. 50, n. 3, p. 586-621, Jan 17 2011. ISSN 1521-3773. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21226137> >.

RADA, N. Assessing Brazil's Cerrado agricultural miracle. **Food Policy**, v. 38, p. 146-155, Feb 2013. ISSN 0306-9192. Disponível em: < <Go to ISI>://000315553700014 >.

RAMFUL, D. et al. Polyphenol composition, vitamina C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. **Food Research International**, v. 44, p. 1088-1099, 2011.

RAMOS, V. D. et al. Molecular cloning and insecticidal effect of *Inga laurina* trypsin inhibitor on *Diatraea saccharalis* and *Heliothis virescens*. **Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology**, v. 156, n. 3-4, p. 148-158, Nov 2012. ISSN 1532-0456. Disponível em: < <Go to ISI>://000309434200003 >.

REDDY, V. C. et al. Addition of milk does not alter the antioxidant activity of black tea. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 49, n. 3, p. 189-195, 2005. ISSN 0250-6807. Disponível em: < <Go to ISI>://000231223500008 >.

REIN, M. J. et al. Bioavailability of bioactive food compounds: a challenging journey to bioefficacy. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 75, n. 3, p. 588-602, Mar 2013. ISSN 0306-5251. Disponível em: < <Go to ISI>://000314654800002 >.

REZAIRE, A. et al. "Amazonian palm *Oenocarpus bataua* ("patawa"): chemical and biological antioxidant activity - phytochemical composition". **Food Chemistry**, v. xxx, n. xxx, p. xxx, 2013. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613015227> >.

REZENDE, L. C. D. et al. **Fenólicos totais e atividade antioxidante de frutas tropicais da Bahia.** 32<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química e 4<sup>o</sup> Workshop de Química Inorgânica. SBQ, S. B. D. Q. Fortaleza 2009.

ROBBINS, R. J. Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 10, p. 2866-2887, May 7 2003. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <Go to ISI>://000182609800003 >.

RODRIGUES-AMAYA, D.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos**. Brasília: 2008. ISBN 978-85-7738-111-1.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoids analyses in foods**. Washington: ILSI PRESS, 1999. ISBN 1-57881-072-8.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Quantitative analysis, in vitro assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids-A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 7, p. 726-740, Nov 2010. ISSN 0889-1575. Disponível em: <<Go to ISI>://000285282200010 >.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2008. 100.

RODRIGUEZ-ROQUE, M. J. et al. Changes in Vitamin C, Phenolic, and Carotenoid Profiles Throughout in Vitro Gastrointestinal Digestion of a Blended Fruit Juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 8, p. 1859-1867, Feb 27 2013. ISSN 0021-8561. Disponível em: <<Go to ISI>://000315619000031 >.

ROESLER, R. et al. Antioxidant activity of *Annona crassiflora*: Characterization of major components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 104, n. 3, p. 1048-1054, 2007. ISSN 0308-8146. Disponível em: <<Go to ISI>://000247275700021 >.

ROESLER, R. et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.

ROOPCHAND, D. E. et al. Blueberry polyphenol-enriched soybean flour reduces hyperglycemia, body weight gain and serum cholesterol in mice. **Pharmacological Research**, v. 68, n. 1, p. 59-67, Feb 2013. ISSN 1043-6618. Disponível em: <<Go to ISI>://000314258300008 >.

ROSS, K. A.; BETA, T.; ARNTFIELD, S. D. A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods. **Food Chemistry**, v. 113, n. 1, p. 336-344, Mar 1 2009. ISSN 0308-8146. Disponível em: <<Go to ISI>://000260711100054 >.

RUFINO, M. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996-1003, 2010 2010.

RUFINO, M. S. M. et al. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity in Acerola, Acai, Mangaba and Uvaia Fruits by DPPH Method. **II International Symposium on Human Health Effects of Fruits and Vegetables: Favhealth 2007**, v. 841, p. 459-462, 2009. ISSN 0567-7572. Disponível em: <<Go to ISI>://000305703500058 >.

SALEEM, M. et al. An update on bioactive plant lignans. **Natural Product Reports**, v. 22, n. 6, p. 696-716, 2005. ISSN 0265-0568. Disponível em: <<Go to ISI>://000233459100002 >.

SAMPAIO, T. S.; NOGUEIRA, P. C. L. Volatile components of mangaba fruit (*Hancornia speciosa* Gomes) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 95, n. 4, p. 606-610, Apr 2006. ISSN 0308-8146. Disponível em: <<Go to ISI>://000232973800010 >.

SANDERSON, J. T. et al. Antiproliferative, antiandrogenic and cytotoxic effects of novel caffeic acid derivatives in LNCaP human androgen-dependent prostate cancer cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 21, p. 7182-7193, 2013.

SANTOS-BUELGA, C.; SCALBERT, A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds - nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 7, p. 1094-1117, May 15 2000. ISSN 0022-5142. Disponível em: <<Go to ISI>://000087079800017 >.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 8, p. 2073s-2085s, Aug 2000. ISSN 0022-3166. Disponível em: <<Go to ISI>://000088760200003 >.

SELLAPPAN, S.; AKOH, C. C.; KREWER, G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 8, p. 2432-2438, Apr 10 2002. ISSN 0021-8561. Disponível em: <<Go to ISI>://000174844800038 >.

SERAFINI, M.; GHISELLI, A.; FERROLUZZI, A. In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 50, n. 1, p. 28-32, Jan 1996. ISSN 0954-3007. Disponível em: <<Go to ISI>://A1996TR08000006 >.

SIEGEL, E. M. et al. Dietary consumption of antioxidant nutrients and risk of incident cervical intraepithelial neoplasia. **Gynecologic Oncology**, v. 118, n. 3, p. 289-294, Sep 2010. ISSN 0090-8258. Disponível em: <<Go to ISI>://000281124000015 >.

SILVA, A. M. L. D.; MARTINS, B. D. A.; DEUS, T. N. D. Avaliação do teor de ácido ascórbico em frutos do cerrado durante o amadurecimento e congelamento. **Estudos**, v. 36, n. 11/12, p. 1159-1169, 2009.

SILVA, D. B. et al. **Frutas do Cerrado**. Brasília - DF: EMBRAPA Informações Tecnológicas, 2001. 87.

SILVA, G. C. et al. Mechanisms involved on the antihypertensive effect from leaves of a standardized fraction from *Hancornia Speciosa*. **Planta Medica**, v. 78, n. 11, p. 1085-1086, Aug 2012. ISSN 0032-0943. Disponível em: <<Go to ISI>://000307042800232 >.

SILVA, G. C. et al. Hancornia speciosa Gomes induces hypotensive effect through inhibition of ACE and increase on NO. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, n. 1, p. 709-713, Sep 1 2011. ISSN 0378-8741. Disponível em: <<Go to ISI>://000295236700083 >.

SILVA, M. R. **Caracterização química e nutricional da farinha de jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.): desenvolvimento e otimização de produtos através de testes sensoriais afetivos**. 1997. 158 (Doutor). Engenharia de alimentos, UNICAMP, Campinas.

SILVA, S. R. D.; MERCADANTE, A. Z. Composição de carotenóides de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*) in natura. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 22, p. 254-258, 2002. ISSN 0101-2061. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612002000300010&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612002000300010&nrm=iso)>.

SILVA, T. M. S. D. et al. Ocorrência de flavonas, flavonóis e seus glicosídeos em espécies do gênero *Solanum* (Solanaceae). **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 517-522, 2003.

SILVEIRA, C. S. et al. Atividade antimicrobiana dos frutos de *Syagrus oleracea* e *Mauritia vinifera*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p. 143-148, 2005.

SIMIRGIOTIS, M. J. et al. Direct characterisation of phenolic antioxidants in infusions from four Mapuche medicinal plants by liquid chromatography with diode array detection (HPLC-DAD) and electrospray ionisation tandem mass spectrometry (HPLC-ESI-MS). **Food Chemistry**, v. 131, n. 1, p. 318-327, Mar 1 2012. ISSN 0308-8146. Disponível em: <<Go to ISI>://000296826400045 >.

SINGH, R. P.; MURTHY, K. N. C.; JAYAPRAKASHA, G. K. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 1, p. 81-86, Jan 2 2002. ISSN 0021-8561. Disponível em: <<Go to ISI>://000173078600015 >.

SIQUEIRA et al. Brazilian Savanna Fruits Contain Higher Bioactive Compounds Content and Higher Antioxidant Activity Relative to the Conventional Red Delicious Apple. **Plos One**, v. 8, n. 8, p. 7, 2013.

SIQUEIRA, E. M. et al. Brazilian savanna fruits contain higher bioactive compounds content and higher antioxidant activity relative to the conventional red delicious apple. **PLoS One**, v. 8, n. 8, p. e72826, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23991156>>.

SIQUEIRA, E. M. A. et al. Consumption of baru seeds [*Dipteryx alata* Vog.], a Brazilian savanna nut, prevents iron-induced oxidative stress in rats. **Food Research International**, v. 45, p. 427-432, 2012.

SIQUEIRA, E. M. D. et al. Antioxidant Potential of Baru (*Dipteryx alata* Vog.) Nut in Rats Supplemented with Iron. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 47, p. S154-S154, 2009. ISSN 0891-5849. Disponível em: <<Go to ISI>://000271988500447 >.

SOARES, M. et al. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 727-732, 2008. ISSN 0101-2061.

SOKOLOVA, A. N. et al. Chocolate and the brain: Neurobiological impact of cocoa flavanols on cognition and behavior. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. xxx, n. xxx, p. 9, 2013.

SOUZA, V. R. et al. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food Chemistry**, v. xxx, p. 6, 2012.

TANG, L. et al. Fruit and vegetable consumption associated with reduced risk of epithelial ovarian cancer in southern Chinese women. **Gynecologic Oncology**, v. xxx, n. xxx, p. 7, 2013. Disponível em: < [http://ac.els-cdn.com/S0090825813012699/1-s2.0-S0090825813012699-main.pdf?\\_tid=61ca4cc8-47b0-11e3-85eb-0000aab0f27&acdnat=1383831043\\_86ee6d86d17c15e1017a0bc0a9c47fff](http://ac.els-cdn.com/S0090825813012699/1-s2.0-S0090825813012699-main.pdf?_tid=61ca4cc8-47b0-11e3-85eb-0000aab0f27&acdnat=1383831043_86ee6d86d17c15e1017a0bc0a9c47fff) >.

TEMPONE, A. G. et al. Antiprotozoal activity of Brazilian plant extracts from isoquinoline alkaloid-producing families. **Phytomedicine**, v. 12, n. 5, p. 382-390, May 2005. ISSN 0944-7113. Disponível em: < <Go to ISI>://000230192100010 >.

THAIPONG, K. et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6-7, p. 669-675, Sep-Nov 2006. ISSN 0889-1575. Disponível em: < <Go to ISI>://000238776500027 >.

TORRES, J. D. et al. Volatile profile of mango (*Mangifera indica* L.), as affected by osmotic dehydration. **Food Chemistry**, v. 101, 2007.

TRABER, M. G.; STEVENS, J. F. Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 51, n. 5, p. 1000-1013, Sep 1 2011. ISSN 0891-5849. Disponível em: < <Go to ISI>://000294144000009 >.

TSAO, R. et al. Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple? **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 12, p. 4989-4995, Jun 15 2005. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <Go to ISI>://000229720700052 >.

TSENG, A.; ZHAO, Y. Y. Effect of Different Drying Methods and Storage Time on the Retention of Bioactive Compounds and Antibacterial Activity of Wine Grape Pomace (Pinot Noir and Merlot). **Journal of Food Science**, v. 77, n. 9, p. H192-H201, Sep 2012. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <Go to ISI>://000308535500008 >.

URZEDA, M. A. **Avaliação da atividade hipoglicemiante de *Anacardium humile* em ratos induzidos por aloxana**. 2003. 149 (Mestre). Biotecnologia, Universidade de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, São Paulo.

VACCARI, N. F. D. S.; SOCCOL, M. C. H.; IDE, G. M. Compostos fenólicos em vinhos e seus efeitos antioxidantes na prevenção de doenças. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 8, n. 1, p. 71-73, 2009.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, p. 44-84, 2007.

VALLS, J. et al. Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 43, p. 7143-7172, 2009. ISSN 0021-9673. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967309010206> >.

VAN HET HOF, K. H. et al. Bioavailability of catechins from tea: the effect of milk. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 52, n. 5, p. 356-359, May 1998. ISSN 0954-3007. Disponível em: < <Go to ISI>://000073629000009 >.

VERGARA, C. et al. Stilbene Levels in Grape Cane of Different Cultivars in Southern Chile: Determination by HPLC-DAD-MS/MS Method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 4, p. 929-933, Feb 1 2012. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <Go to ISI>://000300462500010 >.

VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. L. **Phenolic Compound Biochemistry**. Springer, 2006. 276.

VIDELA, F. C. et al. The relative role of Amazonian and non-Amazonian fires in building up the aerosol optical depth in South America: A five year study (2005-2009). **Atmospheric Research**, v. 122, p. 298-309, Mar 2013. ISSN 0169-8095. Disponível em: < <Go to ISI>://000315551500024 >.

VIEIRA, P. M.; SANTOS, S. C.; CHEN-CHEN, L. Assessment of mutagenicity and cytotoxicity of *Solanum paniculatum* L. extracts using in vivo micronucleus test in mice. **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, n. 3, p. 601-606, Aug 2010. ISSN 1519-6984. Disponível em: < <Go to ISI>://000281182200017 >.

VILELA, V. L. R. et al. Potencial anti-helmíntico da raiz de *Solanum paniculatum* LINNAEUS (1762) em ovelhas do semi-árido Paraibano. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 3, n. 1, p. 20-24, 2009.

WANG, D. D. et al. Inhibitory activity of unsaturated fatty acids and anacardic acids toward soluble tissue factor-factor VIIa complex. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 11, p. 1352-1355, Nov 1998. ISSN 0163-3864. Disponível em: < <Go to ISI>://000077358200008 >.

WANG, J. et al. Effect and mechanism of fucoidan derivatives from *Laminaria japonica* in experimental adenine-induced chronic kidney disease. **J Ethnopharmacol**, v. 139, n. 3, p. 807-13, Feb 15 2012. ISSN 1872-7573 Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22210052> >.

WANG, Z.-M. et al. Flavonols intake and the risk of stroke: a meta-analysis of cohort studies **Nutrition**, v. xxx, p. 24, 2013.



WANGA, B. et al. Resveratrol prevents suppression of regulatory T-cell production, oxidative stress, and inflammation of mice prone or resistant to high-fat diet-induced obesity. **Nutrition Research**, v. 33, p. 971-981, 2013.

WILLIAMSON, G.; CLIFFORD, M. N. Colonic metabolites of berry polyphenols: the missing link to biological activity? **British Journal of Nutrition**, v. 104, p. S48-S66, Oct 2010. ISSN 0007-1145. Disponível em: <<Go to ISI>://000284035600005 >.

WOLFE, K. L. et al. Cellular antioxidant activity of common fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 18, p. 8418-8426, Sep 24 2008. ISSN 0021-8561. Disponível em: <<Go to ISI>://000259295500027 >.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, W. **Global status report on noncommunicable diseases 2010**. Geneva, Switzerland: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 2011. ISBN 9789241564229. Disponível em: <[http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789240686458\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789240686458_eng.pdf) >.

WU, L. C.; LU, Y. W. Electrophoretic method for the identification of a haze-active protein in grape seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 10, p. 3130-3135, May 19 2004. ISSN 0021-8561. Disponível em: <<Go to ISI>://000221419500057 >.

WU, T. et al. Antifungal action and inhibitory mechanism of polymethoxylated flavones from *Citrus reticulata* Blanco peel against *Aspergillus niger*. **Food Control**, v. 35, p. 354-359, 2014.

YANG, B. R.; LIU, P. Z. Composition and health effects of phenolic compounds in hawthorn (*Crataegus* spp.) of different origins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 8, p. 1578-1590, Jun 2012. ISSN 0022-5142. Disponível em: <<Go to ISI>://000302951000002 >.

ZADERNOWSKI, R.; CZAPLICKI, S.; NACZK, M. Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana*). **Food Chemistry**, v. 112, n. 3, p. 685-689, Feb 1 2009. ISSN 0308-8146. Disponível em: <<Go to ISI>://000259947100026 >.

APÊNDICE I –

ARTIGO QUE SERÁ SUBMETIDO A REVISTA INDEXADA