

ANA CARLA DA SILVA CAETANO

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE RESÍDUOS DE ACEROLAS
(*Malpighia Emarginata* D.C.) EM DIFERENTES SISTEMAS MODELOS E NA
ESTABILIDADE OXIDATIVA DO ÓLEO DE SOJA**

Recife

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE RESÍDUOS DE ACEROLAS
(*Malpighia Emarginata* D.C.) EM DIFERENTES SISTEMAS MODELOS E NA
ESTABILIDADE OXIDATIVA DO ÓLEO DE SOJA

Recife

2009

ANA CARLA DA SILVA CAETANO

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE RESÍDUOS DE ACEROLAS
(*Malpighia Emarginata* D.C.) EM DIFERENTES SISTEMAS MODELOS E NA
ESTABILIDADE OXIDATIVA DO ÓLEO DE SOJA**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADORA: Prof^a. Dr. Enayde de Almeida Melo

Recife

2009

FICHA CATALOGRÁFICA

C128p Caetano, Ana Carla da Silva
Potencial antioxidante de extratos de resíduos de acerolas
(*Malpighia emarginata* D. C. em diferentes sistemas modelos
e na estabilidade oxidativa de óleo de soja / Ana Carla da
Silva Caetano. -- 2009.
113 f. : il.

Orientador : Enayde Almeida Melo
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de
Alimentos) - Universidade Federal Rural de Pernambuco.
Departamento de Ciências Domésticas)
Inclui bibliografia.

CDD 664.07

1. Compostos bioativos
2. Resíduos
3. Acerola
4. Atividade antioxidante
 - I. Melo, Enayde Almeida
 - II. Título

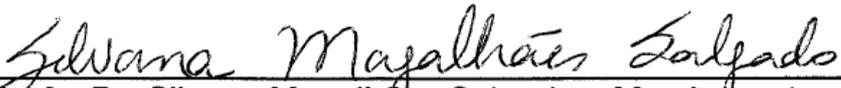
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE RESÍDUOS DE ACEROLAS
(*Malpighia Emarginata* D.C.) EM DIFERENTES SISTEMAS MODELOS E NA
ESTABILIDADE OXIDATIVA DO ÓLEO DE SOJA**

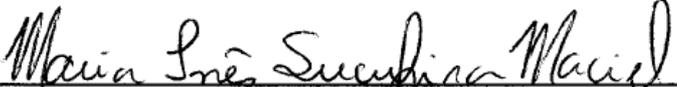
Por: Ana Carla da Silva Caetano

Esta dissertação foi julgada para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em 26 / 02 / 2009 pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, em sua forma final.

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dr. Silvana Magalhães Salgado – Membro externo
Universidade Federal de Pernambuco



Profa. Dr. Maria Inês Sucupira Maciel – Membro interno
Universidade Federal Rural de Pernambuco



-Profa. Dr. Nonete Barbosa Guerra- Membro interno
Universidade Federal de Pernambuco

*A Deus, pelo Dom da vida e pela
força concedida;*

*A Jânio meu esposo fonte de
inspiração e motivação.*

AGRADECIMENTOS

A meus pais Rosinete e João pelos belos ensinamentos, que me levaram em busca do conhecimento.

A minha mãe Maria Sofia “in memoriam” que me concebeu.

Aos meus irmãos pela nossa amizade e companheirismo.

A Jânio meu amado esposo, por seu carinho, pelo seu exemplo de força, seus conselhos e sorrisos que me fizeram superar momentos difíceis.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, pela minha formação nesse curso de mestrado.

A minha orientadora professora Enayde Melo pelas incansáveis discussões sobre este trabalho, exemplo de dedicação a ciência. Obrigada pelos ensinamentos e amizade.

À Coodenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Departamento de Ciências Domésticas na Universidade Federal Rural de Pernambuco por disponibilizar a infra-estrutura dos Laboratórios de Análise Físico-química de alimentos e processamento de alimentos, para a realização dos experimentos.

Ao Sr. André, da Agroindústria Frutotal, por disponibilizar os resíduos de fruta analisados no trabalho.

A Bunge S/A por ter gentilmente cedido o óleo de soja para as análises

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação de Ciência e tecnologia da UFRPE, pelos ensinamentos transmitidos.

A grande amiga Cristiane, meu braço direito nas minhas análises, pela sua amizade e grande ajuda na superação dos problemas, dividindo comigo momentos difíceis e felizes. Obrigada.

As minhas grandes amigas do laboratório que nunca deixaram de torcer por mim, Lídia, Rosilda, Ana Paula, Naíra, Patrícia, Christine pelos grandes experiências vividas. Obrigada meninas.

As amigas de sempre Wedja, Kelvina, Cilene, Paloma e Daysevângela pela nossa grande amizade.

Aos colegas de turma, Michelline, Rodrigo, Elza, Adriana e Luciares pela convivência durante o curso.

A secretária do curso de mestrado Ana Engracia, por sua dedicação e paciência no decorrer do curso.

Enfim, a todos que contribuíram de forma direta ou indireta, para a realização deste trabalho.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Processos patológicos possivelmente desencadeados pela ação de espécies reativas do oxigênio (EROs) no organismo humano.....	23
Figura 2. Espécies reativas de oxigênio ou EROS.....	24
Figura 3. Esquema geral da autoxidação de ácidos graxos polinsaturados....	27
Figura 4. Estrutura dos antioxidantes sintéticos PG, TBHQ, BHA e BHT.....	29
Figura 5. Estrutura química dos flavonóides.....	34
Figura 6. Estrutura química dos ácidos hidroxibenzóicos.....	35
Figura 7. Estrutura química dos principais ácidos hidroxicinâmicos.....	36
Figura 8. Estrutura química das cumarinas.....	37
Figura 9. (a) Fruto maduro da aceroleira (<i>Malpighia emarginata</i> D.C.), (b) Resíduos fresco de acerola.....	44

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	15
OBJETIVOS	19
Objetivo Geral	20
Objetivos Específicos	20
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
Radicais Livres	22
Espécies reativas de oxigênio (EROS)	23
Oxidação lipídica	26
Antioxidantes em alimentos.....	28
Compostos fenólicos	33
Ação antioxidante.....	38
Uso de resíduos agroindustriais na obtenção de antioxidantes naturais.....	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
RESULTADOS	64
ARTIGO 1: EXTRAÇÃO DE ANTIOXIDANTES DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE ACEROLA	65
ARTIGO 2: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE ACEROLA EM SISTEMA MODELO E EM ÓLEO DE SOJA.....	84
CONCLUSÃO GERAL	1123

RESUMO

A constatação de que os vegetais possuem substâncias biologicamente ativas, principalmente polifenóis, que trazem benefícios à saúde, tem impulsionado estudos sobre sua propriedade antioxidante. Assim, considerando que os resíduos gerados pela agroindústria de polpa de frutas, ainda, contém significante teores de compostos fenólicos, este trabalho teve como objetivo determinar o solvente e a temperatura mais eficiente para a extração destes fitoquímicos a partir de resíduos de acerola e avaliar o potencial antioxidante de seus extratos. Desta forma, extratos hidroacetônico, hidroetanólico, hidrometanólico e aquoso, obtidos por processo de extração seqüencial, em duas temperaturas ($25 \pm 2^\circ\text{C}$ e $50 \pm 2^\circ\text{C}$), foram avaliados quanto ao teor de compostos fenólicos, e a sua ação antioxidante em sistemas modelos, por meio do método da capacidade de seqüestro do radical DPPH[•] (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), do radical ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis- (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) e da inibição da peroxidação do ácido linoléico pelo método Tiocianato Férrico, bem como, em óleo de soja por meio do teste acelerado em estufa. Quanto ao teor de fenólicos, independente da temperatura usada no processo de extração, destacou-se o hidroacetônico por ter apresentado o mais elevado teor (5.954,2 µg em equivalente de catequina. mL⁻¹). Os extratos hidroetanólicos e hidrometanólico exibiram forte capacidade de seqüestro do radical DPPH[•] (baixo valor de EC₅₀ e de T_{EC50}, alto valor de EA), elevada capacidade de seqüestro do radical ABTS^{•+} (1.445,1 e 1.145,5µMol TEAC/g, respectivamente), e forte proteção do ácido linoléico contra a peroxidação (96,12% e 91,84% respectivamente). Estes extratos, também, apresentaram boa capacidade em retardar formação de peróxidos e de dienos conjugados em óleo de soja. Os resultados obtidos permitem evidenciar que o procedimento envolvendo solventes orgânico-aquosos, três ciclos de extração e a temperatura de 25°C se mostrou eficaz na extração de fenólicos totais. O solvente hidroacetônico embora tenha propiciado a extração de uma maior quantidade de fenólicos totais, a ação antioxidante deste extrato foi inferior a exibida pelos extratos hidroetanólico e hidrometanólico que, nas condições experimentais, exibiram a melhor ação antioxidante, tanto em sistema modelo como no teste acelerado em estufa. Desta forma, o resíduo agroindustrial de acerola apresenta-se como fonte de antioxidante natural, permitindo vislumbrar a sua utilização em alimentos em substituição ou em associação aos antioxidantes sintéticos.

Palavras chave: capacidade antioxidante, DPPH, fenólicos totais, resíduo agroindustrial, acerola

ABSTRACT

The observation that the plants have biologically active substances, mainly polyphenols, that provide benefits to health, has driven studies on the antioxidant property. Thus, considering that the agri-industrial waste from acerola also contains phenolic compounds, this study was carried out to determine the procedure for extraction of polyphenols and the antioxidant activity of their extracts. Hydroacetone, hydroethanolic, hydromethanolic and aqueous extracts, obtained by sequential extraction procedure, combining three extraction cycles (20 minutes each one) and two temperatures ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ and $50 \pm 2^{\circ}\text{C}$), were submitted to the determination of total phenolic and screened for their free DPPH[•] (1,1-diphenyl-2-picrilhidrazil) and ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzotiazolina 6-sulfonic acid) scavenging activity and their effect on the linoleic acid peroxidation by the ferric thiocyanate method. Soybean oil with the addition of the extracts (200ppm) were submitted to an accelerated storage test in an oven at 60°C for 28 days, where sample were taken at time intervals and analyzed for peroxide value and conjugated dienes. The extracts showed high content of total polyphenols; however, the hydroacetone extract exhibited the highest total phenolic content ($5,954.2 \mu\text{g}$ catechin equivalent. mL^{-1}). Hydroethanolic and hydromethanolic extracts exhibited good DPPH[•] scavenging activity (low value of EC_{50} and $\text{T}_{\text{EC}_{50}}$, high value of EA), good ABTS^{•+} scavenging capacity ($1.445,1$ e $1.145,5 \mu\text{Mol TEAC/g}$, respectively), high percentage of inhibition of peroxidation of linoleic acid (96.12% and 91.84%, respectively). These extracts showed the ability to retard the formation of peroxides and conjugated dienes in soybean oil. The procedure involves aqueous-organic solvents, three cycles of extraction and temperature of 25°C is effective in the extraction of phenolic compounds. Although, the hydroacetone extract has exhibited the highest total phenolic content, the antioxidant action of this extract was less than shown by hydroethanolic and hydromethanolic extracts that, under the experimental conditions, exhibited the best antioxidant activity, both in model system and in soybean oil. Therefore, the agri-industrial waste from acerola can be considered as a source of natural antioxidants and can be useful in food applications in replace or in association with synthetic antioxidants.

Key words: antioxidant capacity, DPPH, total phenolics, acerola, agri-industrial waste

INTRODUÇÃO

O Brasil, devido à sua vasta extensão territorial e ampla variação climática, apresenta uma das maiores diversidades de espécies frutíferas do mundo. Em 2005, com uma produção de 41,2 milhões de toneladas de frutas, assumiu a terceira colocação dentre os principais países produtores, contribuindo para que a produção mundial de frutas pudesse atingir 690.756.513 toneladas (FAO, 2006). Na região nordeste brasileira, em função das condições edafoclimáticas, evidencia-se uma produção de grande variedade de frutos tropicais, nativos e exóticos com boas perspectivas para exploração econômica (SACRAMENTO; SOUZA, 2000).

Especialmente no nordeste brasileiro, a fruticultura, importante setor da agropecuária, vem adotando um processo de profissionalização, caracterizado pela exploração de áreas mais extensas, pela utilização da irrigação e pelo incremento de novas tecnologias, visando produção elevada e qualitativa de frutos. Em resposta a esse avanço, o número de agroindústrias instaladas por toda a região tem aumentado significativamente, gerando um incremento na produção de resíduos agroindustriais que não são utilizados, mas que podem ser aproveitados, tornando-se importante fator de redução dos custos de produção (LOUSADA, et al., 2006). Segundo Demajorovic (1995), esses resíduos, designados de resíduos sólidos, diferenciam-se do termo lixo. Enquanto este último não possui nenhum tipo de valor, já que é algo que deve apenas ser descartado, aqueles possuem valor econômico agregado, por possibilitarem reaproveitamento no próprio processo produtivo.

Em geral, para a maioria das frutas, calcula-se que do total processado para a produção de sucos e polpas, seja gerado 40% de resíduos agroindustriais. Atualmente, as agroindústrias vêm investindo no aumento de sua capacidade de processamento, em conseqüência são geradas grandes quantidades de

subprodutos, que em muitos casos são considerados custo operacional para as empresas ou fonte de contaminação ambiental (BÁRTHOLO, 1994). Além de criar potenciais problemas ambientais, os resíduos representam perdas de matérias-primas e de energia, exigindo investimentos significativos em tratamentos para controlar a poluição (TIMOFIECSYK; PAWLOWSKY, 2000).

Os resíduos agroindustriais, constituídos principalmente por cascas e sementes de vegetais, geralmente não recebem a devida atenção, no sentido de serem usados ou reciclados, evitando o desperdício. Isto, possivelmente, ocorre devido à falta de valor comercial desse produto (SOONG; BARLOW, 2004). No entanto, vale ressaltar que a casca e as frações da semente de certas frutas exibem atividade antioxidante mais elevada do que as frações da polpa (AJILA et al., 2007). Esta ação tem sido atribuída à presença de fitoquímicos bioativos, pois assim como as polpas das frutas, os seus resíduos contêm níveis significantes de compostos biologicamente ativos, que auxiliam as funções fisiológicas e bioquímicas, beneficiando a saúde humana.

Merece destaque, o emprego de antioxidantes sintéticos pela indústria alimentícia, com vistas a reduzir ou evitar a oxidação lipídica em óleos, gorduras e alimentos que os contém. Esta reação promove o desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis, tornando os alimentos impróprios para o consumo. Além disso, afeta sua qualidade nutricional uma vez que degrada vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais, colocando em risco a integridade e segurança dos alimentos, através da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (BOBBIO; BOBBIO, 1992; FENNEMA, 2005)

O Butil-hidroxi-tolueno (BHT), butil-hidroxi-anisol (BHA) e terc-butil hidroquinona (TBHQ) são os antioxidantes sintéticos mais largamente empregados pela indústria de alimentos. Entretanto, a inocuidade desses aditivos vem sendo questionada uma vez que alguns estudos têm apontado para possíveis efeitos mutagênicos e carcinogênicos (BIRCH et al., 2001). Neste contexto, os antioxidantes naturais surgem como alternativa aos sintéticos, visto que podem agir de forma semelhante na prevenção da oxidação lipídica. Assim, frente a elevada proporção de resíduos agroindustriais proveniente, principalmente, da indústria processadora de polpa congelada de frutas e do teor de fitoquímicos bioativos presente neste material torna-se relevante investigar o seu potencial antioxidante na perspectiva de empregá-los em alimentos em substituição parcial ou total aos sintéticos.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar o potencial antioxidante de extratos elaborados a partir de resíduos agroindustriais de acerola

Objetivos Específicos

1. Determinar o procedimento para a extração dos polifenóis presentes no resíduo agroindustrial de acerola
2. Avaliar a atividade antioxidante de extratos elaborados a partir de resíduos de acerola em sistemas modelos.
3. Averiguar a habilidade dos extratos de resíduos de acerola em reduzir a peroxidação do óleo de soja.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Radicais Livres

Estudos iniciais a respeito de radicais livres ocorreram por volta de 1924, no entanto, apenas nos anos setenta, foi relatada a importância desses radicais para os seres vivos, particularmente para os seres aeróbios (BAST et al. 1991). Nestes seres, os radicais livres são produzidos continuamente durante os processos metabólicos e atuam como mediadores para a transferência de elétrons em várias reações bioquímicas, desempenhando funções relevantes no metabolismo. As principais fontes de radicais livres são as organelas citoplasmáticas que metabolizam o oxigênio, o nitrogênio e o cloro, bem como a membrana citoplasmática (AUGUSTO, 2006).

As moléculas orgânicas e inorgânicas e os átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados, com existência independente, podem ser classificados como radicais livres (HALLIWELL, 1994), atualmente denominados espécies reativas do oxigênio (EROs). O não emparelhamento de elétrons na última camada torna esses átomos ou moléculas altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativas, capazes de reagir com qualquer composto situado próximo à sua órbita externa, passando a ter uma função oxidante ou redutora de elétrons (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999). Neste contexto, diversos compostos, como carboidratos, lipídios, proteínas, ácido desoxirribonucléico (DNA) e ácido ribonucléico (RNA), constituem os centros alvo destas moléculas, que ao serem atingidos, com certa intensidade, podem provocar a desestabilização do meio molecular (HALLIWELL, 1997; FERREIRA; MATSUBARA, 1997; THOMAS, 2000; ABDALLA, 2000; WILHELM FILHO et al., 2001). A oxidação dos ácidos graxos insaturados é o processo oxidativo mais freqüente no organismo humano

(HALLIWELL, 1997). Essa peculiaridade química que confere alta reatividade aos radicais livres é a base de sua possível toxicidade (SALDANHA, 2005), dando origem ao aparecimento de muitas doenças (Figura 1). Vale destacar que os danos ao DNA causados pelos radicais livres desempenham um papel importante nos processos de mutagênese e carcinogênese (POULSEN et al., 1998).

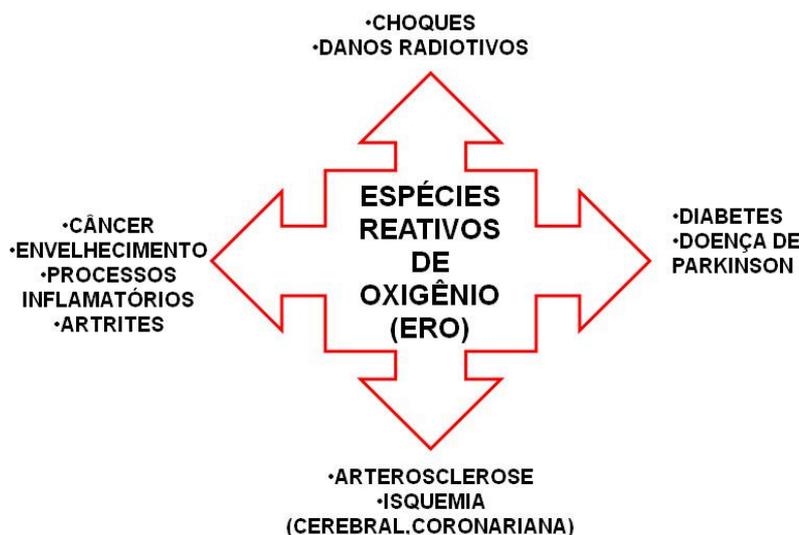


Figura 1. Processos patológicos possivelmente desencadeados pela ação de espécies reativas do oxigênio (EROs) no organismo humano (SAHIDI, 1997).

A associação entre a presença de radicais livres e a patogênese de algumas doenças, bem como a proteção exercida por certas substâncias antioxidantes, têm despertado o interesse, tornando-se objeto de estudo de diversos trabalhos, especialmente nas últimas décadas (GUTTERIDGE; HALLIWELL, 1994; HALLIWELL, 1996; DREOSTI, 2000).

Espécies reativas de oxigênio (EROS)

Na natureza existem duas importantes substâncias que podem gerar radicais livres: o oxigênio no estado fundamental (O^2) e o óxido nítrico (NO), que ocorre como

poluente atmosférico, mas que, também, é sintetizado em diversas células. Atualmente, o óxido nítrico tem sido identificado como o fator relaxante, dependente do endotélio, e um importante vasodilatador (CHEESEMAN; SLATTER, 1996; ROVER JUNIOR et al., 2001).

O oxigênio pode dar origem a diversas espécies reativas por absorção de energia ou por transferência de elétrons (ROVER JUNIOR et al., 2001). Outra via de formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), consiste na redução unieletrônica do oxigênio à água (Figura 2). Nesta reação, a entrada de 04 elétrons na molécula de oxigênio promove o aparecimento do radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e do radical hidroxil (OH^{\bullet}), compostos intermediários, parcialmente reduzidos do oxigênio molecular (CHEESEMAN; SLATTER, 1996; ROVER JUNIOR et al., 2001).

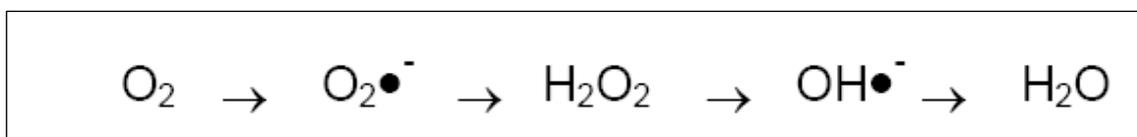


Figura 2 – Espécies reativas de oxigênio ou ROS. (FONTE: ADEGOKE et al., 1998)

O radical superóxido (ou ânion superóxido) ($O_2^{\bullet-}$) é o mais comum e abundante radical existente nas células (BOVERIS, 1998). Pode ser gerado em eventos de transporte de elétrons que ocorrem em cloroplastos e microsomas do retículo endoplasmático, ou por reações de autooxidação do oxigênio molecular (SANTORO; THIELE, 1997). Este radical é um agente oxidativo fraco em meio aquoso, porém desempenha papel fundamental na formação de outras EROs, tais como o peróxido de hidrogênio e o radical hidroxil (GUTTERIDGE, 1995; LEE et al., 2004). Apesar do nome sugerir alto poder oxidante a esse radical, o superóxido atua na maioria das reações como um agente redutor (OGA, 2003).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2), na ausência de íons metálicos, é a molécula menos reativa dentre as EROs (LEE et al., 2004). Em decorrência de sua propriedade de óxido-redução e da habilidade em formar radicais livres altamente reativos na presença de metais de transição, a exemplo do radical hidroxil ($\bullet HO$) formado em presença de ferro (FRIDOVICH, 1998), surge no corpo humano um mecanismo de defesa. Assim, o H_2O_2 não desejado é removido das células pela ação da catalase, da glutathione peroxidase e de algumas outras peroxidases (GUTTERIDGE, 1995).

O radical hidroxil ($\bullet HO$), considerado o radical livre mais reativo, é um agente oxidante extremamente agressivo em sistemas biológicos (GUTTERIDGE, 1995). Este radical combina-se rapidamente com metais ou outros radicais no próprio sítio onde foi produzido, podendo inativar ou provocar uma mutação no DNA, inativar proteínas ou iniciar o processo de oxidação lipídica (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). A capacidade desse radical em lesar as células é superior às demais EROs, já que o organismo não dispõe de um sistema enzimático de defesa contra o radical hidroxil (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000).

O oxigênio singlete (O_2^1) é espécie reativa que pode ser gerada pelos fagócitos por indução luminosa, por reações catalisadas por peroxidases, entre outros fatores (EPE, 1991). O O_2^1 difere do oxigênio molecular por não apresentar restrição na transferência de elétrons, o que o torna altamente reativo, causando danos às proteínas devido à oxidação de grupos essenciais de aminoácidos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000).

Oxidação lipídica

A oxidação lipídica, também denominada de autoxidação dos lipídios (Figura 3), é tradicionalmente descrita como uma reação em cadeia constituída por três etapas distintas: iniciação, propagação e terminação (ARAÚJO, 1995; FRANKEL, 1991; GORDON, 1990; WHEATLEY 2000; CHOE e MIN, 2006).

Na etapa de iniciação da autoxidação, as espécies reativas de oxigênio atacam e abstraem o átomo de hidrogênio de um grupamento metil, adjacente à dupla ligação do ácido graxo insaturado, deixando um elétron desemparelhado no carbono, formando um radical alila (R^{\bullet}) ou ocorre a adição de um radical livre à dupla ligação. Vale destacar que o mecanismo de formação do primeiro radical livre ainda não se encontra devidamente esclarecido. Provavelmente, a principal via geradora de radicais livres é a decomposição de hidroperóxidos (ROOH) existentes em alimentos em quantidades-traço, antes mesmo do início da autoxidação (GORDON, 1990). Estas moléculas são geradas a partir da reação da molécula lipídica com o oxigênio, na presença de catalisadores, como luz visível, irradiação, radiação ultravioleta, temperatura e metais, denominados iniciadores. Uma outra via de formação dos hidroperóxidos é a oxidação de ácidos graxos polinsaturados, catalisada por lipoxigenase e outras oxidases, que representam outra forma distinta de iniciação (ARAÚJO, 1995; CHOE; MIN, 2006).

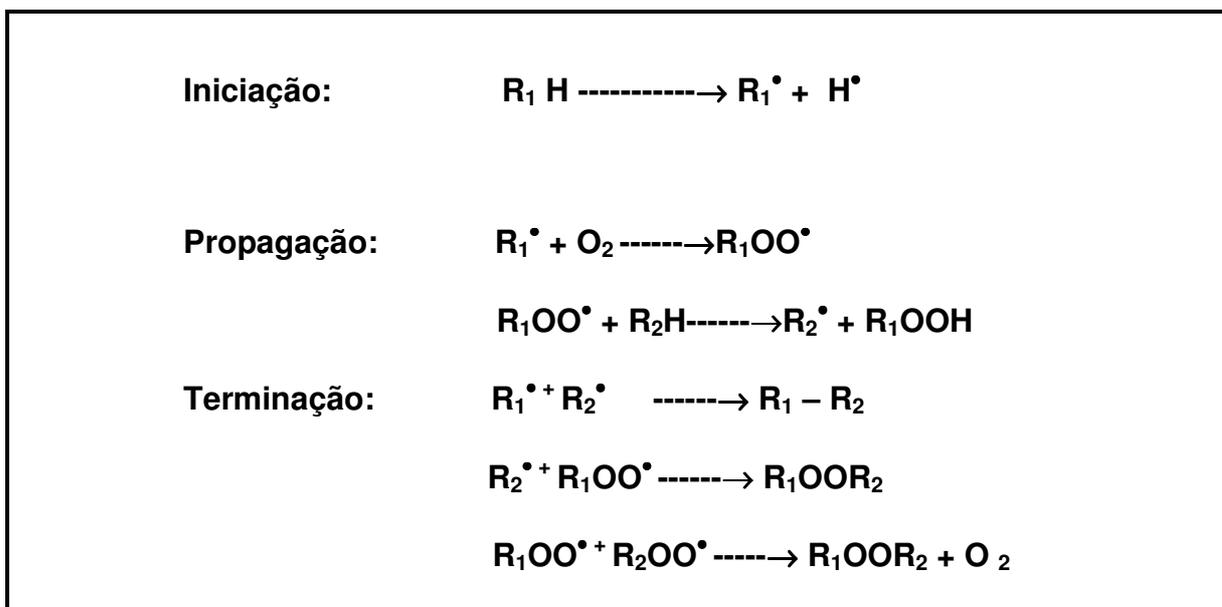


Figura 3: Esquema geral da autoxidação de ácidos graxos polinsaturados (Fonte: CHOE; MIN, 2006).

Na etapa de propagação o radical alila, sofre rearranjo molecular, seguido pela adição do oxigênio triplete, dando origem ao radical peroxil. Este radical passa a abstrair um átomo de hidrogênio do carbono α -metileno de outro ácido graxo insaturado adjacente, produzindo hidroperóxido e outro radical alila que retroalimenta a reação. O radical alila pode, também, remover o átomo de hidrogênio da posição α , próxima à dupla ligação de um ácido graxo insaturado adjacente, com adição do oxigênio na mesma posição do hidrogênio removido, resultando no radical peroxil. Este radical dará continuidade à reação em cadeia, produzindo hidroperóxido (ARAÚJO, 1995; GORDON, 1990; CHOE; MIN, 2006). Desta forma, a degradação oxidativa dos lipídios freqüentemente é descrita como um processo autocatalítico ou autoxidativo.

Em muitos sistemas contendo oxigênio e acúmulo de hidroperóxidos, a reação de propagação conduz à formação do radical peroxil, cuja concentração torna-se maior do que a concentração do radical alila (GORDON, 1990; CHOE; MIN, 2006). Os

hidroperóxidos, por clivagem ou decomposição molecular, formam radicais alcóxil (RO^\bullet) e hidroxil (OH^\bullet) (ARAÚJO, 1995; GORDON, 1990; CHOE; MIN, 2006). Na presença de metais, os hidroperóxidos sofrem uma rápida decomposição, dando origem aos radicais alcóxil e peróxil, que podem efetivamente propagar a reação em cadeia (FRANKEL, 1991; CHOE; MIN, 2006). A duração dessa reação depende de vários fatores, dentre eles o grau de insaturações do ácido graxo e a concentração de oxigênio (SHAHIDI; WANASUNDARA, 1992). A velocidade da peroxidação lipídica é limitada pela etapa de propagação (SPITELLER; SPITELLER, 1998).

Quando ocorre redução da quantidade de ácido graxo insaturado presente no sistema, os radicais formados tendem a reagir sempre que possível, ligando-se uns aos outros, originando compostos estáveis. Assim, a reação de terminação interrompe a etapa de propagação da reação em cadeia (ADEGOKE et al., 1998; CHOE; MIN, 2006). Os produtos finais da oxidação lipídica, como alcoóis, aldeídos, cetonas, ésteres, e outros hidrocarbonetos, além dos produtos de elevado peso molecular resultantes de reações de dimerização e polimerização, são derivados da decomposição dos hidroperóxidos (WHEATLEY, 2000; CHOE; MIN, 2006). A formação de aldeídos e outros compostos voláteis conferem sabor e odor desagradáveis ao alimento, afetando a qualidade do produto.

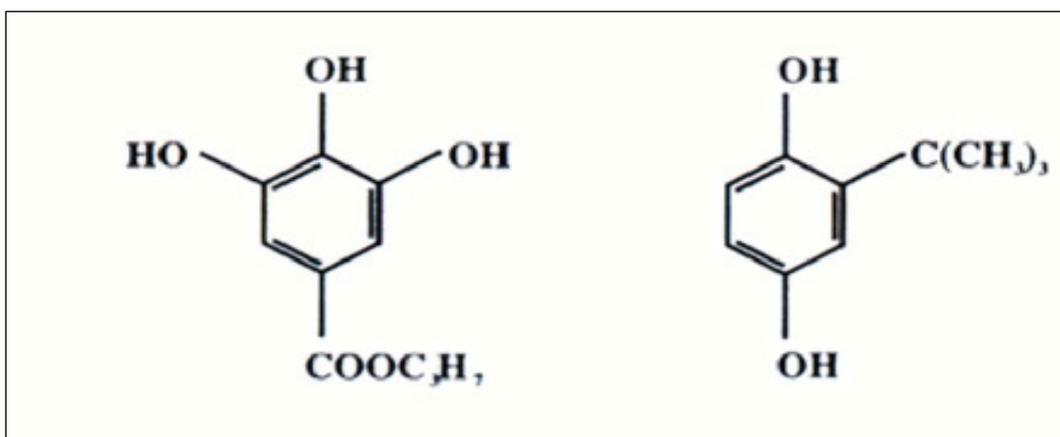
Antioxidantes em alimentos

Os lipídios estão relacionados à qualidade de certos produtos alimentares, particularmente no que diz respeito às propriedades organolépticas, tornando-os mais apetitosos. Além disso, conferem valor nutritivo aos alimentos, uma vez que constitui fonte de energia metabólica, de ácidos graxos essenciais e de vitaminas

lipossolúveis (ST. ANGELO, 1996). Assim estes alimentos, em função da quantidade de lipídios presente, estão susceptíveis a oxidação lipídica, o que impõe o uso de antioxidantes pela indústria, como aditivos alimentares.

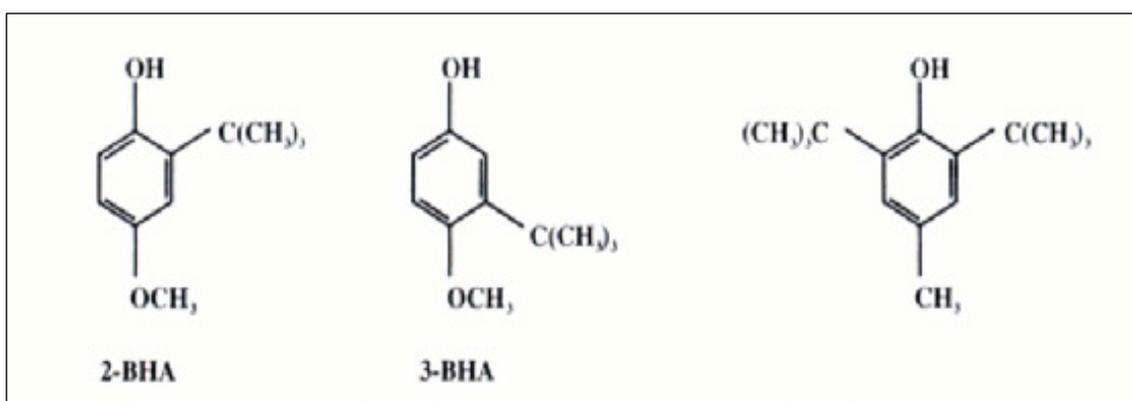
Os antioxidantes são substâncias que podem retardar ou inibir a oxidação de lipídios ou de outras moléculas, evitando o início ou a propagação das reações em cadeia de oxidação. Estes compostos, geralmente apresentam estrutura química aromática e contém pelo menos uma hidroxila, podendo ser sintéticos, como o butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), terc-butil hidroquinona (TBHQ) e o propil galato (PG), largamente utilizados pela indústria de alimentos (Figura 4), ou naturais, substâncias bioativas tais como organosulfurados, fenólicos e terpenos, que fazem parte da constituição de diversos alimentos (FENNEMA, 1993; BRENNAN; PAGLIARINI, 2001; ZHENG; WANG, 2001).

O uso dos antioxidantes sintéticos teve início nos anos 40, ocasião em que estudos demonstraram a eficácia do butil-hidroxianisol (BHA) em retardar a oxidação lipídica em alimentos. Pouco tempo depois, constatou-se que alguns ésteres, alquílicos do ácido gálico, também, possuíam potencial antioxidante (SAHIDI, 1997). Entretanto, experimentos com animais têm demonstrado que os antioxidantes sintéticos apresentam efeitos carcinogênicos, além de promover aumento do peso do fígado e significativa proliferação do retículo endoplasmático (MELO; GUERRA, 2002; YILDRIM et al., 2001; ZHENG; WANG, 2001). O BHT vem sendo relacionado ao desenvolvimento de doenças pulmonares (HOCCMAN, 1988).



Propil Galato (PG)

Terc-butil hidroquinona (TBHQ)



2-BHA

3-BHA

Butil-hidroxi-anisol (BHA)

Butil-hidroxi-tolueno (BHT)

Figura 4 – Estrutura dos antioxidantes sintéticos PG, TBHQ, BHA e BHT

Em decorrência dos efeitos deletérios ao organismo humano que vêm sendo atribuídos aos antioxidantes sintéticos, o seu uso passou a ser regulamentado na maioria dos países. Neste contexto, nos últimos anos, com base em resultados de algumas pesquisas, o “Joint Expert Committee on Food Additives” (JECFA) da “Food and Agriculture Organization” (FAO) e World Health Organization (WHO) têm

alterado a recomendação da ingestão diária aceitável (IDA) destas substâncias (WÜRTZEN, 1990).

No Brasil, a Resolução nº 04/88 – CNS/MS, de 24 de novembro de 1998 (BRASIL,1998), regulamenta a utilização de antioxidantes em creme vegetal, margarinas, óleos e gorduras. Na Tabela 1 encontram-se os antioxidantes sintéticos, e os limites máximos de adição, estabelecidos pela citada resolução. Esses compostos e alguns de seus derivados embora sejam eficazes na prevenção da oxidação lipídica, em muitos países, frente a sua toxicidade, são de uso proibido em alimentos (SHAHIDI et al., 1992).

Frente aos efeitos adversos à saúde atribuídos aos antioxidantes sintéticos, ênfase tem sido dada à busca por antioxidantes provenientes de fontes naturais, que possam atuar sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e limitar o uso dos antioxidantes sintéticos (DURAN; PADILLA, 1993). Neste sentido, os primeiros estudos sobre antioxidantes naturais ocorreram na década de 50 com Chipault et al., (1952). Estes autores investigaram a atividade antioxidante de várias especiarias, ingredientes utilizados em alimentos desde os primórdios da história, não somente para melhorar ou ressaltar as características sensoriais dos alimentos, mas também, para preservá-los. Desde então, diversas pesquisas sobre a ação antioxidante de compostos naturais, no âmbito nacional e internacional, com incremento considerável a partir dos anos 80, vêm sendo desenvolvidas em virtude, principalmente, da busca de um estilo de vida mais saudável.

Tabela 1. Limite máximo de antioxidantes estabelecidos pela legislação brasileira Resolução 04/88 –CNS/MS.

Tipo de aditivo	Composto antioxidante	Alimentos a ser adicionados	Limite máximo * (g/100g/ g/100mL)
Antioxidante	Butil hidroxianisol (BHA)	Creme vegetal	0,02
		Margarinas	0,02
		Óleos e gorduras	0,02
Antioxidante	Butil hidroxitolueno (BHT)	Creme vegetal	0,02
		Margarinas	0,02
		Óleos e gorduras	0,01
Antioxidante	Terc-butil- hidroquinona (TBHQ)	Óleos e gorduras	0,02
Antioxidante	Galato de propila (PG)	Creme vegetal	0,01
Antioxidante	OG (galato de octila)	Margarinas	0,01
Antioxidante	DG (galato de dodecila)	Óleos e gorduras	0,01
Antioxidante	Tocoferóis	Margarinas óleo e gorduras	0,03
sinérgico	Ácido cítrico	Margarinas Óleo e gordura	q.s.
sinérgico	Ácido fósfórico	Gorduras e compostos gordurosos	0,01
		Margarinas	0,01
sinérgico	Citrato de monoisopropila	Margarina	0,01
		Óleo e gorduras	0,01
sinérgico	Palmitato de ascorbila	Margarina	0,01
	Estearato de ascorbila	Óleo e gorduras	0,05

q.s.=quantidade suficiente *Será tolerada a mistura na dose de 0,02g/100g no total, Isto é, a soma de dois aditivos não pode ultrapassar seu valor individual (Decreto nº55871, de 26/03/65 - BRASIL, 1965). (FONTE: SALINAS, 2002).

Essas pesquisas vêm constatando a presença em vegetais, de numerosos fitoquímicos, a exemplo dos compostos nitrogenados, carotenóides, ácido ascórbico e tocoferóis, além dos compostos fenólicos, muitos dos quais apresentam significativa capacidade antioxidante. Estes fitoquímicos no organismo humano atuam reduzindo os danos oxidativos provocados pelos radicais livres os quais estão associados a muitas doenças, incluindo aterosclerose, doenças cardiovasculares, catarata, diabetes, asma, hepatite, lesão no fígado, artrite, envelhecimento, doenças de imunodeficiência e câncer em seres humanos (BIRCH et al., 2001; SLUIS et al., 2001; TOMÁS-BARBERÁN et al., 2001; VINSON et al., 2001; ZHENG; WANG, 2001; YILDIRIM; MAVI; KARA, 2001; LEE; MITCHELL; SHIBAMOTO, 2000; MIDDLETON; KANDASWAMY; THEOHARIDES, 2000; PIETTA; SIMONETTI; MAURI, 1998, WATANABE, 1998).

Dentre os vários estudos sobre compostos naturais com ação antioxidante, muitos deles estão centralizados nos compostos fenólicos os quais agem como aceptores de radicais livres, interrompendo a reação em cadeia, além de atuarem nos processos oxidativos catalisados por metais, tanto *in vitro*, como *in vivo* (MANCINI FILHO et al., 1998; SCALBERT; WILLIAMSON, 2000).

Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos apresentam em sua estrutura um anel aromático com uma ou mais hidroxila, que lhes confere propriedade antioxidante. Este grupo de compostos engloba tanto moléculas simples como moléculas com alto grau de polimerização, que se encontram nos vegetais na forma livre ou ligada a açúcares (glicosídeos) e proteínas (CROFT, 1998; BRAVO, 1998). Atualmente, são

conhecidos mais de 8000 compostos pertencentes a este grupo de fitoquímicos os quais podem ser encontrados em diversas partes das plantas, como nas sementes, frutos, folhas, casca, caule e também na raiz (DREOSTI, 2000).

Dentre os compostos fenólicos, destacam-se os flavonóides e os ácidos fenólicos como os mais comuns antioxidantes fenólicos de fonte natural. Os flavonóides possuem uma estrutura básica formada por C6-C3-C6, em que as duas partes da molécula com seis carbonos são anéis aromáticos, denominados anel A e B, unidos por três carbonos que formam o anel γ pirano, denominado anel C (Figura 5). Integram esta classe, as antocianidinas, flavonas, flavonóis, catequinas e taninos, compostos largamente distribuídos na natureza (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

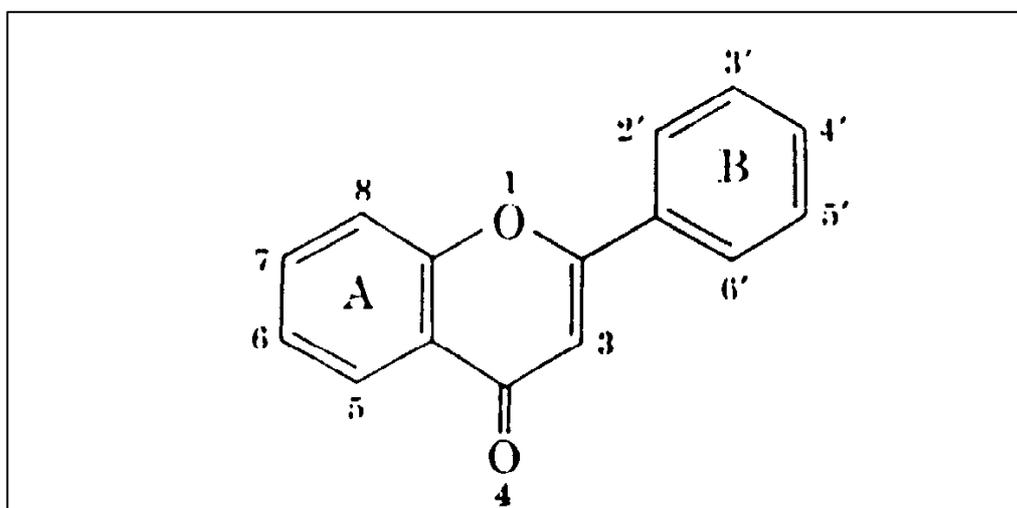


Figura 5. Estrutura química dos flavonóides

As várias classes de flavonóides diferem entre si, pelo número e posição das hidroxilas e metoxilas presentes no anel C, enquanto que compostos individuais dentro de cada classe são diferenciados, principalmente, pelo número e posição de hidroxilas e metoxilas presentes nos dois anéis aromáticos (PIETTA, 2000).

Estes fitoquímicos atuam como antioxidantes primários, interrompendo a cadeia da reação através da doação de elétrons ou de hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis. Dentre estes compostos, os flavonóis em especial, atuam, também como antioxidante secundário, retardando a etapa de iniciação da autoxidação através da complexação com metais (SHI; NIKI, 1998; MELO; GUERRA, 2002; PIETTA, 2000).

Os ácidos fenólicos estão divididos em três grupos. No primeiro encontram-se os ácidos hidroxibenzóicos, os mais simples encontrados na natureza, constituídos por sete átomos de carbono (C6-C1), em que a molécula com 6 carbonos é um anel aromático que tem ligado um grupo carboxílico (Figura 6). Dentre os compostos deste grupo, destacam-se os ácidos protocatecuíco, vanílico, siríngico, gentísico, salicílico e gálico (ESCARPA; GONZÁLES, 2001; MACHEIX; FLEURIET; BILLOT, 1990).

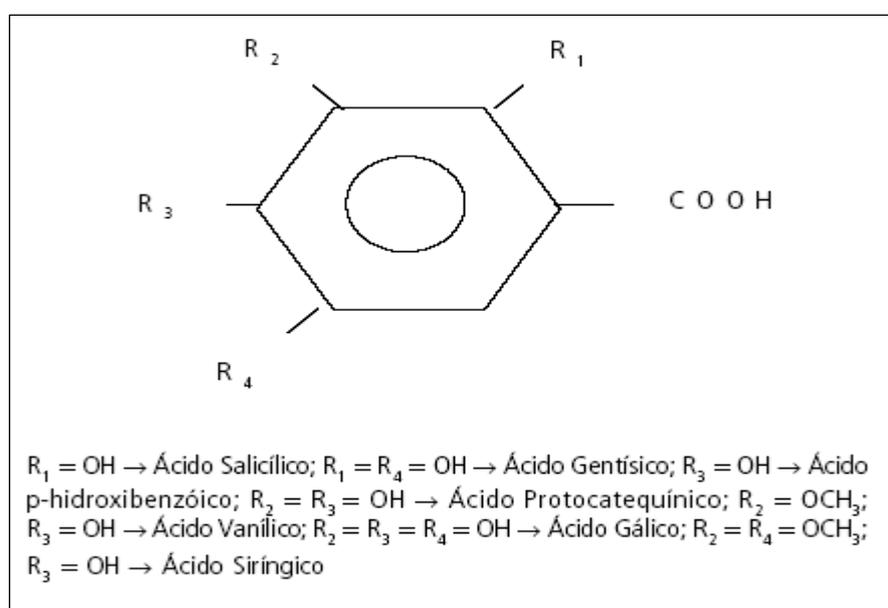


Figura 6. Estrutura química dos ácidos hidroxibenzóicos.

No segundo grupo encontram-se os derivados do ácido hidroxicinâmico, compostos fenólicos de ocorrência natural, constituídos por nove átomos de carbono (C6-C3),

em que seis dos carbonos formam um anel aromático no qual encontra-se ligada uma cadeia carbônica constituída por três carbonos (Figura 7). Os ácidos *p*-cumárico, ferúlico, caféico e sináptico são os hidroxicinâmicos mais comuns na natureza. Estes ácidos estão presentes nos vegetais, usualmente, na forma de ésteres, a exemplo do ácido clorogênico, éster do ácido quínico, constituído pelo ácido quínico esterificado ao ácido caféico. Também são encontrados na forma de glicosídeos ou ligados a proteínas e a outros polímeros da parede celular e, raramente, como ácidos livres (DURÁN; PADILLA, 1993).

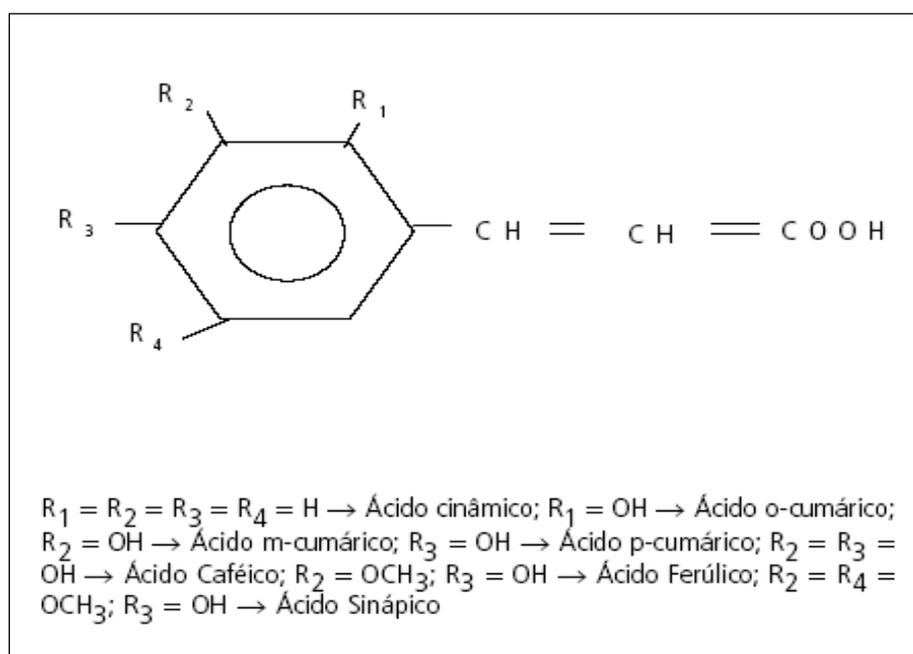


Figura 7. Estrutura química dos principais ácidos hidroxicinâmicos

Os ácidos hidroxicinâmicos, a exemplo do ácido sináptico, ferúlico e *p*-cumárico são antioxidantes mais ativos do que os derivados do ácido hidroxibenzóico, tais como ácido procatecuíco, siríngico e vanílico. A maior ação antioxidante exibida pelos derivados do ácido hidroxicinâmico se deve a presença da dupla ligação na cadeia lateral da molécula ($-HC=CH-COOH$), que participa da estabilização do radical por

ressonância de deslocamento do elétron desemparelhado (WANASUNDARA; AMAROWICZ; SHAHIDI, 1994).

O terceiro grupo dos ácidos fenólicos é constituído pelas cumarinas, compostos derivados do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral do ácido o-cumárico (Figura 8). Estes compostos estão presentes, na forma glicosídica e, em maioria, na forma livre, em vegetais, especialmente da família Apiaceae e Rutaceae, onde se encontram em abundância (MADARI; JACOBS, 2004).

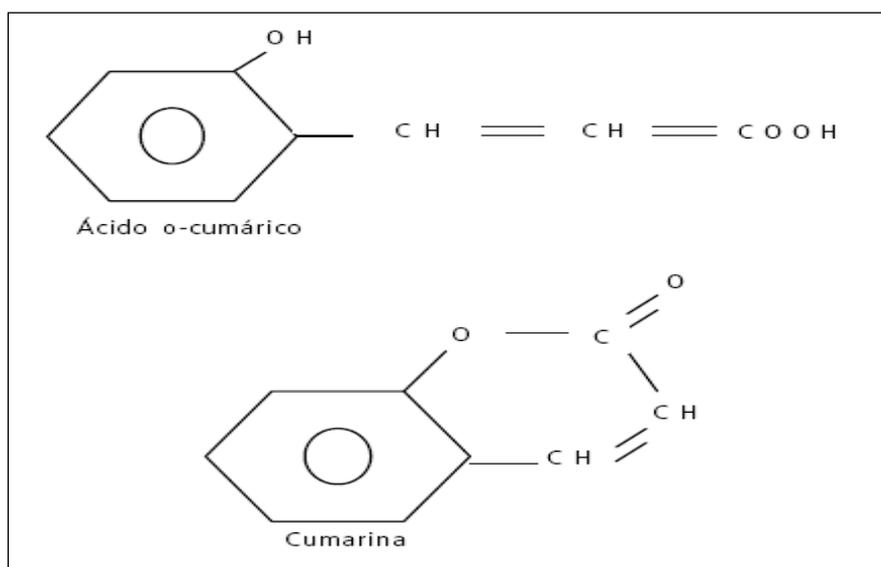


Figura 8. Estrutura química das cumarinas

Muitas atividades farmacológicas foram atribuídas as cumarinas, tais como hipotensora (HUANG et al., 1992), antiinflamatória e atividade antitumoral (PAYA, et al., 1992). Há relatos de interações de uma série de cumarinas com as seguintes espécies reativas de oxigênio: seqüestro de superóxidos, radicais hidroxila e ácido hipocloroso (PAYA et al., 1992). Por vários anos foi empregada pela indústria alimentícia, no entanto, devido à sua toxicidade, foi praticamente banida do mercado. Apesar disso, extratos hidroalcoólicos de *Torresea cearensis*, *Justicia*

pectoralis, *Eclipta alba*, *Pterodon polygaliflorus* e *Hybanthus ipecacuanha*, ricos em cumarina, são largamente empregadas pela medicina popular do nordeste do país (LEAL et al., 2000).

Os compostos fenólicos podem atuar como doadores de hidrogênio ao radical livre, dando origem a um radical estável, que por ressonância, não tem a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas; ou como agentes quelantes complexando íons metálicos, principalmente cobre e ferro, que catalisam a oxidação lipídica (OU et al. 2002; RAMALHO; JORGE, 2006; SHAHIDI et al., 1992).

Ação antioxidante

A atividade antioxidante de um composto proveniente de uma fonte natural é influenciada por diversos fatores, tais como: concentração do fitoquímico antioxidante no vegetal que, por sua vez, depende das condições edafoclimáticas do cultivo; o solvente e a técnica de extração empregada, a forma do vegetal testado, se em pó, em extrato ou fração isolada e o substrato lipídico utilizado no ensaio (FRANKEL, 1991; MADSEN; BERTELSEN, 1995).

No que se refere à solubilidade do composto em um determinado solvente, evidencia-se que é uma característica peculiar do fitoquímico, o que explica a inexistência de um procedimento universal e aponta para a necessidade de seleção criteriosa do método de extração para cada fonte natural de antioxidante. Neste sentido, considerando a diversidade de polifenóis existente em vegetais, com polaridades distintas, a extração eficiente destes constituintes requer o uso de solventes com diferentes polaridades.

Freqüentemente são usadas soluções aquosas de etanol, metanol e acetona, entre outras, em diferentes concentrações, cuja eficácia dependerá da polaridade dos polifenóis presentes na amostra, bem como, do grau de polimerização e da interação com os outros constituintes (NACZK; SHAHIDI, 2004). Além disso, recomenda-se a combinação de pelo menos dois ciclos de extração, de modo a garantir a eficácia do processo, permitindo extrair compostos com diferentes estruturas químicas (PÉREZ-JIMÉNEZ, et al., 2008).

A estrutura molecular dos polifenóis e, mais especificamente, a posição e o grau de hidroxilação do anel aromático têm influência direta sobre a atividade antioxidante destes compostos, bem como sobre o seu mecanismo de ação (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992; OU et al. 2002). A hidroxila existente na posição *orto* com o grupo metoxila, doador de elétrons, aumenta a estabilidade do radical fenoxil e a eficiência antioxidante do composto (CUVELIER; RICHARD; BERSET, 1992). Uma segunda hidroxila na posição *orto* ou *para*, também aumenta a atividade antioxidante. O ácido caféico, que apresenta essa característica, possui uma atividade antioxidante maior do que o ácido ferúlico (CHEN; HO, 1997). Vale destacar que a ação seqüestrante do composto parece estar relacionada aos grupos hidroxil localizados na posição *para* no anel aromático.

Frente à diversidade da estrutura química dos compostos antioxidantes e de seus mecanismos de ação, vários ensaios têm sido desenvolvidos para avaliar a capacidade antioxidante de diferentes amostras. Alguns deles determinam a habilidade dos antioxidantes para seqüestrar radicais livres gerados no meio da reação, outros, utilizando lipídeos como substrato, avaliam a eficiência dos antioxidantes em inibir a peroxidação lipídica através da quantificação dos produtos

da reação, como dienos conjugados e hidroperóxidos, bem como dos produtos de decomposição da peroxidação lipídica (FRANKEL; MEYER, 2000; ANTOLOVICH et al., 2002; GIADA; MANCINI-FILHO, 2004). Este fato impõe a necessidade de avaliar a capacidade antioxidante por vários ensaios, com mecanismo de ação diferente.

Dentre os métodos que determina a habilidade dos antioxidantes para seqüestrar radicais, destacam-se aqueles que envolvem um radical cromóforo, simulando as espécies reativas de oxigênio, dos quais os mais utilizados são o DPPH[•] (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) e o ABTS^{+•} [2,2'-azino-bis(3-etil-benzolina-6-sulfonado)]. Estes métodos, por serem práticos, rápidos e sensíveis, são amplamente empregados (ARNAO, 2000). O método que utiliza o DPPH[•], radical livre estável, de cor violeta e com banda de absorção em solução metanólica centrada em 517 nm, foi inicialmente proposto por Blois (1958). Neste ensaio, o antioxidante reage com o radical DPPH[•], convertendo-o em sua forma reduzida. Nesta reação, a solução metanólica de DPPH[•], inicialmente de coloração violeta, torna-se descolorida e o grau desta descoloração indica a habilidade do antioxidante em seqüestrar o radical livre (MOLYNEUX, 2004). No método que usa o ABTS^{+•}, radical cromóforo monocatiônico gerado pela oxidação do ABTS^{+•} [2,2'-azino-bis(3-etil-benzolina-6-sulfonado)] com persulfato de potássio, ocorre a abstração do hidrogênio, doador de elétrons, da substância antioxidante pelo radical, promovendo a supressão da cor da solução. O grau deste descoloramento é usado para avaliar a atividade oxidante (RE, et al., 1999; SILVA, et al., 1999).

Dentre os ensaios que utilizam lipídios como substrato destaca-se o do tiocianato férrico, índice de peróxido e dienos conjugados. O método tiocianato férrico é

utilizado para medir a quantidade de peróxido gerado durante a oxidação de uma solução de ácido linoléico incubada sob aquecimento (50°C). Os peróxidos formados, reagem com Fe^{2+} dando origem ao Fe^{3+} que complexa com íons tiocianato (SCN^-), tornando a solução avermelhada. A intensidade da cor vermelha é monitorada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 500 nm (LIU; YAO, 2007).

O índice de peróxido é o método mais comum para determinar o estado oxidativo de um óleo. Entretanto, seu uso se limita aos estágios iniciais da oxidação, uma vez que quantifica produtos primários da reação (ROSSEL, 1983 citado por TELLES, 2006). A quantificação dos peróxidos gerados tem como base duas de suas propriedades: a) liberar iodo da solução de iodeto de potássio, b) oxidar íons Fe^{2+} a Fe^{3+} . O índice de peróxido é geralmente expresso em termos de miliequivalentes de peróxidos por Kilograma do óleo (AOCS, 2006). As principais fontes de erro do método iodométrico são a absorção de I_2 pelas duplas ligações e a liberação de I_2 do iodeto de potássio (KI) pelo O_2 atmosférico. Além disso, os produtos medidos são muito instáveis e o método é bastante sensível a temperatura ambiente (ANTOLOVICH et al., 2002).

A medida da percentagem de ácidos dienóicos conjugados é um método alternativo para monitorar a oxidação de óleos, bastante usada na avaliação da oxidação lipídica (FARIA; ESPINOZA-ATENCIA, 1994). A formação de dienos é proporcional ao ganho de oxigênio e à formação de peróxidos durante os estágios iniciais de oxidação de ácidos graxos poliinsaturados (LUGASI et al., 1995). Nesta etapa, o aumento de peróxidos ocorre paralelo ao incremento na absorção da luz ultra violeta

(UV) pelos dienos conjugados (HILST, 1999). Desta forma, apresenta correlação satisfatória com índice de peróxidos (NAWAR, 1985).

Uso de resíduos agroindustriais na obtenção de antioxidantes naturais

Resíduos agroindustriais resultantes do processamento de vegetais são atraentes fontes de antioxidantes naturais (MOURE et al., 2001). Estes subprodutos da indústria de alimentos, ainda, contêm quantidade relevante de compostos fenólicos e apresentam bom potencial antioxidante (LAPORNIK et al, 2005), fato constatado por vários estudos. Gorinstein, et al., (2001) evidenciaram que cascas de limões, laranjas, e toranjas exibiam teor de fenólicos totais 15% superiores ao dos frutos. Do mesmo modo, Li et al. (2005) relataram quantidade mais elevada de fenólicos em cascas de romã ($249,4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), em comparação com a polpa desse fruto ($24,4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$). O teor de fenólicos totais ($232 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, em base seca) da polpa comestíveis de banana (*Musa cavendish*) corresponde a cerca de 25% da quantidade desses fitoquímicos presentes na casca (SOMEYA, et al , 2002). Soong e Barlow (2004) relataram que os fenólicos totais de sementes de várias espécies de frutos, como manga, “longan”, abacate, e jaca foram maiores do que os da polpa.

Quanto à ação antioxidante de resíduos agroindustriais, vários autores fazem referência ao potencial antioxidante deste material. Extratos obtidos a partir de sementes de uvas exibiram 75 a 90% de atividade antioxidante (JAYAPRAKASHA, et al., 2001). O resíduo de uva constitui uma importante fonte de polifenóis, cujos compostos majoritários em extratos de cascas de uva são as antocianinas, enquanto que os dos extratos das sementes são procianidinas (SHRIKHANDE, 2000). Atividade antioxidante *in vivo* de extrato da semente de uva foi constatado por Sato

(2001). Extrato metanólico de resíduo agroindustrial de acerola (pele) exibiu uma forte ação antiradical frente ao DPPH e ao anion superóxido (OLIVEIRA, et al., 2009).

Vale ressaltar que o volume de resíduo produzido pela agroindústria é bastante elevado. Este material sem ter utilização comercial, muitas vezes transforma-se em uma fonte de poluição ambiental. No caso das indústrias brasileiras processadoras de frutas tropicais, destaca-se aquelas, geralmente concentradas na Região Nordeste do país, que processam acerola para obtenção de suco e polpa. Cerca de 34,40 mil toneladas de acerolas são processadas por ano, montante equivalente a 7,16% do total de frutas processadas, produzindo 18 mil toneladas de suco e polpa desta fruta (ASTN e APEX, 2003).

A aceroleira (*Malpighia emarginata* DC), planta originária da América Central e Norte da América do Sul, teve sua difusão mundial iniciada pelos espanhóis durante o período de colonização. Na região Nordeste brasileira foi introduzida em 1955, no Estado de Pernambuco através da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), a partir de sementes trazidas de Porto Rico (MARINO NETTO, 1986). Nos anos 80 a UFRPE patrocinou e desenvolveu uma campanha de conscientização sobre os valores nutricionais da acerola e suas possibilidades de uso. É provável que a maior parte das mudas plantadas no Brasil, tenha sido gerada a partir daquelas primeiras matrizes (CHAVES, et al., 2004).

Em virtude da excelente adaptação ao solo e ao clima, o cultivo expandiu-se por todo o país, tornando o Brasil o maior produtor e consumidor de acerola do mundo (SOUZA et al., 1999; ARAÚJO; MINAMI, 1994). A principal região brasileira

produtora de acerola é a Nordeste, seguida da região Sudeste com cerca de 70% e 15% da produção brasileira, respectivamente (IBGE, 2000).

Os frutos da aceroleira, drupa de superfície lisa ou dividida em três gomos, com tamanho de 3 à 6 cm de diâmetro, possui polpa carnosa e succulenta (Figura 9 a). Estes frutos, quando maduros, apresentam coloração externa variando do alaranjado ao vermelho intenso (GOMES, et al., 2002). Devido a sua coloração atrativa, semelhante à cereja européia foi denominada de “West Indian Cherry” (COUCEIRO, 1985 apud SÃO JOSÉ; ALVES, 1995). Esta fruta delicada por possuir tecido protetor muito fino, amadurece rapidamente. Conhecida como “Cereja-das-Antilhas” adquiriu importância mundial devido ao seu alto teor de vitamina C (GONZAGA NETO; SOARES, 1994). Aliado a isto, apresenta potencial para industrialização, podendo ser consumida sob forma de suco, compota, geléia, além de ser utilizada no enriquecimento de sucos e de alimentos dietéticos (CARPENTIERI-PÍPOLO et al., 2002).

Em extrato metanólico de resíduo de acerola (pele) Oliveira et al. (2009), evidenciaram a presença de significativa quantidade de compostos fenólicos e forte capacidade antioxidante, ratificando a afirmativa de que algumas frutas podem potencialmente conter maior teor de fitoquímicos antioxidantes nas sementes e peles do que na polpa dos frutos (GUO et al., 2003). Esta constatação motivou a implementação deste estudo, objetivando investigar a capacidade antioxidante deste material com vistas à utilização de seu potencial como inibidor da oxidação lipídica.

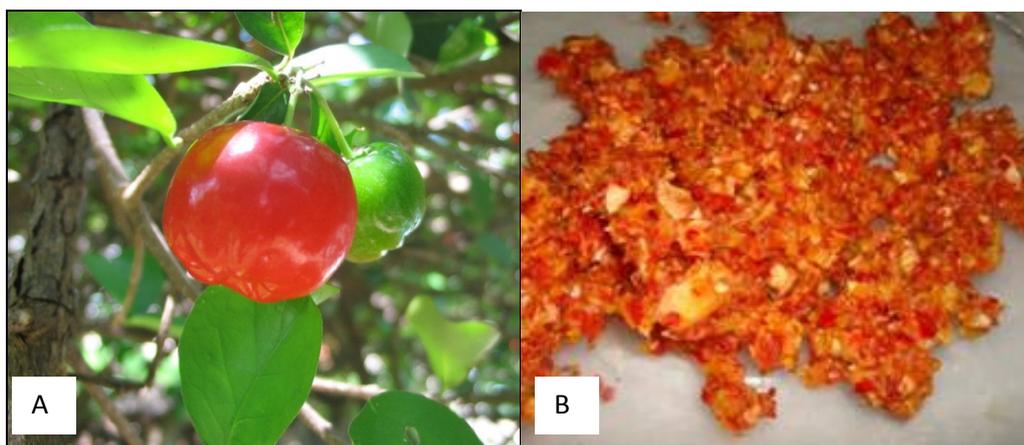


Figura 9 – (a) Fruto maduro da aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.),
(b) Resíduos fresco de acerolas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, D.S.P.; Estresse oxidativo e alimentação. In: TIRAPEGUI J, coord. **Nutrição: fundamentos e aspectos atuais**. São Paulo: Atheneu. 2000. p.179- 200

ADEGOKE, G.O.; VIJAY KUMAR, M.; GOPALA KRISHNA, A.G.; VARADARAJ, M.C.; SAMBAIAH, K.; LOKESH, B.R. Antioxidants and lipid oxidation in food – a critical appraisal. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore. v.35, n.4, p.283-298, 1998.

ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P. D.; PATSALIDES, E.; McDonald, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. **Analyst**, London v. 127, p. 183-198, 2002.

AJILA, C. M., BHAT, S. G., PRASADA RAO, U. J. S.; Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties. **Food Chemistry**, London 102, 1006–1011.2007.

AOCS- **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society**. Washington, 2006.

ARAÚJO, P. S. R.; MINAMI, R.; **Acerola**. Campinas: Fundação Cargil, 1994..

SALINAS R.D. **Alimentos e Nutrição: Introdução à bromatologia**. 3ª ed. São Paulo: Artmed;, 2002.81p.

ARAÚJO, J.M.A.; **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1995. 335p.

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

ASTN (Associação das Indústrias Processadoras de Frutos Tropicais); APEX (Programa Setorial Integrado de Promoção de Exportações de Sucos Tropicais). Brasília, 2001. Disponível em: <<http://webm5.uol.com.br/cgi-bin/webmail.exe/messages>>. Acesso em: 14 dez. 2003.

AUGUSTO, O. **Radicais livres: bons, maus e naturais**. São Paulo: oficina de textos, 2006. p.115 .

BAST, A.; ET AL. Oxidants and antioxidants: State of the art. **American Journal Medicine**, v.91: p.2-13. 1991

BARTHOLO, G. F. Perdas e qualidade preocupam. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.17, n.179, p.3. 1994.

BIRCH, A.E., FENNER, G.P.; WATKINS, R.; BOYD, L.C. Antioxidant proprieties of evening primrose seed extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Chicago, v.49, p. 4502-4507, 2001.

BOBBIO, P. A. ; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos**. 2.ed. São Paulo : Varela, 1992.p.

BOUHAMIDI, R.; PRÉVOST, V.; NOUVELOT, A. High protection by grape seed proanthocyanidins (GSPC) of polyunsaturated fatty acids against UV-C induced peroxidation. **Comptes rendus de l'Académie des sciences**. Montrouge, v. 321, p. 31-38, 1998

BOVERIS, A.; Biochemistry of free radicals: from electrons to tissues. **Medicina**. Buenos Aires, v. 58, p. 350-356, 1998.

BLOIS, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v. 181, p.1199-1200, 1958.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**. New york, v.56, n.1, p. 317-333,1998.

BRENNA, O.V.; PAGLIARINI, E. Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Chicago, v.49, p. 4841-4844, 2001.

CARPENTIERI-PÍPOLO, V.; PRETE, C.;G. A.; GONZALEZ, M. G. N.; POPPER, I. O.; Novas cultivares de acerola (*malpighia emarginata* dc):uel 3 – dominga, uel 4 – lígia e uel 5 – natália1. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal , v. 24, n. 1, p. 124-126, 2002.

CHAVES, M.C.V.;GOUVEIA,J.P.G.; ALMEIDA, F. A.; LEITE,J. C. A.; SILVA, F.L. H.; Caracterização físico-química do suco da acerola. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Vol.4, n. 2. 2004.

CHEN, J.H.; HO, C.T. Antioxidant activities of acid caffeic and its related hydroxycinnamic acid compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Chicago, v. 45, n. 7, p. 2374-2378, 1997.

CHEESEMAN, K.H.; SLATTER, T.F.; **Radicais livres em Medicina**. Rio de Janeiro: Interlivros, 1996.

CHIPAULT, J.R.; MIZUN, G.H.; HAWKINS, J.M.; LUNDBERG, W.O. The antioxidant properties of natural spices. **Food Research**. Chicago, v. 17, p. 46-55, 1952.

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

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

CUVELIER, M.E.; RICHARD, H.; BERSET, C. Comparison of antioxidative activity of some acid-phenols; structure-activity relationship. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**. Tokyo, v. 56, n. 2, p. 324-235, 1992.

DEGÁSPARI, C. H.; **Propriedades antioxidantes e antimicrobianas dos frutos da aroeira (*schinus terebenthifolius raddi*)**. 2004. Tese de Doutorado em Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Paraná. Curitiba.

DEMAJORIVIC, J.; Da política tradicional de tratamento do lixo à política de gestão de resíduos sólidos: as novas prioridades. **Revista de Adm. De Empresas**, São Paulo, v. 35, n.3, p.88-93, 1995.

DURÁN, R.M.;PADILLA, B. Actividad antioxidante delos compuestos fenólicos. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v.44, n.2, p.101-106, 1993.

DREOSTI J.E.; Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. **Nutrition**, New York,v.16, n.7/8,p. 692-694,2000

EPE, B. Genotoxicity of singlet oxygen. **Chemico-Biological Interactions**, v. 80, p. 239-260, 1991.

ESCARPA, A.; GONZÁLES, M.C. An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, Cleveland, v. 31, n. 2, p. 57-139, 2001.

FARIA, J. A. F. e ESPINOZA-ATENCIA, E. J. Fotoxidação de óleos comestíveis em embalagens plásticas transparentes. **Óleos e Grãos**, vol. 19, pg. 44–51, 1994.

FRANKEL, E.N. Recent advances in lipid oxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, London, v.54, p.495-511, 1991.

FRANKEL, E.N.; MEYER, A. S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.80, n.13, p. 1925-1941, 2000.

FENNEMA, O.R.; **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1993.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S.; Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Ass. Med Brasil**, v. 43, n. 1, p.61-68, 1997.

FRIDOVICH, I.; Oxygen toxicity: a radical explanation. **Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 201, p. 1203-1209, 1998.

FOOD AGRICULTURAL ORGANIZATION – FAO (2006). **Statistical** – database. Disponível em: (www.apps.fao.org). Acesso em 28.jan.2008.

GIADA, M.L.R.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante in vitro de compostos fenólicos de alimentos. Nutrire: **Revista da Sociedade Brasileira de Alimentos e Nutrição**, v. 26, p.91-107, 2004.

GIL, M.A.; TOMÁS-BARBERÁN,F.A; HESS-PIERCE,B.;KADER, A.A; Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 50, p. 4976-4982, 2002

GOMES, P. M. de A., FIGUEIRÊDO, R.M.F., QUEIROZ, A.J. de M. Caracterização e isotermas de adsorção de umidade da polpa de acerola em pó. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.4, n.2, p.157-165, 2002.

GONZAGA NETO, L.; SOARES, J.M.; **Acerola para exportação**: aspecto técnico da produção. Brasil: EMBRAPA – PI, 1994, 43p.

GUO, C.; YANG, J.; WEI, J.; LI, Y.; XU, J.; JIANG, Y. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. **Nutrition Research**, Tarryton, v.23, p.1719-1726, 2003.

GORDON, M.H.; The mechanism of antioxidant action in vitro. In: HUDSON, B.J.F. **Food antioxidants**. London: Elsevier Applied Science, 1990. 316p., p.1-18.

GORINSTEIN, S., MARTI'N-BELLOSO, O., PARK, Y.-S., HARUENKIT, R., LOJEK, A., CÍZ, M.,. Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. **Food Chemistry**, London, 74, p.309–315. 2001

GUTTERIDGE J.M.C.; HALLIWELL B.; **Antioxidants in nutrition, heath and disease**. New York: Oxford University, 1994.

GUTTERIDGE, J.M.C.; Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v. 41, n.12, p.1819-1828, 1995.

HALLIWELL, B.; Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, New York, v.52, n.8, p.253-265, 1994.

HALLIWELL, B.; GUTTERDGE, J.M.C. The chemistry of free radicals and, related `reactive species'. In: **Free radicals in biology and medicine**. 3. ed. Oxford: Clarenton Press; p.36-104,1999.

HALLIWELL, B.; Antioxidants and human disease: a general introduction. **Nutrition Reviews**, New York n.55, p.44-52,1997.

HALLIWELL B.; Oxidative stress, nutrition and health: experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. **Free Radical Research**.,London,v. 25,p. 57-74, 1996.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.C.; Free radicals in biology and Medicine. 3.ed. Oxford, 2000.

HOCMAN, G.; Chemoprevention of cancer: phenolic antioxidants (BHT, BHA). **International Journal Biochemistry**, v. 20, n.7, p. 639-651, 1988.

HILST, M. A. S. Avaliação da estabilidade de óleo de soja acondicionado em latas e na embalagem Tetra Brik.1999.101f. Campinas, 101p. **Dissertação** (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, 1999.

JAYAPRAKASHA, G.K.;SING,R.P; SAKARIAH, K.K.;Antioxidant activity of grape seed (Vitis Vinifera) extratics on perxidaton models in vitro. **Food Chemistry**.London 73. p.285-290.2001

HUANG, H.-C., LEE, C.R.; WENG, Y.I.; LEE, M.; LEE, Y.T.; Vasodilator effect of Scoparone (6,7–dimethoxycoumarin) from a Chinese herb. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdan v.218, 123–128.1992

- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário**, 2000. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em 25 novembro 2008.
- LAPORNIK, B.; PROSEK, M.; WONDRA, A.G.; Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. **Journal of Food Engineering**. N.71,p.214–222,2005.
- LEE, J.; KOO, N.; MIN, D.B.; Reactive oxygen species, aging, and antioxidant nutraceuticals. **Food Science Food**. v. 3, p.21-33, 2004.
- LEAL, L.K.A.M.; FERREIRA, A.A.G.; BEZERRA, G.A.; MATOS, F.J.A.; VIANA, G.S.B. Antinociceptive, anti-inflammatory and bronchodilator activities of Brazilian medicinal plants containing coumarin: a comparative study. **Journal of Ethopharmacol.**,v. 70.p. 151-159.2000.
- LEE, K. G.; MITCHELL, A. E.; SHIBAMOTO, T.; Determination of antioxidant properties of aroma extracts from various beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.48, p.4817–4820.2000.
- LI, Y., GUO, C., YANG, J., WEI, J., XU, J.; CHENG, S. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. **Food Chemistry**.v.96, p.254-260. 2005.
- LIU,Q.; YAO, H. Antioxidant activities of barley seeds extracts. **Food Chemistry**. London. v.102 , p.732–737,2007

LOUSADA, J. E. Jr.; COSTA, J. M. C.; NEIVA, J. M. M; RODRIGUEZ, N. M. Caracterização físico-química de subprodutos obtidos do processamento de frutas tropicais visando seu aproveitamento na alimentação animal. **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.1, p.70-76, 2006.

LUGASI, A. HÓVARI, J.DWORS CHAK, E. Effect of UV irradiation on lipid peroxidation in edible fats. **Acta Alimentaria**. Budapeste, v. 24, n.3, p. 269-276, 1995.

MACHEIX, J.J.; FLEURIET, A.; BILLOT, J. **Fruit phenolics**. Boca Raton: CRC Press, 1990. 378 p.

MADARI, H.; JACOBS, R.S.; An analysis of cytotoxic botanical formulations used in the traditional medicine of ancient Persia as abortifacients. **Journal of Natural Products**, Pittsburgh, v. 67, n. 8, p. 1204-1210, Aug. 2004.

MADSEN, H.L.; BERTELSEN, G. Spices as antioxidants. **Trends in Food Science and Technology**. Cambridge, v. 6, n. 8, p. 271-277, 1995.

MANCINI FILHO, J.; VAN-KOIJ, A.; MANCINI, D.A.P.; COZZOLINO, F.F.; TORRES, R.P. Antioxidant activity of cinnamon (*Cinnamomun zeylanicum*, Breyne) extracts. **Bolletino Chimico Farmaceutico**, v.137, n.11, p.443-447, 1998.

MARINO NETTO, L. **Acerola: A cereja tropical**. São Paulo: Nobel, 1986. 94p.

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

MIDDLETON, E.; KANDASWAMY, C.; THEOHARIDES, T. C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. **Pharmacological Reviews**, v. 52, p.673–751.2000.

MOLYNEUX, P.; The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Journal Science Technologie**, v. 26, n. 2, p.211-219, 2004.

MOURE, A., CRUZ, J. M., FRANCO, D., DOMÍNGUEZ, J. M., SINEIRO, J., DOMÍNGUEZ, H., JOSÉ.NUNEZ, M., & PARAJO , C.. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, London. v72, n.2, p.145–171. 2001.

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

NAWAR, W. Lipids. In: FENNEMA, R. **Food Chemistry**. New York: Marcel Dekker p. 139-244, 1985.

OGA, Z.; **Fundamentos de toxicologia**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2003, p. 39-44.

OLIVEIRA JR., M.E.; MANICA, I. M; **Mercado de frutíferas**: principais países e quantidades de frutas produzidas no mundo. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br>. Acesso em: 26.set. 2008.

OU, B.; HUANG, D.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J. A.; DEEMER, E. K. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays:a comparative study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, London, v. 50, p.2914-2919, 2002.

PAYA, M.; HALLIWEL, B.; HOULT, J.R.,; Interactions of a series of coumarins with reactive oxygen species: scavenging of superoxide, hypochlorous acid and hydroxyl radicals. **Biochemical Pharmacology**, New York, n.44, v. 2, p. 205–214.1992.

PÉREZ-JIMENZ,J.; ARRANZ,S.; TABERNERO, M.;DÍAZ-RUBIO, M.E.; SERRANO; GOÑI,I.; SAURA-CALIXTO, F.; Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**,Esseoes,v, 41, n.3, , p. 274-285,2008.

PIETTA, P.G.; Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v.63, n.7, p.1035-1042, 2000.

PIETTA, P.; SIMONETTI, P.; MAURI, P.; Antioxidant activity of selected medicinal plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, London, 46, 4487–4490.2000.

POULSEN, H.E.; PRIEME, H.; LOFT, S.; Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. **European Journal of Cancer Prevention**, Oxford, v.7, n.1, p.9-16, 1998.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, London, v.48, p.3396-3402, 2000.

RAMALHO, V.C.; JORGE, N.; Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.4, p.755-760, 2006.

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

ROVER JUNIOR, L.; HÖEHR, N.F.; VELLASCO, A.P.; Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutadiona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**. São Paulo, v. 24, n. 1, p. 112-119, 2001.

SACRAMENTO, C.K.; SOUZA, F. X. **Cajá (Spondias mombin L.)**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. p.42.

SAHIDI,F; Natural antioxidants.Chemistry,effects and applications. Champaing: **AOCS. Press**. 1997. p. 414.

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

SALDANHA, L.A.; Avaliação da atividade antioxidante in vitro de extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) verde e tostada e chá verde (*Camellia sinensis*) **Dissertação (Mestrado em Saúde Pública)**- Faculdade de Saúde Pública. Universidade São Paulo.São Paulo.

SANTORO, N., THIELE, D.J.; Oxidative stress responses in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. In: Hohmann and W. H. Mager. Heidelberg: Springer-Verlag. **Yeast Stress Responses**.1997 . p.171-212.

SÃO JOSÉ, A. B.; ALVES, R. E. **Acerola no Brasil**: produção e mercado. Vitória da Conquista, Bahia: Il. Graf. Tab., 1995.

SATO, M.; BAGCHI D.; TOSAKI, A.; DAS, D.K., Grape seed proanthocyanidin reduces cardiomyocyte apoptosis by inhibiting ischemia/reperfusion-induced activation of JNK-1 and C-JUN. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v.31, n.6,p.729–737, 2001

SOMEYA, S., YOSHIKI, Y.; OKUBO, K. Antioxidant compounds from bananas (*Musa cavendish*). **Food Chemistry**, London,v.79, p.351–354. 2002.

SOONG, Y-Y.; BARLOW, P.J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**,London,v.88, p. 411-417, 2004.

SCALBERT, A.; Williamson, G.; Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols **Journal of Nutrition**, v.130, n. 8.2000

SHI, H.; NIKI, E. Stoichiometric and kinetic studies on ginkgo biloba extract and related antioxidants. **Lipids**, v.33, n.4, p.365-369, 1998.

SOONG, Y.Y.; BARLOW, P. J.; Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**, London, v.88, p.411–417. 2004.

SPITELLER, P.; SPITELLER, G., Strong dependence of lipid peroxidation product spectrum whether Fe^{2+} or Fe^{3+}/O^2 is used as antioxidant. **Biochimetry Biophys Acta** 1998, v.392. 23-40.

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

SOUZA, H. K. O.; SILVA, V. E.; FILGUEIRA, M. A.; CHAVES, J. W. N. Infestação da Aceroleira por *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera, Tephritidae) em Mossoró-RN. **Caatinga**, Mossoró, v. 12, n. 1, p. 25-28, dez. 1999.

SLUIS, A.A.; DEKKER, M.; JAGER, A.; JONGEN, W. M. F. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Chicago, v.49, p. 3606-3613, 2001.

SHRIKHANDE A.J.; Wine by-products with health benefits. **Food Research Interntional**. v.33: p.469-74. 2000.

ST. ANGELO, A.J. Lipid oxidation in foods. Critical Reviews in **Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.36, n.3, p. 175-224, 1996.

TELLES, M., M.; **Caracterização dos grãos, torta e óleo de três variedades de girassol (*helianthus annuus* L.) e estabilidade do óleo bruto**. 2006. Dissertação (Mestrado em ciência dos alimentos).Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina.

TIMOFIECSYK, F. R.; PAWLOWSKY, U.; Minimização de resíduos na indústria de alimentos: revisão. **Boletim CEPPA**, v.18, n.2, p. 221-236.2000.

THOMAS, M.J.; The role of free radicals and antioxidants. **Nutrition**, v. 16, n. 7/8, p.16-18, 2000.

TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; GIL, M.I.; CREMIN, P.; WATERHOUSE, A.L.; PIERCE, B.H.; KADER, A.A. HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, na plums. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Chicago, v.49, p. 4748-4760, 2001.

VINSON, J.A.; SU, X.; ZUBIK, L.; BOSE, P. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Chicago, v.49, p. 5315-5321, 2001.

WANASUNDARA U.N.; SAHIDI, F. Antioxidant e pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. **Food Chemistry**, London, v.63, n.3, p, 335-342. 1998.

WATANABE, M. J. ;Catechins as antioxidants from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moech). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Chicago, v. 46, n. 3, p. 839-845, 1998.

WHEATLEY, R.A.; Some trends and the analytical chemistry of lipid peroxidation. **Trends in analytical chemistry**, v.19, n.10, p.617-28.2000.

WILHELM FILHO, D.; SILVA, E.L.; BOVERIS, A.; Flavonóides antioxidantes de plantas medicinais e alimentos: importância e perspectivas terapêuticas. In: YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. 2001. p. 317-340

WÜRTZEN, G. Shortcomings of current strategy for toxicity testing of food chemicals: antioxidants. **Food Chemistry and Toxicology**, Oxford, v.28, n.11, p.743-745, 1990.

YILDIRIM, A.; MAVI, A.; KARA, A.A.; Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L.extracts. *Journal Agriculture Food Chemistry*. Chicago: v.49, p. 4083-4089, 2001.

ZHENG, W.; WANG, S.Y.; Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal Agriculture Food Chemistry**, Chicago: v.49, p. 5165-5170, 2001.

RESULTADOS

**ARTIGO 1: EXTRAÇÃO DE ANTIOXIDANTES DE RESÍDUO
AGROINDUSTRIAL DE ACEROLA**

Submetido á Revista Brazilian Journal of Food Technology (ITAL)

RESUMO

Com objetivo de determinar o procedimento para a extração dos polifenóis presentes em resíduo agroindustrial de acerola e investigar a sua capacidade de seqüestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) foram elaborados, de uma mesma amostra e com extração seqüencial, extratos hidroacetônico, hidroetanólico, hidrometanólico e aquoso. Os extratos obtidos, utilizando 03 ciclos de extração (20 minutos cada ciclo) e duas temperaturas ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $50 \pm 2^{\circ}\text{C}$), para cada solvente, foram submetidos à determinação do teor de fenólicos totais e da capacidade de seqüestrar o radical DPPH. Dentre os extratos, independente da temperatura usada no processo de extração, destaca-se o hidroacetônico por ter apresentado o mais elevado teor de fenólicos totais. No entanto, utilizando três diferentes concentrações de fenólicos totais (10, 15 e 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$), não foi evidenciado diferenças na ação antioxidante entre os extratos obtidos a 25°C e 50°C , exceto o hidrometanólico na concentração de $10\mu\text{g}/\text{mL}$. A cinética da reação dos extratos obtidos a 25°C demonstrou a maior eficiência do extrato hidroetanólico, cuja ação foi semelhante a do ácido ascórbico, seguido pelo hidrometanólico e hidroacetônico. Assim, o procedimento envolvendo solventes orgânico-aquosos, três ciclos de extração e a temperatura de 25°C se mostrou eficaz na extração de significantes quantidades de fenólicos totais (1.780,6 a 5.954,2 μg em equivalente de catequina. mL^{-1}) e na obtenção de extratos com relevante capacidade de seqüestrar o radical DPPH (>70%). O resíduo de acerola surge como uma fonte promissora de antioxidantes naturais, no entanto, estudos adicionais são necessários para testar sua ação antioxidante em outras condições experimentais.

Palavras chave: capacidade antioxidante, DPPH, fenólicos totais, resíduo agroindustrial, acerola

ABSTRACT

This study was carried out to determine the procedure for extraction of polyphenols from acerola agri-industrial waste and the extract used to determine the antioxidant activity. hydroacetone, hydroethanolic and hydromethanolic extracts obtained through a sequential extraction process, combining three extraction cycles (20 minutes each one) and two temperatures ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ and $50 \pm 2^{\circ}\text{C}$), were submitted to the determination of total phenolic and free DPPH (1,1-diphenyl-2-picrilhidrazil) scavenging activity. The extracts showed high content of total polyphenols; however, the hydroacetone extract exhibited the highest total phenolic content. The antioxidant action of the extracts obtained through two temperatures was similar, except hydromethanolic extract with $10\mu\text{g}/\text{mL}$ of the total phenolic. The kinetic reaction showed that hydroethanolic extract was the most efficient and its action was comparable with ascorbic acid. The procedure involving aqueous-organic solvents, three extraction cycles at 25°C resulted in extracts with significant amounts of phenolic total ($1,780.6$ to $5,954.2 \mu\text{g catechin equivalent. mL}^{-1}$) and extracts with good DPPH scavenging capacity ($>70\%$). The waste of acerola can be considered as a source of natural antioxidants; however, further studies are needed to test its antioxidant action in other experimental conditions.

Key words: antioxidant capacity, DPPH, total phenolics, acerola, agri-industrial waste.

INTRODUÇÃO

A acerola (*Malpighia emarginata* DC), fruto delicado e originário das Antilhas, tem grande importância nutricional, por ser fonte natural de vitamina C. No entanto, além desta vitamina, outros compostos bioativos, como os polifenóis, fazem parte da composição deste fruto. Estes compostos, por possuírem propriedade antioxidante, atuam minimizando os danos oxidativos causados ao organismo pelas espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, prevenindo doenças crônicas não transmissíveis, como câncer e aterosclerose, entre outras (JACOB; BURRI, 1996).

Aliado ao aspecto nutricional e funcional do fruto, a acerola apresenta uma elevada produção e um forte potencial para industrialização, gerando resíduo agroindustrial que, geralmente, resulta em acúmulo de lixo e impacto ambiental. Vale destacar que as cascas e as sementes são freqüentemente os maiores componentes de vários frutos, e geralmente não recebem a devida atenção. Neste sentido, não ocorre o reaproveitamento ou a reciclagem deste material, possivelmente, em decorrência da falta de valor comercial (SOONG; BARLOW, 2004). Merece destaque, também, o teor de compostos com ação antioxidante presente nesses resíduos, pois estudos têm revelado que as cascas e as sementes de certos frutos exibem atividade antioxidante mais elevada do que a polpa, e que o perfil dos fitoquímicos antioxidantes é diferenciado nestas partes do vegetal (GUO et al., 2003; SOONG; BARLOW, 2004; AJILA et al., 2007).

Outro aspecto importante é o emprego de antioxidantes sintéticos pela indústria de alimentos, como os inibidores da oxidação lipídica de óleos, gorduras e alimentos que os contém, cuja inocuidade tem sido questionada, aliado ao fato de que os consumidores, preocupados com a saúde, têm demonstrado interesse por produtos naturais (PESCHEL et al., 2006). Desta forma, pesquisas estão voltadas

para a busca de compostos naturais que apresentem esta propriedade funcional, com vistas a substituir ou reduzir o uso dos antioxidantes sintéticos. Neste contexto, tem sido investigada a ação antioxidante de sementes de citrus (BOCCO et al., 1998); de casca de maçã (WOLFE et al., 2003) e de sementes de uvas (MIELNIK et al., 2006), entre outros. Entretanto, estudos relacionados à atividade antioxidante de resíduos de frutas tropicais e subtropicais são escassos.

Frente à elevada proporção de resíduos de frutas provenientes das indústrias processadoras de polpa de frutas e o seu potencial antioxidante, torna-se relevante investigar a capacidade antioxidante deste material. Assim, este trabalho teve por objetivo determinar procedimento para a extração dos polifenóis presentes no resíduo de acerola e investigar sua capacidade de seqüestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH*).

MATERIAL E METÓDOS

Material

Os resíduos do fruto de acerola (casca e semente) foram cedidos, no mês de março de 2008, por uma indústria produtora de polpa congelada de frutas, localizada na cidade de Recife/PE. Este material, coletado diretamente da linha de produção, foi imediatamente transportado para Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos, do Departamento de Ciências Domésticas da UFRPE, onde foram submetidos à secagem, 50°C, em estufa com circulação de ar, até atingir umidade igual ou inferior a 10%. Em seguida, os resíduos desidratados foram triturados, em multiprocessador, passados em tamis de 80 mesh para obtenção de um pó uniforme que foi acondicionado em sacos de polietileno, e mantido sob congelamento (-18°C) durante o desenvolvimento dos experimentos.

Métodos

Obtenção dos extratos

Os extratos hidroacetônico, hidrometanólico, hidroetanólico e aquoso foram obtidos de uma mesma amostra por extração seqüencial, utilizando-se duas temperaturas ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $50 \pm 2^{\circ}\text{C}$). Uma alíquota do resíduo desidratado (20 g) foi mantida, por 20 minutos, sob agitação permanente, em acetona a 80% (30 mL), nas temperaturas testadas e em seguida, filtrada. O resíduo desta filtração foi submetido ao mesmo processo de extração por mais dois períodos de 20 minutos, totalizando 60 minutos de extração. Os filtrados resultantes foram combinados e o volume ajustado para 100 mL. O resíduo foi reutilizado para a extração com metanol a 80% e, subseqüentemente, com etanol a 80% e água nas condições acima descritas. Os extratos obtidos foram acondicionados em recipientes tampados e mantidos sob congelamento (-18°C) até o momento das análises. O processo de extração foi efetuado em triplicata.

Fenólicos totais

A concentração dos compostos fenólicos totais foi determinada por espectrofotometria, utilizando reagente Folin-Ciocalteau (Merck), segundo a metodologia descrita por Wettasinghe e Shahidi (1999) e curva padrão de catequina. Os resultados foram expressos em μg de fenólicos totais em equivalente de catequina por mL do extrato.

Atividade antioxidante

A capacidade de seqüestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) dos extratos foi determinada utilizando-se o método descrito por Brand-Williams et al. (1995), modificado por Miliauskas et al. (2004). Extratos com diferentes concentrações de

fenólicos totais foram adicionados à solução de DPPH em metanol a 0,1M, atingindo a concentração final de fenólicos totais de 10, 15 e 30 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Em seguida, após repouso de 20 minutos, a absorvância foi medida a 515nm. A capacidade de seqüestrar o radical DPPH foi expressa em percentual, calculada em relação ao controle (sem antioxidante).

Para avaliar a cinética da reação, os extratos nas diferentes concentrações de fenólicos totais (10, 15 e 30 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), após a adição da solução de DPPH[•] em metanol a 0,1M, foram monitorados através do registro da absorvância até que a reação atingisse um platô de estabilidade, e os percentuais de seqüestro calculados foram plotados em função do tempo da reação.

Como termo de comparação foi utilizada a capacidade de seqüestro do radical DPPH[•] do BHT^{•+} e do ácido ascórbico, determinada nas condições descritas. Todas as determinações foram efetuadas em triplicata e os resultados submetidos à análise de variância e teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa "Statistic for Windows".

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O processo de extração seqüencial utilizando solventes de diferentes polaridades e três ciclos de extração para cada solvente possibilitou a extração de compostos fenólicos em quantidade variada (Tabela 1). Comparando a quantidade de fenólicos extraídos pelos diferentes solventes utilizados, evidencia-se que, independente da temperatura empregada no processo de extração, a solução de acetona a 80% extraiu a maior quantidade de fenólicos totais. É possível que a superioridade da solução de acetona na extração destes fitoquímicos não seja mantida se a ordem dos solventes de extração for alterado. No entanto, isto não

ocorreu na extração de fenólicos de *Camellia sinensis* (L) O. Kuntz. A solução de acetona a 70% empregada em seqüência a solução hidrometanólica conseguiu extrair o maior teor desses fitoquímicos (MANIAN, et al. 2008)

A eficiência da acetona, na extração de fenólicos totais, também foi constatada por Xu e Chang (2007) ao evidenciarem que, em algumas variedades de ervilha, a acetona a 50% extraiu a maior quantidade destes compostos, enquanto que em lentilha, soja e duas variedades de feijão, os polifenóis foram melhores extraídos com acetona a 80%. Em cascas desidratadas de uma variedade de tubérculo (*Dioscorea alata*), o etanol a 50% foi mais eficiente na extração dos fenólicos totais, e os compostos presentes em cascas de duas variedades de mangas foram mais bem extraídos com acetona a 80% (CHUNG et al., 2008; AJILA et al., 2007). Em resíduos agroindustriais de alcachofra, tomate e brócolis a maior extração de fenólicos, também foi obtida com acetona a 80%, porém o metanol a 50% e o etanol a 50% foram mais eficazes na extração de fenólicos de resíduos agroindustriais de maçã, morango, pepino e chicória (PESCHEL et al., 2006).

A solubilidade dos compostos fenólicos em um determinado solvente é uma característica peculiar do fitoquímico, o que explica a inexistência de um procedimento universal e aponta para a necessidade de seleção criteriosa do método de extração para cada fonte natural de antioxidante. Neste sentido, considerando que nos vegetais há polifenóis com polaridade diversificada, para a extração eficiente destes constituintes se faz necessário o uso de solventes com diferentes polaridades. Soluções aquosas de etanol, metanol e acetona, entre outras, são freqüentemente usadas, em diferentes concentrações, e a eficácia das mesmas dependerá da polaridade dos polifenóis presentes na amostra, bem como do grau de polimerização e da interação com outros constituintes (NACZK; SHAHIDI, 2004). Pérez-Jiménez et al. (2008) ressaltam que para a eficiência do processo de

extração deve-se combinar pelo menos dois ciclos de extração utilizando-se soluções de solventes orgânicos aquosos, com diferentes polaridades, de modo a extrair compostos com diferentes estruturas químicas.

Tabela 1: Teor de fenólicos totais em extratos de resíduo agroindustrial de acerola obtidos por três ciclos de extração seqüencial para cada solvente e duas temperaturas ($25 \pm 2^\circ\text{C}$ e $50 \pm 2^\circ\text{C}$)

Temperatura de extração	Fenólicos Totais (μg em equivalente catequina. mL^{-1})			
	Extrato hidroacetônico (80%)	Extrato hidrometanólico (80%)	Extrato hidroetanólico (80%)	Extrato aquoso (100%)
	25°C	5.954,2 ± 104,46 ^{aA}	1.408,4 ± 138,73 ^{bA}	1.780,6 ± 79,23 ^{b bA}
50°C	5.305,6 ± 193,15 ^{aA}	1.248,3 ± 81,08 ^{bA}	1.654,6 ± 49,43 ^{bA}	952,73 ± 60,73 ^{cA}

Os valores referem-se à média \pm desvio padrão de três determinações. Médias seguidas por letras maiúsculas iguais, nas colunas, e minúsculas iguais, nas linhas, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ($p > 0,05$).

Estatisticamente, não houve diferença entre os teores de fenólicos totais dos extratos hidroetanólico e hidrometanólico, porém o extrato aquoso exibiu a menor concentração destes constituintes, sendo, portanto, eliminado. A temperatura de 50°C não incrementou a extração dos polifenóis, indicando como adequado o processo de extração efetuado a $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Segundo Spigno et al. (2007), de maneira geral, o tempo e a temperatura de extração são parâmetros a serem aperfeiçoados a fim de diminuir o tempo e custo do processo de extração. Alguns autores, embora concordem que a temperatura poderá favorecer a extração de alguns compostos, dentre eles os fenólicos, ressaltam que também poderá desencadear a sua degradação com possível prejuízo da ação antioxidante (YILMAZ; TOLEDO, 2006; PINELO et al., 2005).

Dentre os métodos químicos empregados para avaliar a atividade antioxidante, aquele que investiga a capacidade do composto ou do extrato em seqüestrar o radical DPPH[•] tem sido amplamente utilizado, por ser prático e rápido (BRAND WILLIAMS et al., 1995; BONDET et al., 1997; SANCHEZ-MORENO et al., 1998; ESPIN et al., 2000). Sendo assim, alíquotas de cada um dos extratos foram submetidas ao ensaio do DPPH[•]. Inicialmente, foi investigado o efeito da temperatura empregada no processo de extração sobre a ação antioxidante dos extratos, cujo percentual de seqüestro, atingido aos 20 minutos da reação, é apresentado na Tabela 2.

Tabela 2: Capacidade de seqüestro do radical DPPH (%) pelo extrato hidroacetônico, hidroetanólico e hidrometanólico de resíduo agroindustrial de acerola, obtidos com três ciclos de extração e duas temperaturas (25°C e 50°C).

Extratos	10µg.mL ⁻¹		15 µg.mL ⁻¹		30 µg.mL ⁻¹	
	25°C	50°C	25°C	50°C	25°C	50°C
Hidroacetônico	52,99 ± 0,96 ^b	59,39 ± 0,15 ^b	60,79 ± 0,35 ^b	73,01 ± 0,10 ^{ab}	75,43 ± 0,48 ^{ab}	90,13 ± 0,82 ^a
Hidrometanólico	65,86 ± 0,37 ^b	92,81 ± 0,27 ^a	71,23 ± 0,96 ^{ab}	92,68 ± 0,51 ^a	83,11 ± 0,31 ^{ab}	91,08 ± 0,98 ^a
Hidroetanólico	93,78 ± 0,61 ^a	94,30 ± 0,57 ^a	94,10 ± 0,58 ^a	93,52 ± 0,80 ^a	93,65 ± 0,29 ^a	91,00 ± 0,86 ^a

Percentual de seqüestro exibido pelos extratos aos 20 minutos de reação. Os valores referem-se à média ± desvio padrão de três determinações. Médias do mesmo extrato, contendo a mesma concentração de fenólicos totais, seguidas de pelo menos uma letra minúscula igual, na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ($p > 0,05$).

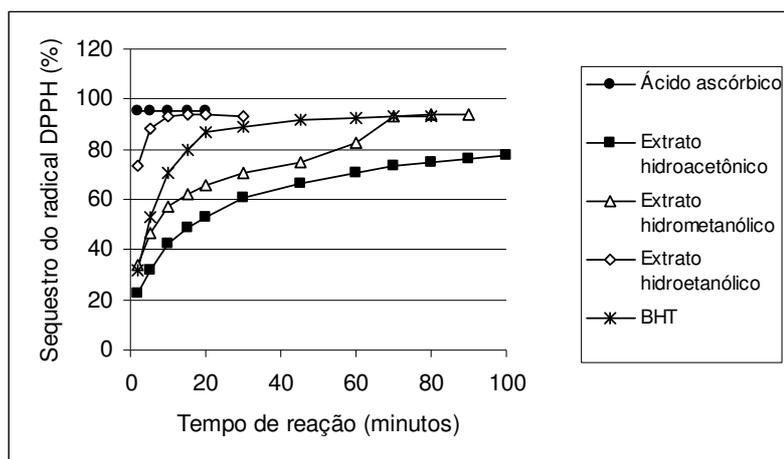
Ao comparar a capacidade de seqüestro dos extratos, obtidos a 25°C e 50°C, contendo a mesma concentração de fenólicos totais, evidencia-se que apenas o extrato hidrometanólico, na concentração de 10µg/mL, apresentou diferença significativa. Neste caso, o extrato obtido a temperatura 50°C exibiu

significativamente maior percentual de seqüestro do que o extrato obtido a 25°C. O hidroetanólico, independente da concentração e da temperatura de obtenção do extrato, exibiu a maior capacidade de seqüestro do radical DPPH[•]. Assim, evidencia-se que a temperatura de obtenção dos extratos não influenciou de forma marcante a ação antioxidante dos extratos, corroborando para indicar como ideal o processo de extração efetuado a 25°C.

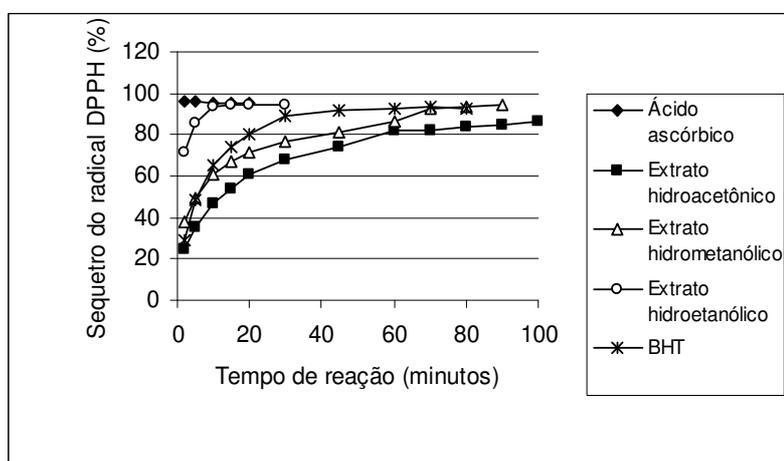
Os extratos obtidos por extração a 25°C foram analisados quanto à cinética da reação (Figura 1). A análise dos dados permite evidenciar que o extrato hidroetanólico, nas três concentrações, exibiu o mais elevado percentual de seqüestro, estatisticamente semelhante à do ácido ascórbico. Este extrato, aos 10 minutos da reação, atingiu valores superiores a 90% de seqüestro do radical DPPH[•]. Os extratos hidroacetônico e hidrometanólico exibiram capacidade antioxidante semelhante entre si, cujos percentuais de seqüestro do radical DPPH[•], nos primeiros minutos de reação, foram inferiores a 50%, atingindo, aos 70 minutos da reação, valores superiores a 80%. A ação destes dois extratos foi inferior a do BHT que, embora, tenha também exibido, nos primeiros minutos da reação, percentual de seqüestro abaixo de 50%, atingiu aos 20 minutos percentual superior a 80%. Assim, considerando que o tempo de reação é um parâmetro importante na avaliação da capacidade antioxidante (SÁNCHEZ-MORENO et al.,1998), pode-se afirmar que o extrato hidroetanólico é mais eficiente em seqüestrar o radical DPPH[•] do que o hidrometanólico e o hidroacetônico.

A eficiência do extrato hidroetanólico dos resíduos de acerola foi superior a de outros resíduos relatados na literatura. O extrato aquoso e etanólico de bagaço do pendúculo do caju, nas concentrações de 0,25 mg.mL e 0,5mg.mL, após 30 minutos, exibiram capacidade de seqüestro do radical DPPH[•] superior a 80%, enquanto que

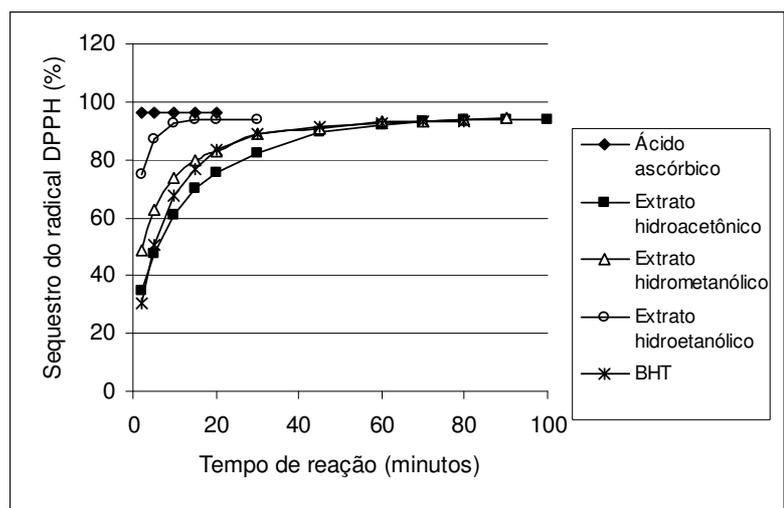
na concentração de 0,125 mg.mL esta ação foi de 54% e 57%, respectivamente (BROINIZI et al., 2007). Nadhlala et al.(2008) averiguando a capacidade de seqüestro do radical DPPH• de extrato da casca de alguns frutos (*Flacourtia indica*, *Uapaca kirkiana* e *Ziziphus mauriatina*) detectaram que, aos 20 minutos da reação, o percentual de seqüestro foi de 7,50%; 7,00% e 6,85%, respectivamente. Assim, evidencia-se que os extratos dos resíduos agroindustriais de acerola, em especial o hidroetanólico, exibem um forte potencial antioxidante.



(a)



(b)



(c)

Figura 1: Cinética da capacidade de sequestro do radical DPPH dos extratos hidroacetônico, hidrometanólico e hidroetanólico de resíduo agroindustrial de acerola, e do ácido ascórbico e BHT, como controle, na concentração final de $10\mu\text{g.mL}^{-1}$ (a); de $15\mu\text{g.mL}^{-1}$ (b) e de $30\mu\text{g.mL}^{-1}$ (c) de fenólicos totais, obtidos com três ciclos de extração a 25°C .

CONCLUSÃO

O procedimento metodológico que envolve solventes orgânico-aquosos, três ciclos de extração e temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ mostrou-se eficaz para extrair quantidade significativa de polifenóis a partir de resíduos de acerola. Todos os extratos exibiram ação antioxidante, com destaque para o extrato hidroetanólico que se mostrou mais eficiente em seqüestrar o radical DPPH[•], no entanto estudos adicionais são necessários para testar a ação antioxidante destes extratos em outras condições experimentais. Frente ao potencial antioxidante, resíduos de acerola surgem como uma fonte promissora de antioxidante natural.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AJILA, C. M., BHAT, S. G., PRASADA RAO, U. J. S., Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties. **Food Chemistry**, London.v.102, n.4, p.1006-1011, 2007.

BOCCO, A.; CUVELIER, M-E; RICHARD, H.; BERSET, C. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton. v.46, n.6, p.2123-2129, 1998.

BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. **Lebensmittel Wissenschaft und Techonologie**, London, v. 30, n. 6, p. 609-615, 1997.

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

BROINIZI, P.R.B.; ANDRADE-WHARTA, E.R.S.; SILVA, A.M.O.; NOVOA, A.J.V.; TORRES,R.P.; AZEREDO, H.M.C.; ALVES,R.L.; MANCINI-FILHO, J.; Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacartium occidentale* L.). **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.27, n.4, p.902-908, 2007.

CHUNG, Y-C; CHIANG, B-H; WEI, J-H; WANG, C-K; CHEN, P-C; HSU, C-K. Effects of blanching, drying and extraction processes on the antioxidant activity of yam

(*Dioscorea alata*). **International Journal of Food Science and Technology**, London, v.43, n.5, p.859-864, 2008.

ESPIN, J.C.; SOLER-RIVAS, C.; WICHERS, H. J.; GARCÍA-VIGUERA, C. Anthocyanin-based natural colorants: A new source of antiradical activity for foodstuff. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.48, p.1588-1592, 2000.

GUO, C.; YANG, J.; WEI, J.; LI, Y.; XU, J.; JIANG, Y. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. **Nutrition Research**, Washington, v.23, p.1719-1726, 2003.

JACOB, R. A; BURRI, B. Oxidative damage and defense. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.63, p. 985- 990.1996.

MANIAN, R.; ANUSUYA, N.; SIDDHURAJU, P; MANIAN, S. The antioxidante activity and free radical scavenging potencial of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. **Food Chemistry**, Washington, v.107, n.3, p. 1000-1007, 2008.

MIELNIK, M.B.; OLSEN, E.; VOGT, G.; ADELIN, D.; SKREDE, G. Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold stored turkey meat. **Lebensmittel Wissenschaft und Techonologie**, London, v.39, n.3, p.191-198, 2006.

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

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

NADHLALA, A.R.;CHITINDINGU,K.; MUPURE,C.; MURENJE, T.; NADHLALA, F.; BENHURA, M.A.; MAUDE, MUCHUWETI,M. Antioxidante properties of methanolic extracts from *Diospyros mespiliformia* (jackal Berry), *Flacourtia indica*(Batoka plum), *Uapaca kirkiana* (wild ioquat) and *Ziziphus mauritiana* (yellow Berry) fruits. **International Journal of Food Science and Technology**, London, v.43, n.2, p. 284-288, 2008.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; TABERNERO, M.; DÍAZ-RUBIO, M.E.; SERRANO, J.; GONI, I.; SAURA-CALIXTO, F. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant, food, oils and beverages: extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, Toronto, v.41, n.3, p.274-285, 2008.

PESCHEL, W.; SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; DIEKMANN, W.; PLESCHER, A.; GARTZIA, I.; JIMÉNEZ, D.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.; BUXADERAS, S.; CODINA, C. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. **Food Chemistry**, Washington, v.97, n.1, p.137-150, 2006.

PINELO, M. RUBILAR, M.; JEREZ, M.; SINEIRO, J.; NUNEZ, M. J. . Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, p.2111–2117, 2005.

SANCHEZ-MORENO, C.; LAURRAURI, J. A.; SAURA –CALIXTO, F. A . Procedure to measure the anti-radical efficiency of polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton. v. 76, n. 10, p. 270-276, 1998.

SOONG, Y-Y.; BARLOW, P.J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**, London. v.88, n.3, p. 411-417, 2004.

SPIGNO,G; TRAMELLI, L; FAVERI, D. M. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. **Journal of Food Engineering**, California, v.81, n.1, p.200-208, 2007.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.47, p.1801-1812, 1999.

WOLFE, K.; WU, X.; LIU, R.H. Antioxidant activity of apple peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.51, n.3, p.609-614, 2003.

XU, B.J.; CHANG, S.K.C. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. **Journal of Food Science**, Chicago, v.72, n.2, p.159-166, 2007.

YILMAZ, Y., TOLEDO, R. T. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, Rome, v.19, n.1, p.41–44, 2006.

**ARTIGO 2: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
EXTRATOS DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE ACEROLA EM
SISTEMA MODELO E EM ÓLEO DE SOJA**

A ser submetido à Revista Food Chemistry

Resumo

Com o objetivo de avaliar a capacidade antioxidante de resíduo agroindustrial de acerola, extratos hidroacetônico, hidrometanólico e hidroetanólicos, obtidos por processo de extração seqüencial, foram submetidos à determinação do teor de fenólicos totais e da atividade antioxidante em sistema modelo e em óleo de soja. Desta forma, foi determinada a capacidade dos extratos de seqüestrar os radicais DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) e ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), e de inibir a peroxidação do ácido linoléico pelo método Tiocianato Férrico. Para o teste acelerado em estufa, o óleo acrescido dos extratos (200ppm) foram incubados a 60°C, durante 28 dias, e ao em intervalos regulares de tempo foram determinados o índice de peróxido e dienos conjugados. Os extratos hidroetanólicos e hidrometanólico exibiram forte capacidade de seqüestro do radical DPPH (baixo valor de EC_{50} e de T_{EC50} , alta EA), elevada capacidade de seqüestro do radical ABTS (1.445,1 e 1.145,5 μ Mol TEAC/g, respectivamente), elevado percentual de inibição da peroxidação do ácido linoléico (96,12% e 91,84% respectivamente). Estes extratos, também, apresentaram capacidade em retardar formação de peróxidos e de dienos conjugados. O solvente hidroacetônico embora tenha propiciado a extração de uma maior quantidade de fenólicos totais, a ação antioxidante deste extrato foi inferior a exibida pelos extratos hidroetanólico e hidrometanólico que, nas condições experimentais utilizadas, exibiram a melhor ação antioxidante, tanto em sistema modelo com no teste acelerado em estufa.

Palavras-chave: DPPH, ABTS, Tiocianato férrico, índice de peróxido, dienos conjugados, resíduo de acerola

Abstract

This study was carried out to evaluate the antioxidant capacity of the agri-industrial waste from acerola. Hydroacetone, hydroethanolic and hydromethanolic extracts obtained through a sequential extraction process were submitted to the determination of total phenolic and antioxidant activity in model system and in soybean oil. Thus, the extracts were screened for their free DPPH (1,1-diphenyl-2-picrilhidrazil) and ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzotiazolina 6-sulfonic acid) scavenging activity and their effect on the linoleic acid peroxidation by the ferric thiocyanate method. Soybean oil with the addition of the extracts (200ppm) were submitted to an accelerated storage test in an oven at 60°C for 28 days, where sample were taken at time intervals and analyzed for peroxide value and conjugated dienes. Hydroethanolic and hydromethanolic extracts exhibited good DPPH scavenging activity (low value of EC_{50} and T_{EC50} , high value of EA), good ABTS scavenging capacity (1.445,1 e 1.145,5 μ Mol TEAC/g, respectively), high percentage of inhibition of peroxidation of linoleic acid (96.12% and 91,84%, respectively). These extracts showed the ability to retard the formation of peroxides and conjugated dienes. Although, the hydroacetone extract has exhibited the highest total phenolic content, the antioxidant action of this extract was less than shown by hydroethanolic and hydromethanolic extracts that, under the experimental conditions, exhibited the best antioxidant activity, both in model system and in soybean oil.

Key words: DPPH, ABTS, ferric thiocyanate, peroxide value, conjugated dienes, acerola waste

1. Introdução

Do ponto de vista nutricional, os lipídios são importantes nutrientes que, além de veicular vitaminas lipossolúveis, fornecem energia ao organismo. Em função de sua natureza química, estas moléculas estão sujeitas a reações de oxidação que promovem alteração do sabor e odor, bem como, do valor nutritivo dos alimentos. Desta forma, a oxidação lipídica, considerada um processo autocatalítico, uma vez que os produtos iniciais da reação propiciam a propagação em cadeia, deve ser prevenida de modo a minimizar os efeitos adversos e aumentar o tempo de vida útil dos produtos alimentícios (KRING; BERGER, 2001).

A indústria de alimentos, visando proteger os lipídios da degradação oxidativa, vem fazendo uso de aditivos antioxidantes, isolados ou em combinações, sendo os mais amplamente empregados o butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxituelo (BHT), butil-hidroquinona terciária (t-BHQ) e propil galato (PG). No entanto, no início dos anos 80, frente aos questionamentos sobre a inocuidade desses antioxidantes e da comprovação de que, em doses elevadas, poderiam causar diversas alterações em animais, instituiu-se em diversos países regulamentação para o seu uso, e deu-se ênfase a busca por antioxidantes naturais (DURÁN; PADILLA, 1993; MADHAVI et al., 1995 YILDRIM; MAVI; KARA, 2002).

Neste contexto, vários fitoquímicos com ação antioxidante, com destaque para os compostos fenólicos, têm sido isolados de extratos de diferentes partes de plantas, tais como, sementes, frutas, folhas, caule e raízes (MIRANDA et al., 2001; MANCINI-FILHO, et al., 1998; KLIMCZAK, et al 2002; MAŁECKA, 2002; SCHMIDT, et al 2003; SCHWARZ et al., 2001). Vale ressaltar que algumas frutas podem conter um teor mais elevado de compostos antioxidantes nas sementes e peles do que na

polpa, e, em geral o perfil desses fitoquímicos é diferenciado nestas partes do vegetal (GUO et al., 2003).

Outro aspecto importante é a elevada produção brasileira de resíduos agroindustriais, por ser um país de grande atividade agrícola. No caso da acerola, a indústria processa cerca de 34,40 mil toneladas, montante equivalente a 7,16% do total de frutas processadas, produzindo 18 mil toneladas de suco e polpa (ASTN; APEX, 2001). Como consequência são geradas grande quantidades de resíduos, material orgânico sem utilização comercial, que muitas vezes transforma-se em uma fonte de poluição ambiental.

Em diversos centros de pesquisa evidencia-se uma crescente busca de alternativas para utilização da matéria orgânica gerada pelas agroindústrias (CATANEO, et al. 2008). O aproveitamento desses resíduos como uma opção para a extração de componentes bioativos vegetais que poderiam ser utilizados na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética seria uma forma eficiente, de baixo custo e que diminuiria o impacto ambiental (MAKRIS; BOSKOU; ANDRIKOPOULOS, 2007). Além disso, constituiria uma alternativa viável para explorar os compostos antioxidantes de resíduos provenientes do processamento de suco de frutas tropicais (OLIVEIRA, et al. 2009).

Assim, considerando que em resíduo agroindustrial de acerola foi constatada quantidade significativa de compostos fenólicos com forte capacidade antioxidante (OLIVEIRA, et al. 2009), e a alta produção de resíduo a partir do processamento dessa fruta, este trabalho teve como objetivo investigar a capacidade antioxidante deste material com vistas à utilização de seu potencial como inibidor da oxidação lipídica.

2. Material e Métodos

2.1 Preparação da amostra

Os resíduos do fruto de acerola (casca e semente) foram cedidos pela FRUTOTAL, indústria produtora de polpa congelada de frutas, localizada na cidade de Recife/PE. No Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos, do Departamento de Ciências Domésticas da UFRPE, os resíduos foram submetidos à secagem, a 50°C, em estufa com circulação de ar, até atingir umidade igual ou inferior a 10%. Em seguida, os resíduos desidratados foram triturados, em multiprocessador, passados em tamis de 80 mesh para obtenção de um pó uniforme que foi acondicionado em sacos de polietileno, e mantido sob congelamento (-18°C) durante todo o desenvolvimento dos experimentos.

2.2 Extração

Os extratos hidroacetônico, hidrometanólico e hidroetanólico foram obtidos por extração seqüencial, em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). Uma alíquota do resíduo desidratado (20g) foi mantida, por 20 minutos, sob agitação permanente, em acetona a 80% (30mL) e, em seguida, filtrada. O resíduo desta filtração foi submetido ao mesmo processo de extração por mais dois períodos de 20 minutos, totalizando o tempo de extração de 60 minutos. Os filtrados resultantes foram combinados e o volume ajustado para 100 mL. O resíduo da filtração foi reutilizado para a extração com metanol a 80% e, subseqüentemente, com etanol a 80% nas condições acima explicitadas. Os extratos foram acondicionados em recipientes

tampados e mantidos sob congelamento (-18°C) até o momento das análises. O processo de extração foi efetuado em triplicata.

2.3 Determinação dos fenólicos totais

A concentração dos compostos fenólicos totais foi determinada por espectrofotometria, utilizando reagente Folin-Ciocalteu (Merck), segundo metodologia descrita por Wettasinghe e Shahidi (1999) e curva padrão de catequina. Os resultados foram expressos em µg de fenólicos totais em equivalente de catequina por mL do extrato.

2.4 Avaliação da atividade antioxidante

a) Capacidade de seqüestro do DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil)

A capacidade dos extratos de seqüestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) foi determinada utilizando o método descrito por Brand-Williams et al. (1995), modificado por Sánchez-Moreno, Larrauri e Saura-Calixto (1998). Extratos com diferentes concentrações de fenólicos totais foram adicionados à solução de DPPH em metanol (0,1M), atingindo a concentração final de 10, 15 e 30 µg de fenólicos totais. mL⁻¹. A absorbância a 515 nm foi monitorada, em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC) até a reação atingir o platô. A concentração do DPPH remanescente no meio da reação foi calculada a partir da curva padrão do radical DPPH, e o percentual de DPPH remanescente (DPPH_{rem}%) de cada concentração do extrato foi calculado utilizando a seguinte expressão:

$$\% \text{ DPPH}_{\text{REM}} = \text{DPPH}_t / \text{DPPH}_{T=0} \times 100$$

Onde: $DPPH_t$ é concentração do radical DPPH no tempo em que a reação atingiu o platô; $DPPH_{T=0}$ é concentração inicial do DPPH (tempo 0 da reação)

Em seguida, a concentração eficiente para diminuir em 50% a concentração inicial do DPPH (EC_{50}) foi calculada a partir do gráfico da concentração da amostra (g de fenólicos totais da amostra. g $DPPH^{-1}$) versus $DPPH_{REM}\%$, cujo resultado foi expresso em g de fenólicos totais do extrato por g de DPPH. A eficiência antiradical (EA) foi calculada considerando o valor de EC_{50} e o tempo em que foi atingido o EC_{50} (T_{EC50}), conforme expressão abaixo:

$$EA=1/EC_{50}.T_{EC50}$$

Como termo de comparação foi utilizada a capacidade de seqüestro do radical DPPH do BHT e do ácido ascórbico, determinada nas condições acima descritas.

b) Capacidade de seqüestro do radical $ABTS^{\bullet+}$ (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

A capacidade de seqüestro do radical 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico ($ABTS^{\bullet+}$) foi determinada segundo o método descrito por RE et al. (1999). O radical $ABTS^{\bullet+}$ foi gerado a partir da reação da solução aquosa de ABTS (7 mM) com 2,45 mM de persulfato de potássio. Esta solução foi mantida ao abrigo da luz, em temperatura ambiente por 16h. Em seguida, a solução do radical foi diluída em etanol até obter uma medida de absorbância de $0,7 \pm 0,05$, em comprimento de onda de 734 nm. Os extratos com diferentes concentrações de fenólicos totais foram adicionadas a solução do $ABTS^{\bullet+}$, atingindo concentração final

de 10, 15 e 30 μ g, e a absorbância medida, após 6 minutos, em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC). A capacidade antioxidante da amostra foi calculada em relação a atividade do antioxidante sintético Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico), nas mesmas condições, e os resultados foram expressos em atividade antioxidante equivalente ao Trolox (μ Mol TEAC.g⁻¹ de fenólicos totais do extrato).

c)– Atividade antioxidante em emulsão de ácido linoléico

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada utilizando o método Tiocianato descrito por Jayaprakasha, Shigh e Sakariah (2001). A emulsão do ácido linoléico foi preparada homogeneizando 0,28g de ácido linoléico, 0,28g de Tween 20, como emulsificante, e 50mL de tampão fosfato 0,2 M (pH 7,0). Aliquotas dos extratos, com concentração final de fenólicos totais de 125 ppm, foram individualmente misturadas com 2,5mL da emulsão do ácido linoléico e 2,5mL tampão fosfato 0,2 M (pH 7,0), acondicionadas em frasco de vidro âmbar, com tampa rosqueável, e encubada em estufa com circulação de ar a 50°C \pm 0,5. Em período regular de tempo (a cada 7 dias), 0,1 mL desta solução foram retirados e adicionados a 5 mL de etanol 75% (v/v), 0,1 mL de tiocianato de amônio 30% (p/v) e 0,1 mL de cloreto ferroso 0,02 M em HCl 3,5%. Após, exatamente 3 minutos à temperatura ambiente (25,0 \pm 0,5°C) foi medida a absorbância a 500nm, em espectrofotômetro Shimadzu UV-1650PC. O experimento foi encerrado no momento em que o controle (amostra sem adição de antioxidante) atingiu um valor máximo de absorbância. O grau da inibição da peroxidação do ácido linoléico foi calculado usando expressão algébrica:

$$\% \text{ inibição} = \frac{[\text{abs. média final do controle} - \text{abs. Média final da amostra}] \times 100}{\text{abs. média final do controle.}}$$

Como termo de comparação foi utilizada a ação antioxidante do BHT e ácido ascórbico (100ppm), determinadas nas mesmas condições acima descritas.

d) Atividade antioxidante em óleo de soja: Índice de peróxidos e Dienos conjugados.

Alíquotas dos extratos foram individualmente acondicionadas em vidro âmbar, com tampa rosqueável, contendo 50 mL de óleo de soja refinado, isento de antioxidante sintético e de ácido cítrico, gentilmente cedido pela Bunge alimentos S.A., atingindo a concentração final de fenólicos totais de 200ppm. Para a incorporação dos extratos foi adicionado emulsificante Tween 20 ao óleo. Amostras controle constituídas por óleo adicionado de BHT (200 ppm), de ácido ascórbico (200ppm) e de óleo sem adição de antioxidante foram preparadas e, juntamente com as amostras testes, incubadas em estufa a 60°C por 28 dias. Em seguida, alíquotas foram retiradas em diferentes intervalos de tempo (0, 7, 14, 21, e 28 dias) e submetidas à determinação do índice de peróxidos por titulação com solução de tiosulfato de sódio de acordo com o método (Cd 8-53) da AOCS (2006), e de dienos conjugados por método espectrofotométrico (Ti 1a-64) descrito na AOCS (2006). Os resultados foram expressos em meq.de peróxido.Kg⁻¹ de óleo, e em porcentagem de ácidos dienóicos, respectivamente.

2.8 Análise estatística.

Todas as determinações foram efetuadas em triplicata e os dados submetidos a análises de variância e teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa “Statistic for Windows”.

3. Resultado e Discussão

O extrato hidroacetônico apresentou o mais elevado teor de polifenóis, superior estatisticamente aos demais extratos (Tabela 1). Evidencia-se, portanto, que a maioria dos compostos fenólicos presentes no resíduo agroindustrial de acerola foi solubilizada em acetona a 80%. Oliveira et al (2009) relatam que o extrato metanólico de resíduo de acerola (pele) apresentou teor de polifenóis de 681mg 100g⁻¹, inferior ao deste estudo. Esses autores ressaltam que o extrato metanólico continha, aproximadamente, 2 e 10 vezes mais fenólicos totais do que os extratos de maracujá e abacaxi, respectivamente.

Diversos solventes, como o metanol, etanol, acetona, propanol, acetato de etila e dimetilformamida, têm sido comumente utilizados na extração de fenólicos em frutas e seus resíduos (ANTOLOVICH, et al, 2000; LUTHRIA; MUKHOPADHYAY, 2006). Alonthman et al (2008) empregando etanol, acetona, metanol e água, em diferentes concentrações (50, 70, 90%), como solventes extratores, evidenciaram que a acetona (50%) e etanol (70%) extraíram maior teor de polifenóis em abacaxi, enquanto que em goiaba o maior rendimento de fenólicos foi obtido com acetona e etanol a 90%. Em resíduo de uva da variedade COUDERC13 e Pinot Gris, o teor de fenólicos do extrato de acetona variou de 109,64 a 207,80 e 370,17 a 420,61 mg ácido gálico 100^{-1g}, respectivamente (CATANEO, 2008). Teor inferior foi encontrado em extrato de metanol a 60% de semente e casca de manga (RIBEIRO et al., 2008).

A extração dos polifenóis em materiais de origem vegetal é influenciado pela solubilidade dos compostos no solvente empregado no processo de extração. Sendo assim, a polaridade do solvente extrator tem papel fundamental na solubilidade destes compostos (NACZK; SHAHIDI, 2006). Normalmente, solventes menos polares são considerados mais adequados para a extração de polifenóis lipofílicos (ALONTHMAN, et al 2008). Solvente hidroacetônico, geralmente, é apontado como um bom sistema de solvente para a extração de antioxidantes polares (LU e FOO,1999; LUXIMON-RAMMA, et al 2003, SUN et al., 2002). Merece destaque a ampla utilização do etanol como solvente extrator, possivelmente por existir em vegetais uma gama de polifenóis solúveis em solvente hidroetanólico, além de ser um solvente bem tolerado em modelos para consumo humano.

Tabela 1: Teor de fenólicos totais em extratos de resíduo agroindustrial de acerola obtidos por três ciclos de extração seqüencial para cada solvente e em temperatura ambiente ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$)

Fenólicos Totais (μg em equivalente catequina. mL^{-1})		
Extrato	Extrato	Extrato
hidroacetônico	hidrometanólico	hidroetanólico
$5.954,2 \pm 104,46^a$	$1.408,4 \pm 138,73^b$	$1.780,6 \pm 79,23^b$

Os valores referem-se à média \pm desvio padrão de três determinações; as médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ($p > 0,05$).

Determinação da capacidade de seqüestrar radicais livres

- **Seqüestro do Radical DPPH**

O valor EC_{50} está inversamente relacionado à atividade antiradical. Sendo assim, o extrato que apresenta alto potencial em seqüestrar radicais livres possui baixo valor de EC_{50} (ROESLER, et al, 2007). Desta forma, evidencia-se que os

extratos hidroetanólico e hidrometanólico, com os mais baixos valores de EC_{50} , exibiram a melhor capacidade de seqüestro do radical DPPH, cuja ação foi estatisticamente semelhante a do ácido ascórbico. A menor ação antioxidante foi exibida pelo extrato hidroacetônico, sem contudo, diferir significativamente do BHT (Tabela 2). Elevado potencial em seqüestrar os radicais livres foi observado por Samotyja e Malecka (2007), em extratos comerciais de alecrim, solúvel em água e em óleo, e extrato etanólico de semente de “blackcurrant” com valor de EC_{50} de 0,106, 0,143, e 0,103g de antioxidante/g DPPH, e uma eficiência antiradical de 0,45, 0,25 e 0,35, respectivamente.

Considerando que o poder antioxidante é resultante da capacidade do composto ou do extrato em atuar rapidamente, em baixa concentração, prevenindo ou retardando a reação de autoxidação, se faz necessário utilizar outros parâmetros, além de EC_{50} , para melhor avaliar a capacidade antioxidante de uma amostra. Neste sentido, Sánchez-Moreno, Larrauri e Saura-Calixto (1998), estabeleceram o T_{EC50} e EA como parâmetros de avaliação da capacidade antioxidante em ensaio de DPPH. Segundo estes autores, o comportamento cinético de um antioxidante, baseado no valor de T_{EC50} pode ser classificado em rápido ($T_{EC50} < 5$ minutos), intermediário ($T_{EC50} = 5$ a 30 minutos) ou lento ($T_{EC50} > 30$ minutos), e no que se refere a eficiência antiradical, o valor de EA permite classificar o antioxidante em baixa ($EA < 1$), média ($EA > 1$ e ≤ 5), alta ($EA > 5$ e ≤ 10) ou super alta ($EA > 10$) capacidade de seqüestro do radical DPPH.

Desta forma, tendo como base as escalas de classificação acima citadas, evidencia-se, na Tabela 2, que o extrato hidroetanólico, a semelhança do ácido ascórbico, reagiu rapidamente com o radical DPPH ($T_{EC50} < 5$ minutos), enquanto que os demais extratos foram considerados de velocidade intermediária ($T_{EC50} = 5$ a 30 minutos). Quanto a eficiência antiradical, o extrato hidroetanólico ($EA > 5$ e ≤ 10) e

o ácido ascórbico (EA >10) foram classificados, respectivamente, em alta e super alta eficiência antiradical, enquanto que hidrometanólico foi considerado com média eficiência (EA >1 e ≤ 5), e o extrato hidroacetônico, juntamente com o BHT, com baixa eficiência. Assim, o extrato hidroetanólico, por ter como característica baixo valor de EC₅₀ e de T_{EC50} e alta EA, exibe um forte poder antioxidante frente ao radical DPPH.

TABELA 2. Valores de EC₅₀, de T_{EC50} e classificação cinética e antiradical de extratos de resíduo agroindustrial de acerola

Amostras	EC ₅₀ (g fenólicos totais . gDPPH ⁻¹)	T _{EC50} (min)	Classificação cinética	EA	Classificação antiradical
Hidroacetônico	0,24 ± 0,02 ^a	8,57 ± 0,81 ^{ab}	intermediário	0,49 ^d	Baixo
Hidroetanólico	0,16 ± 0,01 ^b	0,8 ± 0,59 ^c	rápido	7,81 ^b	Alto
Hidrometanólico	0,17 ± 0,01 ^b	5,42 ± 0,01 ^b	intermediário	1,08 ^c	Médio
BHT	0,2 ± 0,01 ^a	18,12 ± 0,61 ^a	intermediário	0,28 ^d	Baixo
Ácido ascórbico	0,15 ± 0,02 ^b	0,57 ± 0,01 ^c	rápido	11,69 ^a	Super alto

Os valores referem-se à média ± desvio padrão de três determinações; as médias seguidas por letras iguais, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan (p>0,05). T_{EC50}= tempo necessário para atingir o valor de EC₅₀; EA= eficiência anti-radical = 1/EC₅₀.T_{EC50} .

- **Seqüestro do Radical ABTS^{•+}**

A capacidade de seqüestro de radicais livre ABTS^{•+} dos extratos de resíduo agroindustrial de acerola encontra-se na Tabela 3. Evidencia-se que esta ação foi diferenciada entre os extratos, cujos valores médios de TEAC variou entre 159,38 e 1.445,1µMol TEAC/g. O extrato hidroetanólico exibiu a mais elevada capacidade de seqüestro, seguido pelo hidrometanólico, cuja ação foi superior a do extrato hidroacetônico, BHT e ácido ascórbico. A ação antioxidante dos extratos

hidroetanólico e hidrometanólico de resíduo de acerola foi superior a de extratos de bagaço de duas variedades de uvas determinada por Cataneo, (2008) (463,46 e 98,92 μ Mol TEAC/g) e por Soares et al (2008) (0,89 e 1,57 μ Mol TEAC. g⁻¹), e semelhante a do extrato hidrometanólico obtido a partir da amêndoa do caroço da manga (1.397. μ Mol TEAC. g⁻¹) (SOONG; BARLOW, 2004). No entanto, extratos etanólicos de cascas de frutas originárias da Tailândia exibiram valores médios de capacidade de seqüestro do radical ABTS entre 207.000 a 4.590.000 μ Mol. g⁻¹, com destaque para romã (*Punica granatum*) e “long-gong” (*Lansium domesticum*) por terem apresentado, respectivamente, a maior e a menor capacidade antiradical (OKONOGLI et al 2007).

TABELA 3. Capacidade de seqüestro do radical livre ABTS^{•+} dos extratos de resíduo agroindustrial de acerola

Amostras	Atividade antioxidante
	(μ Mol TEAC.g ⁻¹).
Hidroacetônico	291,71 \pm 20,90 ^b
Hidroetanólico	1.445,1 \pm 73,07 ^a
Hidrometanólico	1.145,5 \pm 45,81 ^a
BHT	159,38 \pm 4,76 ^b
Ácido ascórbico	564,32 \pm 45,49 ^{ab}

Os valores referem-se à média \pm desvio padrão de três determinações; Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ($p > 0,05$). TEAC= Atividade antioxidante em equivalente de trolox (6min)

- **Inibição da peroxidação do ácido linoléico - Método Tiocianato Férrico**

O efeito antioxidante dos extratos sobre a inibição da peroxidação do ácido linoléico, avaliado por meio do método tiocianato férrico, encontra-se apresentado na Figura 1. Os hidroperóxidos gerados durante a oxidação do ácido linoléico reagem com o sulfato ferroso, dando origem ao sulfato férrico e, em seguida, ao tiocianato férrico, de cor vermelha sangue, que é monitorada espectrofotometricamente. Após

o período de incubação (288h), observa-se que a densidade ótica (DO) máxima atingida pelo controle (amostra sem adição de antioxidante) foi de 1,1, momento em que foi interrompido o ensaio, uma vez que após este tempo ocorreu um decréscimo da densidade ótica desta amostra. Segundo Hua-Ming, Koji, Fumio e Nokihara (1996), o decréscimo da densidade ótica revela que ocorreu interrupção da oxidação em decorrência da não disponibilidade do ácido linoléico no meio da reação e do surgimento de produtos secundários oriundos da degradação dos hidroperóxidos.

Os extratos hidroetanólico e hidrometanólico exibiram a mais elevada atividade antioxidante, cujo percentual de inibição da peroxidação do ácido linoléico, ao final do ensaio (288h) foi de 96,12% e 91,84%, respectivamente, sem contudo, diferir estatisticamente da ação exibida pelo extrato hidroacetônico, BHT e ácido ascórbico.

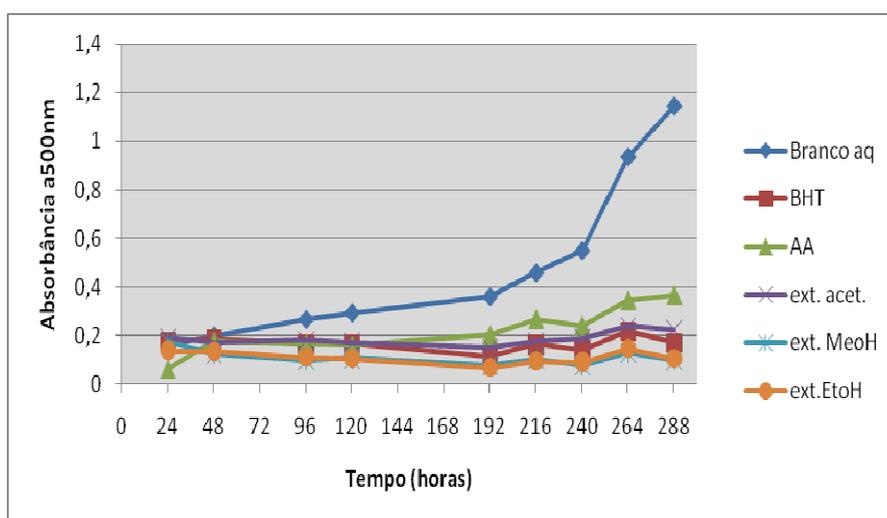


FIGURA 1. Atividade antioxidante de extratos de resíduo agroindustrial de acerola, BHT e ácido ascórbico (125ppm) pelo método tiocianato férrico.

A ação antioxidante do extrato hidroetanólico do resíduo agroindustrial de acerola foi superior a dos extratos de semente de uva, obtidos com o uso de acetona, metanol e quatro diferentes concentrações de acetato de etila, relatada por

JAYAPRAKASHA et al. (2001). Esses autores ressaltam que dentre os extratos estudados, o obtido com acetato de etila e água (17:3) apresentou, ao final de 100h, o mais elevado percentual de inibição da peroxidação do ácido linoléico (86%). Liu e Yao (2007) avaliando a ação antioxidante de extratos de cevada obtidos com o emprego de vários solventes extratores (metanol a 70%, etanol a 70% e acetona a 70%), evidenciaram que o extrato hidroacetônico exibiu o maior percentual de inibição da oxidação do ácido linoléico. A composição dos extratos, referente aos compostos fenólicos, justifica as diferenças na ação antioxidante apresentadas pelos vários extratos.

Atividade antioxidante em óleo de soja

a) Índice de peróxidos

O efeito de antioxidante dos extratos de resíduo agroindustrial de acerola sobre a oxidação de óleo de soja acondicionado em estufa a 60°C encontra-se apresentado na Tabela 4. Observa-se que o índice de peróxido aumentou em todos os tratamentos durante o período de encubação, atingindo valores mais elevados na amostra controle (óleo sem adição de antioxidante). podendo este fato ser justificado pelo desenvolvimento de produtos primários da oxidação dos lipídeos (ANGELO; JORGE, 2008).

O extrato hidroetanólico exibiu maior ação de proteção do óleo contra a oxidação, uma vez que propiciou a menor formação de peróxidos, cuja ação, aos 28 dias, foi estatisticamente semelhante a do extrato hidrometanólico, porém superior a do hidroacetônico e a dos antioxidantes sintéticos. As normas brasileiras que regulamentam a adequação de óleo de soja refinado para consumo (portaria 482/99-ANVISA), estabelecem o máximo de 10meq/kg de índice de peróxido (BRASIL,

1999). Os extratos de resíduos de acerola foram eficazes em retardar a oxidação do óleo de soja até o 14^º dia, uma vez que mantiveram o índice de peróxido abaixo desse limite.

Diferentes concentrações de extrato metanólico de alho (250, 500, 1000ppm), mostraram-se efetivas na proteção de óleo de girassol (teste em estufa, a 65°C, por 24 dias) contra a oxidação, no entanto a concentração de 1000ppm mostrou-se mais eficiente (IQBAL; BHANGER, 2007). Anwar et al, (2007) evidenciaram que o extrato hidrometanólico (80%) de folhas de *moringa oleifera*, na concentração de 600ppm, foi bastante eficiente em retardar a peroxidação do óleo de girassol acondicionado em temperatura ambiente por 60 dias. Assim como a adição de extrato de farelo de arroz (600mg.kg⁻¹), de alecrim (200 - 500ppm) e de semente de blackcurrant (3000ppm) retardou de forma eficiente a formação de peróxido em óleo de girassol (CHATA et al, 2006; SAMOTYJA; MALECKA, 2007). Suja *et al.*, (2004) relatam que a adição de diferentes concentrações de antioxidantes naturais e de antioxidantes sintéticos (200ppm) protegeu o óleo de girassol refinado, durante o teste em estufa a 60°C, por 15 dias. A amostra tratada com 100ppm de TBHQ apresentou valor de peróxido de 15,8 meq. Kg⁻¹. Em ensaios em estufa a 63°C, a oxidação do óleo de soja adicionado de extratos etanólicos de alecrim (500mg.kg⁻¹), de orégano (1000mg.kg⁻¹) e de antioxidantes sintéticos TBHQ (100 e 20mg.kg⁻¹) e BHA+BHT (200mg.kg⁻¹) foi retardada, porém os extratos naturais não atingiram a eficiência do TBHQ (ALMEIDA-DORIA e REGITANO-D'ARCE, 2000).

Tabela 4. Efeito da adição de extrato de resíduos de acerola (200ppm de fenólicos totais) na formação de peróxidos (meq.kg⁻¹) em óleo de soja acondicionado a 60°C

Tratamentos	Tempo de incubação (dias)				
	0	7	14	21	28
Extrato hidroacetônico	1,33 ±	4,60 ±	9,40 ±	16,13 ±	21,40 ±
Extrato hidroetanólico	0,23 ^{dA}	0,32 ^{dAB}	0,88 ^{cA}	1,25 ^{bABC}	1,44 ^{aB}
Extrato hidrometanólico	1,33 ±	2,13 ±	7,27 ±	12,00	14,2
Controle	0,23 ^{cA}	0,13 ^{cB}	0,42 ^{bB}	±1,08 ^{aC}	±1,30 ^{aC}
Extrato BHT	1,33 ±	3,07 ±	9,07 ±	15,33 ±	19,47 ±
Extrato AA	0,23 ^{cA}	0,44 ^{cB}	0,37 ^{bA}	1,27 ^{bABC}	1,31 ^{aBC}
Controle	1,33 ±	8,87 ±	15,40 ±	24,13 ±	28,80 ±
BHT	0,23 ^{dA}	0,82 ^{cA}	1,52 ^{bA}	1,44 ^{aA}	1,00 ^{aA}
AA	1,33 ±	5,13 ±	9,87 ±	21,00 ±	26,0 ±
BHT	0,23 ^{bA}	0,22 ^{bAB}	0,97 ^{bA}	1,47 ^{aAB}	1,59 ^{aAB}
AA	1,33 ±	4,87 ±	12,87 ±	21,13 ±	22,80 ±
AA	0,23 ^{cA}	0,72 ^{cAB}	2,15 ^{bA}	2,6 ^{aAB}	2,3 ^{aAB}

Os valores referem-se à média ± desvio padrão de três determinações; Médias seguidas por letras minúsculas iguais, na linha, e por letras maiúsculas iguais, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ($p > 0,05$). AA: ácido ascórbico; BHT: Butil hidroxitolueno; controle: óleo sem adição de antioxidante.

Dienos Conjugados

A determinação de dienos conjugados é um método utilizado para medir o estado oxidativo de óleos, e, portanto um indicador da eficácia dos antioxidantes (YOON, et al. 1991). Como se pode observar na Tabela 5, o aumento de dienos conjugados nas amostras foi progressivo durante os 28 dias do teste acelerado em estufa, e que a ação dos extratos hidroetanólico e hidrometanólico, aos sete dias do teste, foi estatisticamente superior a do extrato hidroacetônico e a dos antioxidantes sintéticos. Não havendo diferença na ação antioxidantes dos extratos nos dias subsequentes.

Tabela 5. Efeito da adição de extrato de resíduo agroindustrial de acerola (200ppm de fenólicos totais) na formação dienos conjugados (% de ácidos dienóicos) em óleo de soja acondicionado a 60°C

Tratamento	Tempo de aquecimento				
	0	7	14	21	28
Extrato hidroacetônico	0,29 ±	0,43 ±	0,97 ±	1,33 ±	1,82 ±
Extrato hidroetanólico	0,02 ^{cA}	0,01 ^{cA}	0,10 ^{bcA}	0,09 ^{abA}	0,18 ^{aA}
Extrato hidrometanólico	0,29 ±	0,29 ±	0,66 ±	1,01 ±	1,29 ±
Controle	0,02 ^{cA}	0,03 ^{cB}	0,09 ^{bcA}	0,15 ^{abA}	0,14 ^{aA}
BHT	0,29 ±	0,33 ±	0,70 ±	1,18 ±	1,42 ±
AA	0,02 ^{cA}	0,02 ^{cB}	0,09 ^{bcA}	0,19 ^{abA}	0,16 ^{aA}
	0,29 ±	0,52 ±	1,04 ±	1,51 ±	1,96 ±
	0,02 ^{dA}	0,03 ^{dA}	0,14 ^{cA}	0,19 ^{bA}	0,18 ^{aA}
	0,29 ±	0,43 ±	0,86 ±	1,32 ±	1,77 ±
	0,02 ^{dA}	0,04 ^{cdA}	0,07 ^{bcA}	0,11 ^{abA}	0,18 ^{aA}
	0,29 ±	0,47 ±	0,98 ±	1,47 ±	1,93 ±
	0,02 ^{dA}	0,05 ^{cdA}	0,12 ^{bcA}	0,16 ^{abA}	0,22 ^{aA}

Os valores referem-se à média ± desvio padrão de três determinações; AA: ácido asórbico; BHT: Butil hidroxitolueno; controle: sem antioxidante. Médias seguidas por letra minúscula iguais na linha e por letra maiúscula iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan($p>0.05$).

Ação de antioxidante natural sobre a formação de dienos conjugados vem sendo investigada por vários autores, cujos estudos utilizaram concentração de extrato superior a 200ppm. Iqbal e Bhangar (2007) evidenciaram que o efeito do extrato metanólico de alho (250, 500 e 1000ppm) adicionado em óleo de girassol, submetido à estocagem a 65°C por 24 dias, foi dose-dependente. A maior proteção da oxidação foi conseguida com 1000ppm do extrato de alho. Extrato de coentro adicionado ao óleo de soja, na concentração de 1.600mg.kg, retardou o processo de oxidação, no entanto, a ação foi mais eficaz ao associar o extrato de coentro a antioxidante sintético, palmitato de ascorbila (ANGELO; JORGE, 2008). Extratos hidrometanólico

(80%) de folha de *moringa oleifera* na concentração de 600ppm exibiu o menor teor de dienos conjugados, refletindo maior proteção do extrato contra a oxidação (ANWAR et al., 2007).

Conclusões

O resíduo agro-industrial de acerola apresenta elevado teor de fenólicos totais cujos extratos exibem forte capacidade antioxidante. O solvente hidroacetônico embora tenha propiciado a extração de uma maior quantidade de fenólicos totais, a ação antioxidante deste extrato foi inferior a exibida pelos extratos hidroetanólico e hidrometanólico que, nas condições experimentais utilizadas, exibiram a melhor ação antioxidante, tanto em sistema modelo com no teste acelerado em estufa.

Frente ao potencial antioxidante dos extratos de resíduo de acerola e o não estabelecimento de limites para a adição de antioxidante natural em alimentos, torna-se conveniente testar o efeito desses extratos em concentração de fenólicos superior à 200ppm sobre a estabilidade de óleo vegetal.

Referência Bibliográfica

AJILA, C.M.; NAIDU, K.A.; BHAT, S.G.; PRASADA RAO, U.J.S.; Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. **Food Chemistry**, London, v.105. 982-988. 2007.

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

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY- AOCS. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. Champaign, 2006.

ANTOLOVICH, M., PRENZLER, P., ROBARDS, K.; RYAN, D.; Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruit. **Analyst**, 989–1009.2000.

ANWAR, F.; SIDDIQ, A.; SHAHIDI, I.; ASI, R. M.; Stabilization of sunflower oil with *moringa oleifera* leaves under ambient storage. **Journal of food lipids**. v14, n.1, p. 35-49, 2007.

ANGELO, P. M.; JORGE N. Avaliação do óleo de girassol adicionado de antioxidantes sob estocagem. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.2, p. 498-502, 2008.

ALOTHMAN, M., BHAT, R., KARIM, A.A., Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents, **Food Chemistry**. London. v.115, n.3, p.785-788.2009.

ASTN (Associação das Indústrias Processadoras de Frutos Tropicais); APEX (Programa Setorial Integrado de Promoção de Exportações de Sucos Tropicais). Brasília, 2001. Disponível em: <<http://webm5.uol.com.br/cgi-bin/webmail.exe/messages>>. Acesso em: 14 dez. 2003

BRASIL. **Diário Oficial da União**. v.196, 13out/1999, secção I, p.82-87.

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

CATANEO, C. B.; CALIARI, V; GONZAGA L. V; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R.; Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 93-102, 2008.

DURÁN, R.M.;PADILLA, B. Actividad antioxidante delos compuestos fenólicos. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v.44, n.2, p.101-106, 1993.

GUO, C.; YANG, J.; WEI, J.; LI, Y.; XU, J.; JIANG, Y. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. **Nutrition Research**, v.23, p.1719-1726, 2003.

HUA-MING, CHEN., KOJI, MURAMOTO., FUMIO, YAMAUCHI., & KIYOSHI, NOKIHARA. Antioxidant activity of Designed peptides based on the antioxidative peptide isolated from Digests of a Soyabean Protein. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.44, p.2619-2623, 1996.

IQBAL, S.; Bhangar, M.I.; Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. **Food Chemistry**. London.v.100. 246–254. 2007.

JAYAPRAKASHA, G.K.; SINGH, R.P.; SAKARIAH, K.K.; Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. **Food Chemistry**, London.v.73, 285-290.2001.

KLIMCZAK, I.; MAŁECKA, M.; PACHOLEK, B.; Antioxidant activity of ethanolic extracts of amaranth seeds. **Nahrung-Food**, v.46, 184–186.2002.

KRING, U.; BERGER, R.G.; Antioxidant activity of some roasted foods. **Food Chemistry**, London.v.72. p. 223-229, 2001.

LIU, Q.; Yao, H.; Antioxidant activities of barley seeds extracts. **Food Chemistry** v.102 , 732–737. 2007.

LUTHRIA, D.L.; Mukhopadhyay, S.. Influence of sample preparation on assay of phenolic acids from eggplant. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.54, 41 –47. 2006.

- LU, Y.; FOO, L.Y.; Rosmarinic acid derivatives from *Salvia officinalis*. 294
Phytochemistry, v.51, 91–94. 1999.
- LUXIMON-RAMMA, A., BAHORUN, T.; 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, 496-502. 2003.
- MANCINI-FILHO, J.; VAN-VOIJJ, A.; MANCINI, D.A.P., COZZOLINO, F.F.; TORRES, R.P.; Antioxidant activity of cinnamon (*Cinnamomun zeylanicum*, Breyne) extracts. **Boletim Chemical Pharmaceutical**, v.137, p. 443-447, 1998.
- MAŁECKA, M.; Antioxidant properties of the unsaponifiable matter isolated from tomato seeds, oat grains and wheat germ oil. **Food Chemistry**, London. v.79, 327–332.2002.
- MADHAVI, D.L. ;**Food antioxidant: sources and methods of evaluation**. New York: Marcel Decker, 450p.1995.
- MAKRIS, D. P.; BOSKOU, G.; ANDRIKOPOULOS, N. K. Recovery of antioxidant 484 phenolics from white vinification solid by-products employing water/ethanol 485 mixtures. **Bioresource Technology**, v.98, 2963–2967, 2007.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F.. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 1523–1542. 2006.

OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; SILVA, C.A., HENRIQUES BECHARA, E.J.; DE BARROS, M.P.; MANO, C.M.; FONSECA GOULART, I.O.; Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues, **Food Chemistry**, London.v.115. n2. 469-475. 2009

OKONOJI, S.; DUANGRAT, C.; ANUCHPREEDA, S.; TACHAKITTIRUNGROD, S.; CHOWWANAPOONPOHN, S.; Comparison of antioxidant capacities and cytotoxicities of certain fruit peels. **Food Chemistry**, London.v.103. 839–846.2007.

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

RIBEIRO, S.M.R.; BARBOSA, L.C.A.; QUEIROZ, J.H.; KNOEDLER M.; A. SCHIEBER D.E.; Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. **Food Chemistry**. London.v.110: 620–626, 2008.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA C. A. S.; PASTORE, G. M.; Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.1. 53-60, jan.-mar. 2007.

SANCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F.; A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.76, p.270–276, 1998

SOARES, M.; WELTER L.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, L.; FETT, R.; Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas niágara e isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 1, p. 059-064, 2008.

SCHMIDT, S.; NIKLOVA, I.; POKORNY, J.; FARKAS, P.; SEKRETAR, S.; Antioxidant activity of evening primrose phenolics in sunflower and rapeseed oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.105, 427–435.2003

SCHWARZ, K.; BERTELSEN, G.; NISSEN, L. R.; GARDNER, P. T.; HEINONEN, M.; Hopia, A.; Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. **European Food Research and Technology**, 212, 319–324. 2001.

SUN, J.; CHU, Y.; WU, X.; LIU, R.H.; Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Fruits. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 50, 7449-7454.2002.

SAMOTYJA, U.; MALECKA, M.; Effects of blackcurrant seeds and rosemary extracts on oxidative stability of bulk and emulsified lipid substrates. **Food Chemistry**. London.v.104..p.317-323. 2007.

STOILOVA, I.; KRASTANOV, A.; STOYANOVA, A.; DENEV, P.; GARGOVA, S.; Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*). **Food Chemistry**. London. v.102 : 764–770,2007.

YEN,G.C.; HSIEH,C.L.; Antioxidant activity of extracts from Duzhong(Eucommia ulmoides) toward various peroxidation models in vitro. **Journal of agriculture and Food Chemistry**,v.46,1998. 3952-3957.

YILDIRIM, A.; MAVI, A.; KARA, A.A.; Determination of antioxidant and antimicrobial activities of Rumex crispus L.extracts. **Journal Agriculture. Food Chemistry**. Chicago: v.49, p. 4083-4089, 2001.

YOON, S. H.; KIM, S. K.; SHIN, M. G.; KIM, K. H.; Comparative study of physical methods for lipid oxidation measurement. **Journal of American Oil Chemists Society**, v.62. n.10, 1487–1489. 1991.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F.; Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.1801-1812, 1999

CONCLUSÃO GERAL

- O procedimento metodológico que envolve solventes orgânico-aquosos, três ciclos de extração e temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ mostrou-se eficaz para extrair quantidade significativa de polifenóis a partir de resíduo agroindustrial de acerola.
- Todos os extratos exibiram quantidade relevante de compostos fenólicos e ação antioxidante. O solvente hidroacetônico embora tenha propiciado a extração de uma maior quantidade de fenólicos totais, a ação antioxidante deste extrato foi inferior a exibida pelos extratos hidroetanólico e hidrometanólico que, nas condições experimentais, exibiram a melhor ação antioxidante, tanto em sistema modelo com no teste acelerado em estufa.
- Frente ao potencial antioxidante dos extratos de resíduo de acerola e o não estabelecimento de limites para a adição de antioxidante natural em alimentos, torna-se conveniente testar o efeito desses extratos em concentração de fenólicos superior à 200ppm sobre a estabilidade de óleo vegetal.
- O resíduo agroindustrial de acerola pode ser visto como fonte de antioxidante natural, permitindo vislumbrar a sua utilização em alimentos em substituição ou em associação aos antioxidantes sintéticos. No entanto, se faz necessário desenvolver estudos adicionais, visando avaliar sua ação antioxidante em outras condições experimentais e sua toxicidade *in vivo*.