

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

CARACTERIZAÇÃO DE FRUTOS DE GENÓTIPOS DE CAJÁ-UMBUZEIRAS:
Teor de fitoquímicos bioativos e potencial antioxidante

Recife

2011

ALDENISE CHAGAS CURVÊLO GONÇALVES MOREIRA

**CARACTERIZAÇÃO DE FRUTOS DE GENÓTIPOS DE CAJÁ-UMBUZEIRAS:
Teor de fitoquímicos bioativos e potencial antioxidante**

Dissertação submetida à coordenação do Programa 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

2011

Ficha catalográfica

M838c Moreira, Aldenise Chagas Curvêlo Gonçalves
Caracterização de frutos de genótipos de cajá-
umbuzeiras: teor de fitoquímicos bioativos e potencial
antioxidante / Aldenise Chagas Curvêlo Gonçalves
Moreira. -- 2011.
122 f.: il.

Orientadora: Enayde de Almeida Melo.
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de
Alimentos) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Ciências Domésticas, Recife, 2011.
Referências.

1. Atividade antioxidante 2. Cajá-umbu 3. Extração
sequencial 4. Fitoquímicos bioativos I. Melo, Enayde de
Almeida, orientadora II. Título

CDD 664

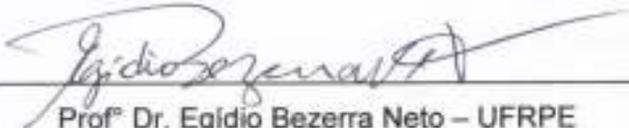
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

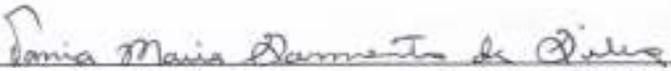
CARACTERIZAÇÃO DE FRUTOS DE GENÓTIPOS DE CAJÁ-UMBUZEIRAS:
Teor de fitoquímicos bioativos e potencial antioxidante

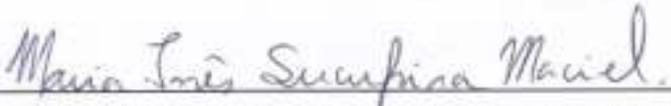
Por: Aldenise Chagas Curvêlo Gonçalves Moreira

Esta dissertação foi julgada para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em 24/02/2011 pelo Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, em sua forma final.

BANCA EXAMINADORA


Prof^o Dr. Egidio Bezerra Neto – UFRPE


Prof^a Dr^a Tânia Maria Sarmento da Silva – UFRPE


Prof^a Dr^a Maria Inês Sucupira Maciel – UFRPE

DEDICATÓRIA

Primeiramente, a meu Pai, que já não se encontra entre nós, mas tenho certeza que estaria muito feliz nesse momento; A minha mãe, por que se não fosse ela não estaria aqui; A minha orientadora, pela confiança e dedicação, e por iluminar meus caminhos; Ao meu esposo, que sempre acreditou em mim e me dá apoio; E a todos(as) que sempre estão ao meu lado me incentivando para realização deste trabalho.

***“Nos maiores obstáculos
dessa minha trajetória
encontrei os sustentáculos
que me levaram à vitória.”***

Antônio Maciel Correia

AGRADECIMENTOS

A Deus, todo poderoso por ser minha fortaleza, pelo dom da vida e da sabedoria.

A minha mãe, pela existência e pelos os ensinamentos de persistência e luta.

Ao meu companheiro João Gonçalves, por sempre acreditar em mim e me ajudar nos momentos de dificuldades e tristezas.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, pelas oportunidades oferecidas.

À Professora Enayde de Almeida Melo, por ter sido mais do que uma orientadora, por todo seu carinho, pela dedicação, por tudo que me ensinou, e pelo seu exemplo, que levarei para vida toda.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, representado pelas professoras Maria Inês Sucupira Maciel, Vera Lúcia Arroxelas Galvão de Lima e Celiane Gomes Maia da Silva, assim como todos que colaboram para esse Programa existir, pela oportunidade e dedicação ao curso, e a Secretária Ana pelos serviços prestados.

À Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco– (Facepe) pela bolsa cedida.

Ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) por ceder os frutos de cajá-umbu.

As minhas amigas e companheiras durante o período de pós-graduação, Lídia Cristina, Lili Leal, Quésia Jemima, Adriana Menezes e Mariane Pacheco.

Às colegas de laboratório Rosilda, Cristiane, Flávia Rodrigues, Rosana, Flávia Jamille, Ilane e Rafaela, pela amizade e apoio, em especial a Joana D'arc, Rita e Renata, sem elas esse trabalho não seria concluído.

Enfim, a todos(as) que direta ou indiretamente contribuíram para a efetivação deste trabalho.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Formação de Radicais Livres por processos endógenos e exógenos...	24
Figura 2. Estrutura de antioxidantes sintéticos.....	29
Figura 3. Estrutura química do ácido ascórbico.....	32
Figura 4. Núcleo básico dos flavonóides.....	35
Figura 5. Estrutura química dos ácidos hidroxibenzóicos (a) e hidroxicinâmicos (b).....	37
Figura 6. Frutos de cajá-umbuzeiras provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA) (Itambé, 2009).....	40
Figura 7. Plantas de cajá-umbuzeiras do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA) (Itambé, 2009).....	41
 Artigo 1	
Figura 1: Coluna cromatográfica de frutos de genótipos de cajá-umbuzeiras cultivados no Banco de Germoplasma do IPA (Instituto Agronômico de Pernambuco), em Itambé-PE.....	62
Figura 2. Espectro de absorção UV-Visível dos carotenóides de frutos de genótipos de cajá-umbuzeiras cultivados no Banco de Germoplasma do IPA (Instituto Agronômico de Pernambuco), em Itambé-PE.....	67

Artigo 2

Figura 1. Cinética da reação de seqüestro do radical DPPH dos extratos hidroacetônico (a), Hidrometanólico (b), Aquoso (c) e dos extratos combinados (hidroacetônico + hidrometanólico + aquoso) (d) de frutos de 4 genótipos (G 2.2; G 2.3; G 3.1 G 3.2) de cajá-umbu do Banco de Germoplasma do IPA contendo 33 µg de fenólicos totais equivalente em ácido gálico. mL⁻¹ de extrato.....88

Figura 2. Percentual de sequestro do radical DPPH dos extratos hidroacetônico, hidrometanólico, aquoso e dos extratos combinados (hidroacetônico + hidrometanólico + aquoso) de frutos de 4 genótipos (G 2.2; G 2.3; G 3.1 G 3.2) de cajá-umbu do Banco de Germoplasma do IPA, aos 15 minutos da reação, contendo 33 µg de fenólicos totais equivalente em ácido gálico.mL⁻¹ de extrato. [Médias do mesmo extrato, porém de genótipo diferente seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan (p>0,05)].....89

Figura 3. Capacidade de sequestro do radical DPPH (%) exibida pelos extratos combinados dos genótipos de umbu-cajá, nas concentrações de 6, 18, 25 e 33 µg de fenólicos totais equivalente em ácido gálico.mL⁻¹ de extrato, aos 5 minutos de reação. [Médias dentro da mesma concentração seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan (p>0,05)].....90

Figura 4. Correlação entre o teor de fenólicos totais e a capacidade de sequestrar o radical DPPH (%) dos extratos combinados dos 4 genótipos do cajá-umbu, nas concentrações de 6, 18, 25, 33 µg de fenólicos totais equivalente em ácido gálico.mL⁻¹ de extrato.....91

Artigo 3

Figura 1. Atividade antioxidante de extratos de frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco, em Itambé-PE, em sistema β -caroteno/ ácido linoléico contendo 100 μ g de fenólicos totais equivalente em ácido gálico.mL⁻¹ de extrato, aos 105 minutos da reação. (Os valores referem-se à média de três determinações. Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan $p > 0,05$).....110

Figura 2. Cinética da ação antioxidante de extratos de frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco, em Itambé-PE (100 μ g de fenólicos totais equivalente em ácido gálico.mL⁻¹ de extrato), em sistema da co-oxidação do β -caroteno/ ácido linoléico.....111

Figura 3. Atividade antioxidante de frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco, em Itambé-PE (100 μ g de fenólicos totais equivalente em ácido gálico.mL⁻¹ de extrato), provenientes de genótipos em emulsão de ácido linoléico (método tiocianato férrico).....114

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Doenças relacionadas ao estresse oxidativo.....25

Artigo 1

Tabela 1: Fitoquímicos bioativos em frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco, em Itambé-PE.....64

Tabela 2: Características cromatográficas dos carotenóides presentes em frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco, em Itambé-PE.....69

Tabela 3: Teor de carotenóides presentes nas frações dos 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco, Itambé-PE.....70

Artigo 2

Tabela 1. Fenólicos totais em extratos de cajá-umbu de 4 genótipos extraídos por sistema de extração sequencial e em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$).....85

Tabela 2. Fenólicos totais em extratos de cajá-umbu de 4 genótipos extraídos por sistema de extração isolado e em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$).....86

Artigo 3

Tabela 1. Fenólicos totais em extratos de cajá-umbu de 4 genótipos extraídos por sistema de extração sequencial e em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$).....106

Tabela 2. Valores de EC₅₀, de T_{EC50} e classificação cinética e anti-radical de frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco, em Itambé-PE.....108

Tabela 3: Capacidade de sequestro do radical ABTS^{•+} de frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco, em Itambé-PE.....109

Tabela 4. Parâmetros cinéticos dos extratos de frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco, em Itambé-PE, na concentração final de 100µg de fenólicos totais.mL⁻¹ de extrato, determinados em sistema da co-oxidação do β-caroteno/ácido linoléico.....112

Tabela 5. Inibição da peroxidação do ácido linoléico (%) por ação de extratos de de frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco, em Itambé-PE (100µg de fenólicos totais. mL⁻¹ de extrato) (método Tiocianato Férrico).....115

SUMÁRIO

1. RESUMO.....	15
2. ABSTRACT.....	17
3. INTRODUÇÃO.....	19
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
2.1 PROCESSO OXIDATIVO.....	23
2.2 AGENTES ANTIOXIDANTES.....	28
2.3 ÁCIDO ASCÓRBICO.....	31
2.4 CAROTENÓIDES.....	33
2.5 POLIFENÓIS.....	34
2.6 FRUTAS COMO FONTE ANTIOXIDANTE.....	38
2.7 CAJÁ-UMBU.....	39
5. OBJETIVOS.....	42
3.1 GERAL.....	43
3.2 ESPECÍFICOS.....	43
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
7. RESULTADOS.....	53
5.1 ARTIGO 1: CARACTERIZAÇÃO DE FRUTOS DE GENÓTIPOS DE CAJÁ-UMBUZEIRAS: FITOQUÍMICOS BIOATIVOS.....	54
5.1.1 Resumo.....	55
5.1.2 Abstract.....	56
5.1.3 Introdução.....	57
5.1.4 Material e Métodos.....	58
5.1.5 Resultados e Discussão.....	63
5.1.6 Conclusões.....	71
5.1.7 Referências Bibliográficas.....	72
5.2 ARTIGO 2: POLIFENÓIS EM FRUTOS DE GENÓTIPOS DE CAJÁ-UMBUZEIRAS: EFICIÊNCIA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO E POTENCIAL ANTIOXIDANTE.....	77
5.2.1 Resumo.....	78
5.2.2 Abstract.....	79
5.2.3 Introdução.....	80

5.2.4 Material e Métodos.....	81
5.2.5 Resultados e Discussão.....	84
5.2.6 Conclusões	92
5.2.7 Referências Bibliográficas.....	93
5.3 ARTIGO 3: CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS DE GENÓTIPOS DE CAJÁ-UMBUZEIRAS.....	97
5.3.1 Resumo.....	98
5.3.2 Abstract.....	99
5.3.3 Introdução.....	100
5.3.4 Material e Métodos.....	101
5.3.5 Resultados e Discussão.....	106
5.3.6 Conclusões	116
5.3.7 Referências Bibliográficas.....	117
8. CONCLUSÕES GERAIS.....	121

RESUMO

Com o objetivo de caracterizar frutos de genótipos de cajá-umbuzeiras cultivados no Banco de Germoplasma do IPA (Instituto Agronômico de Pernambuco), frutos de 4 genótipos (G 2.2; G 2.3; G 3.1; G 3.2) foram utilizados para quantificar os principais fitoquímicos bioativos e avaliar o potencial antioxidante. Os polifenóis foram quantificados por método espectrofotométrico; o ácido ascórbico por método titulométrico e os carotenóides por técnicas cromatográfica e espectrofotométrica. Os extratos hidroacetônico, hidrometanólico e aquoso foram obtidos empregando-se 03 sistemas de extração: a) extração sequencial: acetona a 80%, metanol a 80% e água; b) extração sequencial: água, metanol a 80% e acetona a 80%; c) extração não sequencial. Os extratos isolados e combinados foram avaliados quanto ao teor de fenólicos totais, a capacidade de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH[•]) e o radical 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS^{•+}), a inibição da oxidação em sistema da co-oxidação β -caroteno/ácido linoléico e pelo método tiocianato férrico. Os frutos apresentaram teor relevante de polifenóis, baixos teores de ácido ascórbico e de carotenóides. O β -caroteno-5,6-5'6'-diepóxido foi o componente majoritário dos genótipos G 2.2; G 2.3; G 3.1, e a luteína-5,6 epóxido do G 3.2. O procedimento de extração que empregou a acetona 80% como primeiro solvente conseguiu extrair maior quantidade de fenólicos totais. Todos os genótipos exibiram relevante capacidade de sequestro do radical DPPH (EC₅₀ de 0,30 a 0,43, T_{EC50} de 8,98 a 15,24 minutos, e EA de 0,18 a 0,40), expressiva capacidade de sequestro do radical ABTS^{•+} (55,56 a 120,08 $\mu\text{Mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$) e forte inibição da peroxidação do ácido linoléico (88,45 a 92,89%). Em sistema da co-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico exibiram ação moderada (56,91 a 69,41 % de inibição), demonstrando serem eficientes em bloquear o início da reação de oxidação (F1<1), porém na fase de propagação, o genótipo G 3.2 demonstrou maior eficiência (F2<1). Os frutos do cajá-umbuzeiro apresentam em sua constituição compostos bioativos e bom potencial antioxidante, podendo contribuir com o aporte dietético de antioxidante.

Palavras-chave: Atividade antioxidante; Cajá-umbu; Extração sequencial; Fitoquímicos bioativos.

ABSTRACT

The aim this work was to characterize “cajá-umbu” fruits coming from the germplasm’s collection IPA (Instituto Agronômico de Pernambuco). Fruits of the 4 genotypes (G 2.2, G 2.3, G 3.1, G 3.2) were used to quantify the phytochemicals bioactive and evaluate the antioxidant potential. The polyphenols were quantified by spectrophotometric method, the ascorbic acid by titulometric method and carotenoids by chromatographic and spectrophotometric techniques. Hydroacetone, hydromethanolic and aqueous extracts were obtained using 3 extraction systems: a) sequential extraction: acetone 80%, methanol 80% and water, b) sequential extraction: water, methanol 80% and acetone 80% c) non-sequential extraction. The isolated and combined extracts were submitted to the determination of total phenolic content, screened for their free DPPH• (1,1-diphenyl-2-picrilhidrazil) and ABTS•+) (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazoline 6-sulfonic acid) scavenging activity, and their effect on the linoleic acid peroxidation by the system of co-oxidation β -carotene/acid linoleic and ferric thiocyanate method. The fruits showed significant content of polyphenols, low levels of ascorbic acid and carotenoids. The β -carotene 5-6, 5'6'-diepoxide was the major component of genotypes G 2.2, G 2.3, G 3.1, and 5-6 epoxide lutein for G 3.2. The extraction procedure which employed acetone 80% as first solvent could extract a larger amount of total phenolic. All genotypes exhibited good DPPH• scavenging activity (EC_{50} value of 0.30 to 0.43, T_{EC50} value of 8.98 to 15.24 minutes, and EA value of 0.18 to 0.40), significant ABTS•+ scavenging capacity (55.56 a 120.08 μ Mol TEAC.g⁻¹) and high percentage of inhibition of peroxidation of linoleic acid (88.45 to 92.89%). In co-oxidation of linoleic acid/ β -carotene system exhibited moderate activity (56.91 to 69.41% inhibition), showing that they are effective in blocking the onset of oxidation reaction ($F1 < 1$), but the propagation phase, G 3.2 genotype showed higher efficiency ($F2 < 1$). Therefore, fruits of “cajá-umbuzeiro” have bioactive compounds and good antioxidant potential that can contribute to the dietary intake of antioxidant.

Keywords: Antioxidant activity; Bioactive phytochemicals; “Cajá-umbu”; Sequential extraction.

INTRODUÇÃO

Uma grande variedade de frutos tropicais, nativos e exóticos com boas perspectivas para exploração econômica é produzida nas regiões Norte e Nordeste do Brasil (SACRAMENTO; SOUZA, 2000). Dentre as espécies frutíferas destas regiões destaca-se a *Spondias sp.*, cujo extrativismo constitui fonte alternativa de renda para os pequenos produtores do semi-árido (CAVALCANTI et al., 1996). Dentre os frutos das *Spondias sp.*, destaca-se o cajá-umbu, resultante, possivelmente, de cruzamentos naturais entre o cajá (*Spondias mombim* L.) e o umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) (LIMA et al., 2002), que, embora, ainda se encontre em fase de domesticação, apresenta grande potencial agroindustrial (LIRA JÚNIOR et al., 2005).

Vale destacar que a inclusão de frutas e seus produtos na dieta é uma recomendação nutricional relacionada à saúde tendo em vista que estes alimentos fornecem quantidades apreciáveis de vitaminas, minerais e fibras. Além disto, evidências epidemiológicas têm demonstrado que existe uma forte correlação inversa entre o consumo regular de frutas e hortaliças e a prevalência de algumas doenças degenerativas, portanto, uma dieta rica em vegetais encontra-se associada a uma maior expectativa de vida (RICE-EVANS; MILLER, 1995).

O crescente interesse por produtos saudáveis tem promovido expansão na agroindústria de frutas que vem incluindo em sua linha de produção frutas com características sensoriais bastante exóticas, provenientes, principalmente, da região Norte e Nordeste do país. Entretanto, mesmo com esse crescente interesse, inúmeras espécies frutíferas de excelentes propriedades nutricionais e sensoriais, com grande potencial de industrialização, continuam sem muito destaque (CAVALCANTI et al., 1996).

Neste contexto, encontra-se o cajá-umbu, não obstante ter sido alvo de algumas recentes pesquisas relacionadas à caracterização física e físico-química, este fruto ainda apresenta uma grande escassez de dados científicos referentes aos teores de fitoquímicos que exibem propriedade antioxidante. Desta forma, torna-se importante caracterizar estes frutos quanto aos principais compostos bioativos e suas propriedades funcionais. Estas constatações motivaram a implementação deste estudo que teve como objetivo quantificar os principais

fitoquímicos bioativos em frutos do cajá-umbuzeiro do Banco Ativo de Germoplasma do IPA, bem como avaliar potencial antioxidante destes frutos.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

PROCESSO OXIDATIVO

Os lipídeos na dieta têm papel importante, pois fornecem calorias e ácidos graxos essenciais e veiculam vitaminas. Nos alimentos estão relacionados à qualidade organoléptica, tornando-os mais palatáveis, entretanto durante décadas têm sido envolvido na etiologia da obesidade e de algumas doenças crônicas não transmissíveis (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999). Constituem um grupo diverso de compostos, geralmente solúveis em solventes orgânicos e pouca solubilidade em água. Sua composição, estrutura cristalina, sua propriedade de fusão e capacidade de associação com a água e outras moléculas não lipídicas oferecem especial importância em relação as suas propriedades funcionais em muitos alimentos (McCLEMENTS; DECKER, 2010).

Os lipídeos são principais componentes do tecido adiposo, e junto com as proteínas e carboidratos, constituem os principais componentes estruturais das células vivas (McCLEMENTS; DECKER, 2010). Acilglicerol (mono, di e tri), ácidos graxos livres, glicolipídios, fosfolipídios, esteróis e outras substâncias integram o grupo dos lipídeos. A maior parte destes constituintes é oxidável em diferentes graus, sendo os ácidos graxos insaturados as estruturas mais susceptíveis à oxidação (RAMALHO; JORGE, 2006).

O processo de oxidação é inerente ao organismo animal e extremamente importante para o seu metabolismo, contudo, ao mesmo tempo em que o oxigênio é essencial, sua presença também é perigosa em função da possibilidade da ocorrência de reações de oxidação, processo de difícil controle, que pode causar danos às estruturas celulares e aos tecidos animais (ADAMS, 1999).

A oxidação nos sistemas biológicos ocorre devido à ação dos radicais livres no organismo. Estas moléculas, conhecidas como "espécies reativas de oxigênio" (EROS), possuem elétron livre, dito não pareado, em sua órbita externa, que propicia ligar-se a qualquer outro elétron, por isso são extremamente reativas (SOARES, 2002). *In vivo* são formados via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons no metabolismo celular, podendo ser geradas no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana celular, ou ainda, por neutrófilos e macrófagos durante a inflamação, e o seu alvo celular (proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA) está relacionado com o seu sítio de formação. A

exposição do organismo a fatores exógenos, a exemplo da luz visível, luz ultravioleta (UV), por raios-X e raios gama além de poluentes da atmosfera também propiciam a formação destas moléculas (Figura 1) (BIANCHI; ANTUNES, 1999; VALKO et al., 2006).

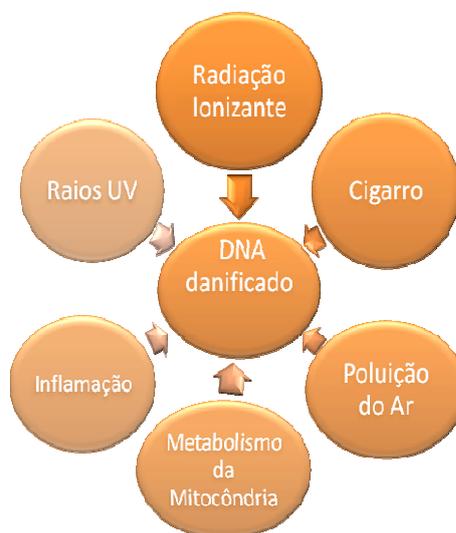


Figura 1. Formação de Radicais Livres por processos endógenos e exógenos.

As EROs desempenham papel duplo no sistema biológico, uma vez que pode ser prejudicial ou benéficas aos sistemas vivos. Os efeitos benéficos envolvem funções fisiológicas, como por exemplo, na defesa contra agentes infecciosos e na função de uma série de sistemas de sinalização celular. Em contraste, em altas concentrações, as EROs podem ser importantes mediadores de danos às estruturas celulares, lipídios e inclusive membranas, proteínas e ácidos nucleicos (VALKO et al., 2006).

O termo espécies reativas de oxigênio inclui os radicais livres: hidroxila ($\text{HO}\cdot$), superóxido ($\text{O}_2 \cdot^-$), peroxila ($\text{ROO}\cdot$), óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$) e alcoxila ($\text{RO}\cdot$) e os não-radicalares: oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ácido hipocloroso (HOCl) e ozônio (O_3). Em termos de reatividade, o radical hidroxila é o mais reativo e mais lesivo radical conhecido, para o qual, o organismo humano não dispõe de mecanismo de defesa, reage com uma série de endobióticos, causa modificação no DNA, danos às proteínas, inativação enzimática e peroxidação lipídica. O radical superóxido e o peróxido de hidrogênio são menos reativos, o primeiro participa de certos processos químicos importantes no

contexto biológico, dentre os quais o principal na produção de radical HO•, através da redução de quelatos. Os radicais peroxilas e alcoxilas formados durante a decomposição de peróxidos orgânicos e reações de carbono radicalar com oxigênio, como na peroxidação lipídica possuem reatividade intermediária (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; PIETTA, 2000; VASCONCELOS et al., 2007).

Normalmente, os seres vivos dispõem de mecanismo apropriado para controlar essas moléculas que incluem as enzimas superóxido dismutase, catalase, glutathione-peroxidase e os antioxidantes endógenos (glutathione, ácido úrico, α -tocoferol, coenzima Q10 (ubiquinona), retinol e ácido ascórbico). O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes, denominado estresse oxidativo, resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres (BIANCHI; ANTUNES, 1999; HALLIWELL, 2003; REUTER et al., 2010; VASCONCELOS et al., 2007). Neste contexto, muitos estudos têm demonstrado que efeitos deletérios dos radicais livres estão potencialmente relacionados à etiologia de diversas doenças crônicas não transmissíveis, tais como doenças cardiovasculares, neurológicas e algumas formas de câncer (Tabela 1) (BIANCHI; ANTUNES, 1999; CATANEO et al., 2008; VASCONCELOS et al., 2007).

Tabela 1. Doenças relacionadas ao estresse oxidativo

Doença
Aterosclerose, Síndrome de Bloom, Síndrome de Down, Kwashiorkor, Doença de Keshan
Doença de Parkinson, estados tóxicos causados por álcool, fumo, CCl ₄ etc.
Doença de Alzheimer, Asma, Artrite reumatóide, asbestose, Síndrome de Insuficiência Respiratória do Adulto
Esclerose múltipla
Doença granulomatosa crônica
<i>Diabetes mellitus</i> , anoxia, injúria da reperfusão, pré-eclâmpsia
Hipertensão arterial sistêmica
Hemocromatose idiopática, talassemia, anemia falciforme, doença de Wilson
Doença granulomatosa crônica, Deficiência de enzimas antioxidantes (Acatalasemia, por ex.)

Fonte: VASCONCELOS et. al., 2007

A oxidação dos lipídeos é uma das principais causas de deterioração dos alimentos. No processamento de alimentos várias operações favorecem às reações de oxidação cuja intensidade encontra-se diretamente relacionada a uma série de fatores intrínsecos e extrínsecos que constituem o potencial redox do sistema. Os ácidos graxos insaturados presentes nos alimentos são os compostos mais susceptíveis ao processo oxidativo, havendo uma dependência direta entre o grau de insaturação e a susceptibilidade à oxidação (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; SOARES, 2002).

Esta reação, também denominada de autooxidação, é descrita como uma reação em cadeia constituída por três etapas distintas: iniciação, propagação e terminação. Na primeira etapa são gerados os radicais livres 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. Nesta etapa se faz necessário a presença de espécies reativas de oxigênio (EROS) que possam atacar e abstrair o hidrogênio do carbono alílico da molécula de ácido graxo insaturado, deixando um elétron desemparelhado no carbono, formando um radical alila ($R\cdot$) ou propiciar a adição de um radical livre à dupla ligação (ANDREO; JORGE, 2006).

Uma vez formado o radical alila passa-se para a etapa de propagação, ocasião em que o radical alila, após rearranjo molecular, seguido pela adição do oxigênio triplete, origina o radical peroxila. Este radical por sua vez, abstrai 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 peroxila. Em decorrência da estabilização por ressonância de espécies radicais, a seqüência da reação, usualmente, é acompanhada pela mudança da posição da dupla ligação dando origem a isômeros que freqüentemente contêm grupos dienos conjugados (ARAÚJO, 2004; McCLEMENTS; DECKER, 2010).

Os radicais formados tendem a reagir sempre que possível. Entretanto, a redução da quantidade de ácido graxo insaturado presente no sistema, leva os radicais livres a ligarem-se uns aos outros, formando compostos estáveis. Esta

reação de terminação propicia a interrupção da etapa de propagação da reação em cadeia. Os produtos finais da oxidação lipídica são alcoóis, aldeídos, cetonas, ésteres e hidrocarbonetos, derivados da decomposição dos hidroperóxidos, além dos produtos de elevado peso molecular resultantes de reações de dimerização e polimerização (ARAÚJO, 2004; McCLEMENTS; DECKER, 2010). A formação de aldeídos e de outros compostos voláteis confere sabor e odor desagradáveis ao alimento, que afetam a qualidade do produto. Além disso, a oxidação lipídica compromete a qualidade nutricional do alimento uma vez que promove a degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, bem como a sua integridade e segurança, pois propicia a formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (RAMALHO; JORGE, 2006).

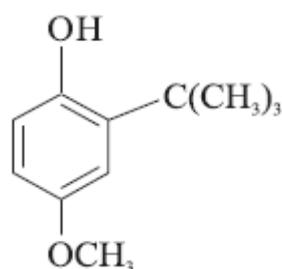
A garantia da qualidade dos produtos contendo lipídeos e o prolongamento do seu tempo de armazenamento está diretamente associado à estabilização da molécula lipídica que é conseguida por controle das condições do processo através da modificação das condições ambientais ou pela utilização de substâncias antioxidantes com a propriedade de impedir ou diminuir o desencadeamento das reações oxidativas (SOARES, 2002).

Os antioxidantes são capazes de inibir a oxidação de diversos substratos, de moléculas simples a polímeros e biosistemas complexos, por meio de dois mecanismos. O primeiro envolve a inibição da formação de radicais livres que possibilitam a etapa de iniciação. O segundo abrange a eliminação de radicais importantes na etapa de propagação, como alcoxila e peroxila, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia (NAMIKI, 1990; SIMIC; JAVANOVIC, 1994).

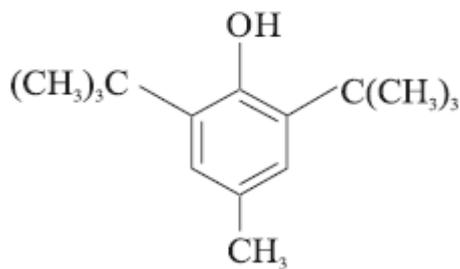
Diferentes centros de estudos vêm desenvolvendo pesquisas envolvendo compostos antioxidantes oriundos de fontes naturais, como exemplo, os que estão presentes em extratos de plantas, pois eles possuem um papel importante na redução da oxidação lipídica em tecidos, vegetal e animal, pois quando incorporado na alimentação humana não conservam apenas a qualidade do alimento, mas também reduz o risco de desenvolvimento de doenças crônicas não-transmissíveis (ANGELO; JORGE, 2007; BROINIZI et al., 2007).

AGENTES ANTIOXIDANTES

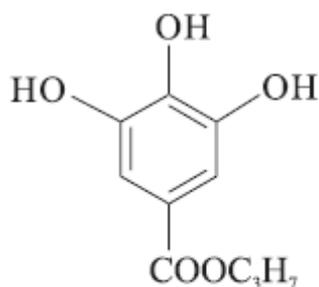
Antioxidantes são compostos que podem retardar ou inibir a oxidação de lipídios ou de outras moléculas, evitando o início ou propagação das reações em cadeia (ANTOLOVICH et al., 2002; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004). Segundo o mecanismo de ação, Ramalho e Jorge (2006) classificam os antioxidantes em primários e secundários. Os primários são compostos fenólicos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a etapa de iniciação ou de propagação da reação, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis e/ou reagindo com radicais livres, formando o complexo lipídio-antioxidante que pode reagir com outro radical livre, a exemplo do butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), galato de propila (PG), *terc*-butil-hidroquinona (TBHQ) (Figura 2), tocoferol e flavonóides. Os secundários atuam retardando a etapa de iniciação da autooxidação por diferentes mecanismos que incluem complexação com metais; sequestro de oxigênio; decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radical; absorção da radiação ultravioleta ou desativação de oxigênio singlete.

BHA

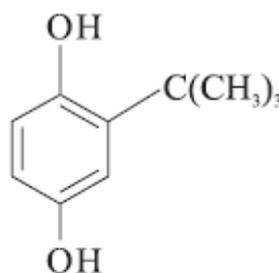
butil-hidroxi-anisol

BHT

butil-hidroxi-tolueno

PG

propil galato

TBHQ

terc-butil-hidroquinona

Figura 2. Estrutura de antioxidantes sintéticos.
(Fonte: RAMALHO; JORGE, 2006).

Ramalho e Jorge (2006), em sua revisão, além de classificar os antioxidantes em primários, os classificam em sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos. Os sinergistas são aqueles com pouca ou nenhuma ação antioxidante, mas, em combinação adequada com os primários, podem aumentar a atividade dos antioxidantes primários. Os removedores de oxigênio são compostos que atuam capturando o oxigênio presente no meio, através de reações químicas estáveis tornando-os, conseqüentemente, indisponíveis para atuarem como propagadores da autoxidação. Ácido ascórbico, seus isômeros e seus derivados são citados como os melhores exemplos deste grupo. A glucose oxidase, superóxido dismutase e catalases são enzimas consideradas antioxidantes biológicos, que podem atuar

removendo oxigênio ou compostos altamente reativos de um sistema. Os agentes quelantes/seqüestrantes atuam complexando íons metálicos, principalmente, cobre e ferro, que catalisam a oxidação lipídica. Os mais comuns são ácido cítrico e seus sais, fosfatos e sais de ácido etileno diamino tetra acético (EDTA). Os antioxidantes mistos incluem compostos de plantas e animais que têm sido amplamente estudados como antioxidantes em alimentos. Entre eles estão várias proteínas hidrolisadas, flavonóides e derivados de ácido cinâmico (ácido caféico).

Os antioxidantes sintéticos e naturais apresentam funções similares, no entanto, alguns estudos têm demonstrado que alguns antioxidantes sintéticos podem favorecer efeitos mutagênicos e carcinogênicos (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; KAUR; KAPOOR, 2001). Estudo toxicológico empregando butil hidroxitolueno (BHT) e butil hidroxianisol (BHA), inibidores sintéticos amplamente utilizados na indústria de alimentos, evidenciou em ratos o desenvolvimento de células cancerosas (MARINOVA; YANISHLIEVA, 2003). Foi constatado, também, que o TBHQ promoveu a redução do nível de hemoglobina e a hiperplasia de células basais, impondo aos órgãos responsáveis estabelecer limites para seu uso em alimentos. Vale ressaltar que o TBHQ foi proibido no Canadá e na Comunidade Econômica Européia. Enquanto que no Brasil, o Ministério da Saúde limitou o uso dos sintéticos, estabelecendo 200 mg/kg para BHA e TBHQ e 100 mg/g para BHT como concentrações máximas permitidas para uso em alimentos (RAMALHO; JORGE, 2006).

Os questionamentos sobre a inocuidade dos antioxidantes sintéticos têm impulsionado a busca por antioxidante natural que possa substituir ou reduzir o uso dos sintéticos. Além disso, alguns antioxidantes naturais, ainda, apresentam vantagem funcional, uma vez que exibem maior solubilidade em água e em óleo, tornando-os adequados para serem empregados em emulsões e em outras formulações, como os hidrogéis. Os resíduos agroindustriais destacam-se como fontes de antioxidantes naturais, uma vez que, geralmente, apresentam teor significativo de compostos bioativos. Assim, o emprego deste material para obtenção de antioxidante natural constitui um outro ponto positivo, tendo em vista que este material poderá ter um destino muito mais benéfico do que contribuir com a poluição ambiental, favorecendo o homem e o meio ambiente, evitando o desperdício de alimento (OLIVEIRA et al., 2009). Os antioxidantes naturais estão

amplamente contidos no reino vegetal, com destaque para as frutas, alimento nutricionalmente importante da dieta por serem reconhecidas fontes de vitaminas, minerais e fibras. Nos últimos anos, no entanto, evidências epidemiológicas têm demonstrado que o consumo regular de vegetais está associado à redução da mortalidade e morbidade por algumas doenças crônicas não transmissíveis. O efeito protetor exercido por estes alimentos tem sido atribuído à presença de fitoquímicos com ação antioxidante, dentre os quais se destacam os polifenóis, além do ácido ascórbico, da vitamina E e do β -caroteno (BRAVO, 1998; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; KAUR; KAPOOR, 2001; MARTINEZ-VALVERDE; PERIAGO; ROS, 2000; WANG; CAO; PRIOR, 1996). Estes fitoquímicos bioativos variam extensamente em estrutura química e, conseqüentemente, na função biológica. Entretanto, apresentam em comum as seguintes características: a) em sua maioria, são metabólitos secundários, geralmente, relacionados com os sistemas de defesa das plantas, protegendo-as contra a radiação ultravioleta ou a agressões de insetos ou patógenos; b) substâncias orgânicas, geralmente de baixo peso molecular; c) não são sintetizados pelo organismo humano, necessitando ser ingeridos em quantidades significativas através da dieta, de modo a propiciar proteção à saúde humana (HORST; LAJOLO, 2007). Dentre os fitoquímicos com propriedade antioxidante destacam-se o ácido ascórbico, vitamina E, β -caroteno e os polifenóis.

ÁCIDO ASCÓRBICO (VITAMINA C)

Ácido ascórbico, também denominado de vitamina C, com fórmula química $C_6H_8O_6$ (Figura 3), é uma molécula polar com 4 hidroxilas das quais duas encontram-se na posição $C=C$, podendo interagir entre si por ligação de hidrogênio (GREGORY III, 2010). A vitamina C é uma substância cristalina, hidrossolúvel e com sabor ácido. É insolúvel na maior parte dos solventes orgânicos. O calor, a exposição ao ar e o meio alcalino aceleram a sua oxidação, especialmente quando o alimento está em contato com o cobre, o ferro ou enzimas oxidativas. É frequentemente chamada de *L*-ácido ascórbico, para identificar suas moléculas como levóginas ao invés de *D*-destróginas. Atua no organismo em reação de óxido-redução, adicionando ou abstraindo átomos de

hidrogênio a uma molécula. Assim, o ácido ascórbico oxida-se ao sofrer ação de agentes oxidantes, que propiciam a abstração de dois átomos de hidrogênio da molécula, dando origem ao ácido desidroascórbico. Enquanto que a redução ocorre quando dois átomos de hidrogênio são adicionados ao ácido desidroascórbico, formando novamente o ácido ascórbico (ARANHA et al., 2000).

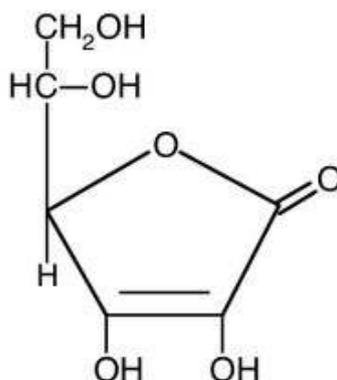


Figura 3. Estrutura química do ácido ascórbico

Desempenha funções em muitas reações e processos celulares e ainda está envolvido em muitas etapas bioquímicas, participando de diversos processos metabólicos, dentre eles a formação do colágeno e síntese de epinefrina, corticoesteróides e ácidos biliares. Além de co-fator enzimático, participa dos processos de óxido-redução, aumentando a absorção de ferro e a inativação de radicais livres, tais como radicais superóxidos, oxigênio singlete, peróxido de hidrogênio e radical peroxila (ARANHA et al., 2000; KLIMCZAK et al., 2007). Por ser altamente biodisponível é, portanto, o mais importante antioxidante hidrossolúvel em fluidos biológicos, eficiente sequestrador de espécies de oxigênio reativo, protegendo outros substratos de danos oxidativos e regenerando, por redução, outros antioxidantes, como α -tocoferol, glutathiona e β -caroteno (DOBLADO; FRÍAS; VIDAL-VALVERDE, 2007). Experimentos com animais têm demonstrado que a vitamina C previne o estresse oxidativo, realçando sua capacidade antioxidante, e reduz produtos da peroxidação lipídica (BAYERLE-EDER et al., 2004).

CAROTENÓIDES

Os carotenóides são isoprenóides, comumente constituídos por oito unidades de isoprenos, constituindo uma longa cadeia de polieno que pode conter de 2 a 15 ligações duplas conjugadas, que podem apresentar configuração *cis* ou *trans*. Entretanto, freqüentemente são encontrados na natureza carotenóides cujas ligações duplas encontram-se na forma *trans*. A luz, calor e presença de ácidos promovem a isomerização da forma *trans* para a *cis* (RODRIGUEZ-AMAYA, 2000).

Quimicamente, são classificados em carotenos, compostos constituído exclusivamente por carbono e hidrogênio, e em xantofilas, compostos que apresentam grupos substituintes com oxigênio, hidroxilas, grupos ceto e epóxi (RODRIGUEZ-AMAYA; PORCU; AZEVEDO-MELEIRO, 2007). Estes fitoquímicos são pigmentos naturais, amplamente distribuídos na natureza. Nas hortaliças, estão localizados nos cloroplastos e sua coloração é mascarada pela presença da clorofila. Entretanto, eles também existem nos cromoplastos nos tecidos não fotossintéticos onde são responsáveis pelas cores amarela, alaranjada e vermelha de muitos frutos e flores. Dos mais de 600 carotenóides existentes na natureza, aproximadamente 20 estão presentes em tecidos e no plasma humano, dos quais apenas seis em quantidades significativas: α -caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina, licopeno, luteína e zeaxantina (TOLEDO; BURLINGAME, 2006).

Somente plantas, bactérias, fungos e algas podem biossintetizar os carotenóides (STAHL; SIES, 2003), enquanto que os animais são incapazes, portanto, devem incorporá-los a sua dieta, pois desempenham papel importante na saúde humana (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999). Os carotenóides além de alguns serem provitamina A, exibem outras propriedades biológicas, terapêuticas e preventivas de vários tipos de distúrbios e enfermidades em humanos (COSTA et al., 2010; NUNES; MERCADANTE, 2004). Evidências científicas demonstram seu efeito na resposta imune, na comunicação intracelular e sua ação benéfica contra doenças relacionadas ao envelhecimento. Além disso, há indícios de que os carotenóides em associação com outros componentes presentes em frutas e hortaliças apresentam efeito protetor contra algumas doenças crônicas. O efeito sinérgico entre β -caroteno e vitaminas C e E está relacionado à proteção

celular. Esta ação, provavelmente, decorrente da capacidade do β -caroteno em reagir com os radicais livres, regenerando α -tocoferol a partir de radicais de tocoferol (UENOJO; MARÓSTICA JUNIOR; PASTORE, 2007).

A ação protetora dos carotenóides está relacionada à sua propriedade antioxidante, especificamente, à capacidade de sequestrar o oxigênio singlete e interagir com radicais livres (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008). A capacidade dos carotenóides de sequestrar o oxigênio singleto tem sido atribuída ao extenso sistema de duplas ligações conjugadas, exibindo a máxima ação aqueles que possuem nove ou mais duplas ligações (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA, 2004). Os carotenóides podem, também, capturar radicais peroxil mediante transferência de elétrons ou sequestro de átomos de hidrogênio, mecanismos que levam à formação de uma grande variedade de radicais carotenóides. A reação do carotenóide com o radical pode dar origem a diferentes produtos, dependendo da posição que o carotenóide ocupa na membrana lipídica, se orientado para a fase aquosa ou para a orgânica (EL-AGAMEY et al., 2004). Vale ressaltar que a ação antioxidante dos carotenóides é inversamente proporcional a sua concentração, uma vez que podem alterar as propriedades de membranas biológicas, influenciando a permeabilidade a toxinas, ao oxigênio ou metabólitos (CERQUEIRA et al., 2007).

POLIFENÓIS

Os compostos fenólicos ou polifenóis, quimicamente, podem ser definidos como substâncias que possuem um anel aromático contendo um ou mais grupos hidroxílicos incluindo os seus derivados funcionais. Possuem estrutura variável, constituindo um amplo grupo de substâncias, com mais de 8000 estruturas fenólicas conhecidas, que se encontram largamente distribuídas no reino vegetal (ANGELO; JORGE, 2007; BRAVO, 1998). Estes compostos originam-se do metabolismo secundário das plantas, são essenciais para o seu crescimento e reprodução, e são também sintetizadas quando a planta é submetida a condições de estresse como, infecções, ferimentos, radiações UV, dentre outros (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Os polifenóis, em função de sua estrutura química, apresentam propriedade antioxidante, podendo atuar como sequestradores de radicais livres e como quelantes de metais. Por exibir estas propriedades vem despertando o interesse face à possibilidade de serem utilizados na prevenção de várias doenças degenerativas, como envelhecimento prematuro, processos inflamatórios, cicatrização, câncer, entre outras (PESSUTO et al., 2009). Os polifenóis além de sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons na reação de oxido-redução, os produtos intermediários formados nesta reação, após a perda do hidrogênio, são relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentada por estas substâncias (CUVELIER et al., 1992; MAILLARD et al., 1996; McCLEMENTS; DECKER, 2010).

Integram o grupo dos polifenóis desde moléculas simples, tais como os ácidos fenólicos, até compostos altamente polimerizados, como os taninos. No grupo dos polifenóis destacam-se os flavonóides, os ácidos fenólicos, e os taninos por estarem largamente distribuídos no reino vegetal, podem ser encontrados em todas as frutas e vegetais (BROINIZI et al., 2007). Os flavonóides encontram-se presentes em frutas, folhas, sementes e em outras partes da planta na forma de glicosídeos ou agliconas. Estes compostos possuem estrutura fenilbenzopirona ($C_6-C_3-C_6$), onde as duas partes da molécula com seis carbonos são anéis aromáticos, denominados anel A e B, unidos por três carbonos que formam um anel γ pirano, denominado de anel C (Figura 4) (ERLUND, 2004). Flavonas, flavononas, flavonóis, isoflavonas, flavanóis, antocianinas e proantocianidinas são algumas classes pertencentes ao grupo dos flavonóides (HO; RAFI; GHAI, 2010).

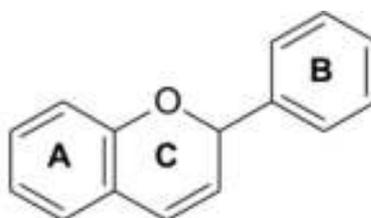


Figura 4. Núcleo básico dos flavonóides

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. A posição e o número de hidroxilas presentes na molécula influenciam a atividade antioxidante desses compostos e a hidroxilação do anel B é um fator importante para essa atividade. Acredita-se que a orto-dihidroxilação contribui marcadamente para a atividade antioxidante e que todo composto com hidroxilas na posição 3' e 4' no anel B apresenta propriedade antioxidante. Além da hidroxilação do anel B, outra importante característica é a presença do grupo carbonila na posição 4 e hidroxilas livres na posição 3 e/ou 5 (COOK; SAMMAN, 1996; ERLUND, 2004).

Estudos têm demonstrado que os flavonóides têm exercido efeitos benéficos sobre o organismo, inibindo a instalação de algumas doenças, incluindo câncer, doenças cardiovasculares e outros distúrbios neurodegenerativos. Muitas das ações biológicas dos flavonóides têm sido atribuídas às suas propriedades antioxidantes, através de sua capacidade de redução ou através de possíveis influências sobre o estado redox intracelular (WILLIAMS; SPENCER; RICE-EVANS, 2004).

Os ácidos fenólicos caracterizam-se por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos hidroxila e/ou metoxila na molécula. Estes compostos estão reunidos em dois grupos: derivados do ácido hidrobenzóico e derivados do ácido hidrocinâmico (Figura 5). No primeiro grupo os compostos apresentam sete átomos de carbono (C6-C1), constituído por um anel aromático e um grupo carboxílico ligado a este anel. O segundo reúne compostos com nove átomos de carbono (C6-C3), formando um anel aromático com uma cadeia carbônica, constituída por 3 carbonos, ligada ao anel (ANGELO; JORGE, 2007; SOARES, 2002).

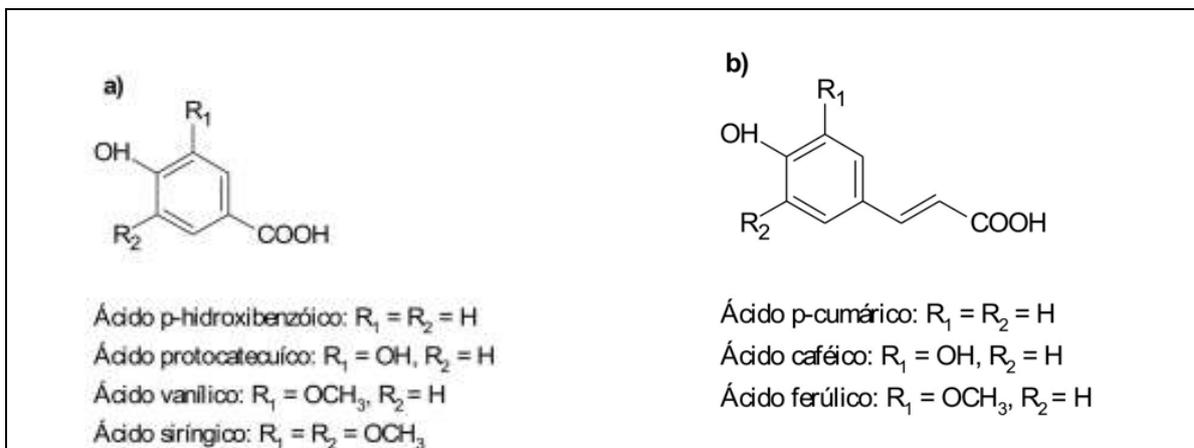


Figura 5. Estrutura química dos ácidos hidroxibenzóicos (a) e hidroxicinâmicos (b).

Os ácidos hidroxicinâmicos mais comuns são caféico, p-cumárico e ácido ferúlico, que frequentemente ocorrem em alimentos na forma de ésteres simples, a exemplo do ácido clorogênico, cuja molécula é constituída pelo ácido quínico esterificado com o ácido caféico. Também são encontrados na forma de glicosídeos ou ligados a proteínas e outros polímeros da parede celular e, raramente, como ácidos livres. Os derivados do ácido hidroxibenzóico estão presentes principalmente nos alimentos sob a forma de glicosídeos, os ácidos p-hidroxibenzóico, vanílico e protocatecuico são as formas mais comuns (MATTILA; HELLSTROM, 2007).

Dentro de cada grupo, os ácidos fenólicos diferem nos padrões de hidroxilações e metoxilações em seus anéis aromáticos. A hidroxila na posição *orto* com o grupo metoxil, doador de elétrons, é um fator que aumenta a estabilidade do radical fenoxil e aumenta a eficiência antioxidante do composto. A presença de 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. O efeito sequestrante de radical hidroxil parece estar diretamente correlacionado aos grupos hidroxil localizados na posição *para* no anel aromático (BALASUNDRAM et al., 2006). A natureza química destes compostos permite que atuem como agentes redutores, cessando a reação de oxidação através da doação de elétrons ou de hidrogênio

aos radicais livres, convertendo-os em produtos estáveis, ou complexando com metais, componentes iniciadores da oxidação lipídica (MELO et al., 2008).

Os taninos integram a classe dos compostos fenólicos que, em função de sua estrutura química, são classificados em condensados e hidrolisáveis. Os taninos condensados, denominados de proantocianidinas, são polímeros de flavonóides (flava-3-ol e flavan-3,4-diol), cujos monômeros são unidos por uma ligação carbono-carbono. Os taninos hidrolisáveis são ésteres do ácido gálico e do ácido elágico glicosilados, formados a partir do chiquimato, e apresentam grupos hidroxilas dos glicídios esterificados com ácidos fenólicos. Os taninos elágicos são muito mais freqüentes que os gálicos (AGOSTINI-COSTA; LIMA; LIMA, 2003; MONTEIRO et al., 2005; SANTOS-BUELGA; SCALBERT, 2000).

Eles são encontrados em muitas plantas usadas pelo homem que incluem as ervas medicinais, bem como aquelas usadas na alimentação e na fabricação de bebidas. Nas plantas, os taninos podem ser encontrados em todas as partes, tanto nas raízes, flores, frutos, folhas, cascas e caule. Eles contribuem para o sabor adstringente em alimentos e bebidas, a exemplo dos vinhos tintos, chás e frutas verdes. Alguns investigadores constataram que os taninos servem para proteger as plantas contra os herbívoros e as doenças patogênicas (QUEIROZ; MORAIS; NASCIMENTO, 2002). Segundo esses autores, os taninos condensados perfazem, aproximadamente, a metade da matéria seca da casca de muitas árvores. Constituem a segunda fonte de polifenóis do reino vegetal, perdendo apenas para a lignina. Além de serem potentes antioxidantes, possuem larga aplicação na complexação com proteínas, e, portanto muito empregados na indústria.

FRUTAS COMO FONTE DE ANTIOXIDANTE

Historicamente, as frutas têm sido um elemento necessário e comum na alimentação humana. Por conterem fitoquímicos com propriedade antioxidante, poderão ser vistas como antioxidante dietético contribuindo para aumentar a capacidade antioxidante do plasma, resultando em maior resistência do organismo a doenças crônicas não transmissíveis (KAUR; KAPOOR, 2001).

Portanto, estudos que facilitem a exploração e a expansão de seu cultivo são de caráter importante. Apesar disso, pouco se tem estudado sobre as frutas comestíveis nativas ou introduzidas nos trópicos. Muitas espécies poderiam ser exploradas, economicamente, porém o desconhecimento quase total de sua biologia apresenta-se como um fator limitante (NORONHA; CARDOSO; DIAS, 2000).

As regiões Norte e Nordeste do Brasil, em especial, produzem grande variedade de frutos tropicais, nativos e exóticos com boas perspectivas para exploração econômica (SACRAMENTO; SOUZA, 2000). Dentre as espécies frutíferas da região nordeste brasileira destaca-se as *Spondias sp.*, cujo extrativismo constitui fonte alternativa de renda para os pequenos produtores do semi-árido (CAVALCANTI et al., 1996).

O gênero *Spondias*, pertencente à família *Anacardiaceae*, possui 18 espécies, dentre elas, destacam-se, no Nordeste brasileiro, as espécies *Spondias mombin* L. (cajazeira), *Spondias purpurea* L. (ciriguela) e *Spondias tuberosa* Arr. Câm. (umbuzeiro). Estas espécies produzem frutos do tipo drupa, de aparência, aroma e sabor agradáveis, bastante apreciados para o consumo como fruta fresca ou na forma processada como polpa, sucos, doces, néctares, picolés e sorvetes, entre outros (GIACOMETTI, 1993; LIMA et al., 2002). Vale ressaltar que, especialmente no Nordeste brasileiro, estas espécies têm considerável importância social e econômica, pois seus frutos e produtos são amplamente comercializados nos mercados, supermercados e restaurantes da região.

CAJÁ-UMBU

A umbu-cajazeira (*Spondias* L.) (Figura 6 e 7), também denominada de cajá-umbuzeira, é uma das 18 espécies do gênero *Spondias* que no semi-árido nordestino encontra-se ao lado do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda). Considerada um híbrido natural entre o umbuzeiro e a cajazeira, apresenta copa globular, achatada, com altura entre 6 e 8 m e diâmetro que pode alcançar 20 m, cujo formato da planta parece com o do umbuzeiro, embora apresente diâmetro de copa visivelmente superior (CARVALHO et al., 2008).



Figura 6. Frutos de cajá-umbuzeiras provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA) (Itambé, 2009).

A diversidade genética de populações nativas de *Spondias* é ampla, e devem ser preservadas e avaliadas em Bancos de Germoplasma, visando à disponibilização de genótipos para exploração agroindustrial e programas de melhoramento genético (SOUZA, 2001). Neste contexto, a Estação Experimental de Itambé-PE do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), localizada na Zona da Mata de Pernambuco, tem se destacado no âmbito nacional pelos primeiros trabalhos científicos desenvolvidos em caracterização de frutos de *Spondias*, com o intuito de salvaguardar os genomas de interesse agrônomo. Dentre os Bancos de Germoplasmas de frutos deste gênero do IPA, destaca-se o do cajá-umbu, cujo material de propagação foi coletado em plantas selecionadas a partir de prospecções genéticas nas áreas de ocorrência espontânea nas Regiões do Agreste e Sertão de Pernambuco (Serra do Araripe). Atualmente, este banco possui 33 acessos, sendo cada acesso representado por 1 planta, cujas mudas foram obtidas por meio de propagação sexuada, e plantadas no espaçamento 12 x 12 m (LIRA JUNIOR et al., 2005).



Figura 7. Plantas de cajá-umbuzeiras do Banco de Germoplasma do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) (Itambé, 2009).

O crescente interesse por produtos saudáveis tem promovido expansão na agroindústria de frutas que vem incluindo em sua linha de produção frutas com características sensoriais bastante exóticas, provenientes, principalmente, da região Norte e Nordeste do país. Entretanto, mesmo com esse crescente interesse, inúmeras espécies frutíferas de excelentes propriedades nutricionais e sensoriais, com grande potencial de industrialização, continuam sem muito destaque. Dentro deste contexto encontra-se o cajá-umbu, não obstante ter sido alvo de algumas recentes pesquisas (CARVALHO et al., 2008; LIMA et. al., 2002; LIRA JUNIOR et al., 2005; NARAIN; GALVÃO; MADRUGA, 2007), quanto à sua composição e aproveitamento tecnológico, este fruto, ainda, apresenta uma grande escassez de dados científicos, especialmente no que concerne aos compostos bioativos presentes no fruto, bem como, seu potencial antioxidante.

OBJETIVOS

GERAL

Caracterizar os frutos de genótipos de cajá-umbuzeiras cultivadas no Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco - IPA.

ESPECÍFICOS

Delinear o perfil de fitoquímicos bioativos presentes nos frutos;

Identificar os carotenóides presentes nos frutos;

Definir o melhor procedimento para extração eficiente dos polifenóis;

Determinar o potencial antioxidante dos frutos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, C. A. Nutricines: Food components in health and nutrition. **Nottingham University Press**, v. 2, p.11-32, 1999.

AGOSTINI-COSTA, T. S.; LIMA, A.; LIMA, M. V. Determinação de tanino em pedúnculo de caju: Método da vanilina *versus* método do butanol ácido. **Química Nova**, vol. 26, p. 763-765, 2003.

ANDREO, D. JORGE, N. Antioxidantes naturais: Técnicas de extração. **BOLETIM CEPPA**, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, 66(1): 1-9, 2007.

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

ARANHA, F. Q.; BARROS, Z. F.; MOURA, L. S. A.; GONÇALVES, M. C. R.; BARROS, J. C.; METRI, J. C.; SOUZA, M. S. O papel da vitamina C sobre as alterações orgânicas no idoso. **Revista Nutrição.**, 13, p. 89-97, 2000.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3ed. UFV, Viçosa, 2004.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K., SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v.99, p. 191–203, 2006.

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

BAYERLE-EDER, M.; PLEINER, J.; MITTERMAYER, F.; SCHALLER, G.; RODEN, M.; WALDHÄUSL, W.; BIEGLMAYER, C.; WOLZT, M. Effect of systemic vitamin C on free fatty acid-induced lipid peroxidation. **Diabetes Metabolism**, 30, p. 433-9, 2004.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais Livres e os Principais Antioxidantes da Dieta. **Revista Nutrição**, 12, p.123-130, 1999.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Review**, v. 56, p.17-33, 1998.

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

CARVALHO, P. C. L.; RITZINGER, R.; SOARES FILHO, W. S.; LEDO, C. A. S. Características Morfológicas, Físicas e Químicas de Frutos de Populações de Umbu-Cajazeira no Estado da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 140-147, 2008.

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**, v. 29, n. 1, p. 93-102, 2008.

CAVALCANTI, N. B.; RESENDE, G. M.; BRITO, L. T. L.; LIMA, J. B. Extrativismo do imbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara) como fonte alternativa de renda para pequenos produtores no semi-árido nordestino: um estudo de caso. **Ciência e Agrotécnica**, v.20, n.4, p.525-528, 1996.

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

COSTA, T. S. A.; WONDRACEK, D. C.; LOPES, R. M.; VIEIRA, R. F.; FERREIRA, F. R. Composição de carotenóides em Canistel (*Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni). **Comunicação científica**, 2010.

COOK, N. C.; SAMMAN, S. Flavonoids---Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **Nutritional Biochemistry**, vol. 7, p. 66-76, 1996.

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

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades Antioxidantes de Compostos Fenólicos, **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DOBLADO, R.; FRÍAS, J.; VIDAL-VALVERDE, C. Changes in vitamin C content and antioxidant capacity of raw and germinated cowpea (*Vigna sinensis* var. carilla) seeds induced by high pressure treatment. **Food Chemistry**, v. 101, p.918–923, 2007.

EL-AGAMEY, A.; LOWE, G. M.; MCGARVEY, D. J.; MORTENSEN, A.; PHILLIP, D. M.; TRUSCOTT, T. G.; YOUNG, A. J. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/prooxidant properties. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 430, p. 37-48, 2004.

ERLUND, I. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. **Nutrition Research**, v. 24, p. 851–874, 2004.

GIACOMETTI, D. C. Recursos genéticos de frutíferas nativas do Brasil. In: Simpósio nacional de recursos genéticos de frutíferas nativas, 1, 1992, Cruz das Almas: **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, 1993. p. 13-27.

GREGORY III, J. F. Vitaminas. *In*: **Química de Alimentos de FENNEMA**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900p.

HALLIWELL, B. Oxidative stress in cell culture: an under-appreciated problem?. **Federation of European Biochemical Societies Letters**. 540, p.3-6, 2003.

HO, C. T.; RAFI, M. M.; GHAI, G. Substâncias Bioativas: Nutracêuticas e Tóxicas *In*: **Química de Alimentos de FENNEMA**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900p.

HORST, M. A.; LAJOLO, F. M. Biodisponibilidade de compostos bioativos de alimentos. In: Silvia Maria Franciscato Cozzolino.(Org.). **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 2 ed. São Paulo: Manole,1: 697-731, 2007.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. **International Journal of Food Science and Technology**, v.36, p.703-725, 2001.

KLIMCZAK, I.; MAŁECKA, M.; SZLACHTA, M.; GLISZCZYŃSKA-ŚWIGŁO, A. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. **Journal of Food Composition and Analysis**, 20, p. 313–322, 2007.

LIMA, E. D. P. A.; LIMA, C. A. A.; ALDRIGUE, M. L.; GONDIM, P. S. Caracterização física e química dos frutos da umbu-cajazeira (*Spondias* spp.) em cinco estádios de maturação, da polpa e néctar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 2, p. 338-343, 2002.

LIRA JÚNIOR, J. S.; MUSSER, R. S.; MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LEDERMAN, I. E.; SANTOS, V. F. Caracterização física e físico-química de frutos de cajá-umbu (*spondias* spp.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 757-761, 2005.

MAILLARD, M. N.; SOUN, M. H.; BOIVIN, P.; BERSET, C. Antioxidant activity of barley and malt: relationship with phenolic content. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v.29, n.3, p.238-244, 1996.

MARINOVA, E. M.; YANISHLIEVA, N. V. Antioxidant activity and mechanism of action of some phenolic acids at ambient and high temperatures. **Food Chemistry**, v. 81, p.189–197, 2003.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.50, n.1, p.5-18, 2000.

MATTILA, P.; HELLSTROM, J. Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, 2007.

McCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Lipídeos. *In: Química de Alimentos de FENNEMA*. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900p.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. vol. 44, n. 2, 2008.

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

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

NAMIKI, M. Antioxidants/antimutagens in food. **Journal of nutrition**, Boca Raton, v.29, p.273-300, 1990.

NARAIN, N.; GALVÃO, M. S.; MADRUGA, M. S. Volatile compounds captured through purge and trap technique in caja-umbu (*Spondias* sp.) fruits during maturation. **Food Chemistry**, v. 102, p. 726–731, 2007.

NORONHA, M. A. S.; CARDOSO, E. A.; DIAS, N. S. Características físico-químicas de frutos de umbu-cajá *Spondias* sp. provenientes dos pólos baixo-Jaguaribe (CE) e Assu-Mossoró (RN). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.2, n.2, p.91-96, 2000.

NUNES, I. L.; MERCADANTE, A. Z. Obtenção de Cristais de Licopeno a partir de descarte de Tomate. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, 24(3): p.440-447, 2004.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, p. 689-702, 2009.

PESSUTO, M. B.; COSTA, I. C.; SOUZA, A. B.; NICOLI, F. M.; MELLO, J. C. P. Atividade antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. **Química Nova**, vol. 32, p. 412-416, 2009.

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

QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, v.26, p.485-492, 2002

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, No. 4, 755-760, 2006.

REUTER, S.; GUPTA, S. C.; CHATURVEDI, M. M.; AGGARWA, B. B. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked?. **Free Radical Biology & Medicine**, 49, p.1603–1616, 2010.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J. Antioxidants – the case for fruit and vegetables in the diet. **British Food Journal**, v.97, n.9, p.35-40, 1995.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: ILSI Press, 1999. 64 p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Some considerations in generating carotenoid data for food composition tables. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 13, p. 641-647, 2000.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. **Harvestplus Handbook for Carotenoid Analysis**. Washington DC e Cali: International Food Policy Research Institute (IFPRI) e International Center for Tropical Agriculture (CIAT), 2004. 58 p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; PORCU, M. M.; AZEVEDO-MELEIRO, C. H. Variation in the carotenoid composition of fruits and vegetables along the food chain. **Acta Horticulturae**, v. 744, p. 387-394, 2007.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de Carotenóides**: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2008. 98p.

SACRAMENTO, C. K.; SOUSA, F. X. **Cajá (*Spondias mombin* L.)**. FUNEP, Jaboticabal. (Série Frutas Nativas, n. 4). 2000. 52p.

SANTOS-BUELGA, C, SCALBERT, A. Proanthocyanidins and tannin like compounds: nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of Science Food and Agriculture**. v..80, p.1094-111, 2000.

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**, v.22, 1999.

SIMIC, M. G., JAVANOVIC, S. V. Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis. **Food phytochemicals for cancer prevention**. p.20-33, 1994.

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

STAHL, W.; SIES, H. Antioxidant activity of carotenoids. **Molecular Aspects of Medicine**, 24, p. 345–351, 2003.

SOUZA, V. A. B. **Perspectivas do melhoramento de espécies nativas do Nordeste brasileiro**. In: Congresso Brasileiro de Melhoramento Genético de Plantas, 1, 2001, Goiânia. Resumos ... Goiânia: EMBRAPA Meio-Norte, 2001, p. 45.

TOLEDO, A., BURLINGAME, B., Biodiversity and nutrition: a common path toward global food security and sustainable development. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, p.477-483, 2006.

UENOJO, M.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R.; PASTORE, G. M. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**, v. 30, No. 3, 616-622, 2007.

VALKO, M.; RHODES, C. J.; MONCOLA, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, 160, p.1–40, 2006.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F. MOURA, J. B. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. S.; KUBOTA, L. T. Espécies Reativas de Oxigênio e de Nitrogênio, Antioxidantes e Marcadores de Dano Oxidativo em Sangue Humano: Principais Métodos Analíticos para sua Determinação. **Química Nova**, 30, p.1323-1338, 2007.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, n.3, p.701-705, 1996.

WILLIAMS, R. J.; SPENCER, J. P. E.; RICE-EVANS, C. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules?. **Free Radical Biology & Medicine**, vol. 36, p. 838 – 849, 2004.

RESULTADOS

**ARTIGO 1: CARACTERIZAÇÃO DE FRUTOS DE GENÓTIPOS DE
CAJÁ-UMBUZEIRAS: FITOQUÍMICOS BIOATIVOS**

RESUMO

Com o objetivo de caracterizar frutos de cajá-umbu quanto a presença de fitoquímicos bioativos, polpas de frutos de 4 genótipos (G 2.2; G 2.3; G 3.1; G 3.2) procedentes do Banco de Germoplasma do IPA (Instituto Agronômico de Pernambuco) foram utilizadas para a quantificação dos seguintes fitoquímicos: fenólicos totais, flavonóides totais, flavonóis, taninos condensados, ácido ascórbico e carotenóides. Os genótipos exibiram quantidade relevante de polifenóis (fenólicos totais, flavonóides, flavonóis e taninos condensados), porém, estes frutos apresentaram baixos teores de ácido ascórbico e carotenóides. O β -caroteno-5,6-5'6'-diepóxido foi o componente majoritário dos genótipos G 2.2; G 2.3; G 3.1, enquanto que a luteína-5,6 epóxido foi encontrada em maior quantidade no G 3.2. Assim, embora os frutos dos genótipos tenham exibido variações nos teores dos fitoquímicos bioativos, apresentam em sua constituição quantidades relevantes destes compostos, podendo contribuir com o aporte de antioxidante dietético.

Palavras-chave: Cajá-umbu; Carotenóides; Polifenóis totais.

ABSTRACT

This study was carried out to characterize “cajá-umbu” fruits for the presence of bioactive phytochemicals. Pulp of fruits of the 4 genotypes (G 2.2, G 2.3, G 3.1 and G 3.2) coming from the IPA (Instituto Agronômico de Pernambuco) germplasm collection were used for quantification of the phytochemicals following: total phenolics, total flavonoids, flavonols, condensed tannins, ascorbic acid and carotenoids. The genotypes exhibited significant amount of polyphenols (phenolic compounds, flavonoids, flavonols and tannins), but these fruits had low levels of ascorbic acid and carotenoids. The β -carotene 5,6-5'6'-diepoxide was the major component of genotypes G 2.2, G 2.3 and G 3.1, while lutein-5,6 epoxide was found in greater quantities in G 3.2. Thus, although the fruits of genotypes have shown variations in the levels of bioactive phytochemicals, present in its constitution relevant quantities of these compounds, which may contribute to the dietary intake of antioxidant.

Keywords: “Cajá-umbu”, Carotenoids, Total polyphenols.

INTRODUÇÃO

A vasta extensão territorial e ampla variação climática do Brasil possibilitam a ocorrência de uma das maiores diversidades de espécies frutíferas do mundo. As regiões Norte e Nordeste brasileira, em especial, produzem grande variedade de frutos tropicais, nativos e exóticos com boas perspectivas para exploração econômica (SACRAMENTO; SOUZA, 2000). Dentre as espécies frutíferas da região nordeste destaca-se a *Spondias sp.*, cujo extrativismo constitui fonte alternativa de renda para os pequenos produtores do semi-árido (CAVALCANTI et al., 1996).

Dentre as espécies do gênero *Spondias* destaca-se o cajá-umbuzeiro, frutífera nativa, ainda, em fase de domesticação, originada de possíveis cruzamentos naturais entre o cajá (*Spondias mombim* L.) e o umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) (LIMA et al., 2002). Esta espécie, encontrada espontaneamente nas regiões semi-áridas, sub-úmida e semi-úmida do Nordeste brasileiro, apresenta grande potencial agroindustrial (LIRA JÚNIOR et al., 2005). Seus frutos caracterizados como drupa arredondada, de cor amarela, casca fina e lisa, com endocarpo (caroço) grande, branco, suberoso e enrugado, apresentam aroma agradável e sabor agridoce. Quando maduros, atingem percentual médio de rendimento em polpa de 55,75% e teor médio de vitamina C de 17,75 mg.100g⁻¹ (GIACOMETTI, 1993; LIMA et al., 2002). A peculiaridade dos atributos sensoriais destes frutos, relacionados ao aroma e sabor, os fazem bastante apreciados, tanto para o consumo *in natura*, como também, na forma de sucos, doces, picolés e sorvetes.

A diversidade genética de populações nativas de *Spondias* é ampla, e deve ser preservada e avaliada em Bancos de Germoplasma, visando à disponibilização de genótipos para exploração agroindustrial e programas de melhoramento genético (SOUZA, 2001). Neste contexto, o Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) tem se destacado no âmbito nacional pelos primeiros trabalhos científicos desenvolvidos em caracterização de frutos de *Spondias* com o intuito de salvaguardar os genomas de interesse agrônomo.

O material de propagação do Banco de Germoplasma de cajá-umbuzeiro do IPA foi coletado em plantas selecionadas a partir de prospecções genéticas

nas áreas de ocorrência espontânea nas Regiões do Agreste e Sertão de Pernambuco (Serra do Araripe). Estes frutos foram alvo de pesquisas relacionadas à caracterização física e físico-química. Entretanto, ainda não foram caracterizados quanto aos fitoquímicos que exibem propriedade antioxidante. Além disso, o teor destes fitoquímicos em vegetais é amplamente influenciado por fatores genéticos, condições ambientais, além do grau de maturação e variedade da planta, entre outros. Estas constatações, motivaram a implementação deste estudo que teve como o objetivo quantificar os principais fitoquímicos bioativos dos frutos do cajá-umbuzeiro do Banco Ativo de Germoplasma do IPA.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Frutos maduros de 4 (quatro) genótipos (G 2.2; G 2.3; G 3.1; G 3.2) foram coletados, no meses de fevereiro e março de 2010, do Banco de Germoplasma, que se encontra instalado na Estação Experimental de Itambé - PE, pertencente ao Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA. Este banco encontra-se localizado na mesorregião da Mata Pernambucana, microrregião da Mata Setentrional (7°24'50" de latitude sul e 35°06'30" de longitude oeste), altitude de 190m acima do nível do mar. Esta localidade apresenta clima quente e úmido, com índice pluviométrico médio de 1200 mm/ano, temperatura média anual de 24° C e umidade relativa média do ar de 80%, com os meses mais chuvosos ocorrendo geralmente de abril a julho. Os frutos foram colhidos dos quatro quadrantes da árvore, utilizando delineamento inteiramente casualizado, e em seguida, acondicionados em caixa isotérmica, e imediatamente transportados para o Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos, do Departamento de Ciências Domésticas da UFRPE para serem higienizados e despulpados. As polpas frescas obtidas foram acondicionadas em sacos de polietileno e armazenadas, sob congelamento (-18°C), até o momento das determinações analíticas.

Métodos

Quantificação dos polifenóis

Fenólicos Totais

Extratos hidroacetônico, hidrometanólico e aquoso foram obtidos por processo de extração sequencial, utilizando acetona a 80%, metanol a 80% e água destilada. Neste sistema, 70g de polpa dos frutos foram mantidas, sob agitação permanente, a temperatura ambiente ($24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), por 20 minutos, com o primeiro solvente extrator (acetona a 80%), e em seguida, centrifugado a 3233g. O sobrenadante foi coletado, o precipitado ressuspensão no mesmo solvente, e submetido ao mesmo processo acima descrito, por mais dois períodos de 20 minutos, totalizando 60 minutos de extração. Ao término deste período de extração, sobrenadantes foram combinados, concentrados sob pressão reduzida a 40°C , e o volume final aferido para 50 mL. O precipitado foi reutilizado para a extração com o segundo solvente extrator (metanol a 80%) e, subseqüentemente, com o terceiro solvente extrator (água destilada) nas condições acima descritas. Os extratos obtidos foram submetidos à determinação do teor de fenólicos totais, por método espectrofotométrico, utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (Merck), segundo metodologia descrita por Wettasinghe e Shahidi (1999). O teor de fenóis totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com ácido gálico (20 a 240 $\mu\text{g}/\text{mL}$), e os resultados expressos em mg de fenólicos totais em equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 grama de polpa.

Flavonóides Totais

Para a extração dos flavonóides totais, 70g de polpa dos frutos foram mantidas, sob agitação permanente, a temperatura ambiente ($24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), por 20 minutos, com metanol a 80%, e em seguida, centrifugado a 3233g. O sobrenadante foi coletado, o precipitado ressuspensão no mesmo solvente, e submetido ao mesmo processo acima descrito, por mais dois períodos de 20 minutos, totalizando 60 minutos de extração. Ao término deste período de

extração, sobrenadantes foram combinados, concentrados sob pressão reduzida a 40° C, e o volume final aferido para 50 mL. A quantificação dos flavonóides totais foi efetuada por espectrofotometria, segundo método descrito por Dewanto et al. (2002), 5mL do extrato foram colocados em balão de 50mL, adicionou-se 1,5mL de NaNO₂ a 5%, 3mL de AlCl₃ a 10%, 10mL de NaOH 1M e o volume final aferido para 50 ml com água destilada. A absorbância foi registrada a 510nm, o teor de flavonóides totais determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com catequina (20 a 1.600 µg/mL), e os resultados expressos em mg de flavonoides totais em equivalente de catequina por 100 grama de polpa.

Taninos Condensados

Para a extração dos taninos condensados, 70g de polpa dos frutos foram mantidas, sob agitação permanente, a temperatura ambiente (24°C ± 2°C), por 20 minutos, com acetona a 80%, e em seguida, centrifugado a 3233g. O sobrenadante foi coletado, o precipitado ressuspenso no mesmo solvente, e submetido ao mesmo processo acima descrito, por mais dois períodos de 20 minutos, totalizando 60 minutos de extração. Ao término deste período de extração, sobrenadantes foram combinados, concentrados sob pressão reduzida a 40° C, e o volume final aferido para 50 mL. A quantificação dos taninos condensados foi efetuada pelo método descrito por Tiitto-Julkunen (1985). 1mL do extrato hidroacetônico, foi adicionado a 3mL de vanilina a 4% em metanol, a 1,5mL de HCl, e após repouso por 20 minutos, a absorbância foi registrada a 500nm. O teor de taninos condensados foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com catequina (2 a 40 µg/mL), e os resultados expressos em mg de taninos condensados em equivalente de catequina por 100 gramas de polpa.

Flavonóis Totais

A quantificação dos flavonóis totais foi efetuada por método espectrofotométrico descrito por Lees e Francis (1972), utilizando 5g de polpa do cajá-umbu. Para a extração, a polpa foi homogeneizada com solução de etanol a

95%, acidificada com ácido clorídrico 1,5N (85:15 v/v) e estocada a 4°C por 12h. Em seguida, as amostras foram filtradas, lavadas exaustivamente com a solução extratora e o volume final aferido para 100mL. O filtrado foi deixado em repouso, ao abrigo da luz, por 2h, a temperatura ambiente (24°C±2°C). Para a quantificação foi utilizado o espectro de absorção registrado no comprimento de onda de 374nm e coeficiente de absorção de 76,6. Os resultados foram expressos em mg de flavonóis em equivalente de quercetina por 100g de polpa.

Carotenóides

Extração e Fracionamento

Seguindo o procedimento analítico descrito por Rodriguez-Amaya (1999), 5g de polpa de cajá-umbu foram maceradas com acetona para a extração dos pigmentos que, em seguida, foram transferidos para éter de petróleo por partição. Uma alíquota de 10 mL dos pigmentos extraídos foi aplicada em uma coluna de vidro (1,5 x 21 cm), empacotada com celite e óxido de magnésio na proporção de 2:1 até a altura aproximada de 15cm, tendo no topo aproximadamente 1cm de sulfato de sódio anidro (Figura 1). Como fase móvel, foram utilizados, éter de petróleo, éter etílico em éter de petróleo (1%, 4%, 8%, 12%, 20%, v/v), acetona em éter de petróleo (4%, 12%, 20% e 25%, v/v) e acetona (100%). As frações eluídas com acetona em éter de petróleo foram transferidas para o éter de petróleo em funil de separação e lavadas exaustivamente até a remoção completa da acetona.



Figura 1. Coluna cromatográfica de frutos de genótipos de cajá umbuzeiros cultivados no Banco de Germoplasma do IPA (Instituto Agronômico de Pernambuco), em Itambé-PE.

Identificação e Quantificação

As frações eluídas na coluna foram concentradas em evaporador rotatório à vácuo a temperatura de 35°C e os espectros de absorção UV-visível (350–550 nm), foram obtidos utilizando espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC) e comparados com os valores descritos por Rodriguez-Amaya (1999), Britton (1991) e Davies (1965). A determinação quantitativa de cada fração foi efetuada considerando a sua absorção máxima ($\lambda_{\text{máx}}$) e o coeficiente de absorção ($E^{1\%}_{\text{cm}}$), cujos padrões, encontram-se disponíveis na literatura (BRITTON, 1991; DAVIES, 1965; RODRIGUEZ-AMAYA, 1999). O teor de carotenóides, expressos em $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ foi calculado usando a seguinte expressão matemática:

$$\mu\text{g/g} = \frac{\text{Volume} \times \lambda_{\text{máx}} \times 10^6}{E^{1\%}_{\text{cm}} \times \text{peso amostra}}$$

Uma alíquota das frações eluídas na coluna foi aplicada em placa de sílica gel 60-F₂₅₄, 20x20 cm, com 0,25 mm de espessura (Merck) que foi desenvolvida com metanol em tolueno a 5%. Para cada mancha evidenciada foi calculado o valor de R_f. Em seguida, as placas foram expostas ao vapor de HCl para detectar

a presença de epóxidos, considerada positiva quando as manchas amarelas do cromatograma tornaram-se azuis ou verdes.

Ácido Ascórbico

O teor de ácido ascórbico foi determinado por titulometria, utilizando 2,6 diclorofenol indofenol, segundo metodologia descrita na AOAC (2005).

Análise Estatística

Todas as determinações foram efetuadas em triplicata, conduzidas ao abrigo da luz, e os resultados submetidos à análise de variância e teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico “Statistic - for Windows”, versão 7.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de fitoquímicos bioativos da polpa dos 4 genótipos de cajá-umbu do Banco de Germoplasma do IPA encontra-se na Tabela 1. Os valores de fenólicos totais referem-se ao somatório dos quantitativos obtidos a partir dos extratos hidroacetônico, hidrometanólico e aquoso. A análise dos dados evidencia-se que os genótipos G 2.3 e G 3.2, com 188,87 e 184,11mg EAG/100g de polpa, respectivamente, destacaram-se por apresentarem os maiores teores de fenólicos totais, sem contudo, diferir estatisticamente do G 2.2.

Os frutos destes genótipos exibiram teor de fenólicos totais, superior ao do umbu, semelhante ao do cajá, e inferior ao da ciriguela, frutos do mesmo gênero botânico. Umbu maduro e semi maduros apresentaram 32,70 e 38,03 mg.100g⁻¹ de fenólicos totais, respectivamente (MELO; ANDRADE, 2010). Em polpas *in natura* de cajá e ciriguela, Caetano et al. (2008) detectaram teor de fenólicos totais de 184,16 mg.100g⁻¹ e de 337,79 mg.100g⁻¹, respectivamente. Vasco, Ruales e Kamal-Eldin (2008) relatam teor de 462 mg EAG/100g para polpa de ciriguela. No entanto, em frutos provenientes de Fortaleza-CE, o teor de fenólicos

totais em cajá ($72 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) e em umbu ($90,4 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) foi inferior aos dos frutos deste estudo (RUFINO et al., 2010).

Tabela 1. Fitoquímicos bioativos em frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agrônômico de Pernambuco, em Itambé-PE.

Fitoquímicos	Genótipos			
	G 2.2	G 2.3	G 3.1	G 3.2
Fenólicos totais*	$149,07 \pm 7,02^{ab}$	$188,86 \pm 44,36^a$	$110,61 \pm 3,08^b$	$184,11 \pm 25,76^a$
Flavonóides**	$1,95 \pm 0,08^b$	$2,02 \pm 0,05^b$	$2,37 \pm 0,26^a$	$1,97 \pm 0,19^b$
Taninos condensados**	$43,09 \pm 3,17^a$	$42,77 \pm 9,79^a$	$48,24 \pm 2,32^a$	$46,58 \pm 10,87^a$
Flavonóis***	$2,78 \pm 0,07^a$	$2,80 \pm 0,08^a$	$2,59 \pm 0,10^a$	$2,64 \pm 0,39^a$
Ác. Ascórbico****	$6,1 \pm 0,35^b$	$6,9 \pm 0,20^{ab}$	$6,1 \pm 0,69^b$	$7,3 \pm 0,20^a$

* mg EAG/100g polpa. EAG – Equivalente em Ácido Gálico; ** mg em equivalente de catequina. 100g^{-1} polpa; *** mg em equivalente de quercetina. 100g^{-1} polpa; **** mg / 100g^{-1} polpa. Médias seguidas por letras iguais, na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ($p > 0,05$).

O teor de fenólicos totais dos frutos de todos os genótipos, embora seja relevante, foi inferior ao encontrado em abacaxi, manga e maracujá (362, 557 e $367 \text{ mg EAG} / 100\text{g}$ de polpa, respectivamente) (PRADO, 2009), e em goiaba ($249 \text{ mg EAG} / 100\text{g}$ de polpa) (VASCO; RUALES; KAMAL-ELDIN, 2008). Porém, superior ao da manga e do maracujá (60 e $61 \text{ mg EAG} / 100\text{g}$ de polpa), provenientes do Equador, bem como, da goiaba e do maracujá (83 e $20 \text{ mg EAG} / 100\text{g}$ de polpa) procedentes da região sul do Brasil (KUSKOSKI et al., 2005)

Em relação ao teor de flavonóides, o genótipo G 3.1 diferenciou-se significativamente dos demais genótipos por exibir o mais elevado teor destes fitoquímicos. Entretanto, ao comparar estes valores com o de outros frutos, evidencia-se que, independente do genótipo, os frutos em estudo exibiram baixo teor destes fitoquímicos. Em maçã, variedade Gala, proveniente da estação experimental de New York, o teor de flavonóides totais foi de $62 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de polpa (KIM; JEONG; LEE, 2003), enquanto que em amora preta, cultivar Tupy, provenientes da CEASA de Campinas–SP, o teor deste fitoquímico foi de $173 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ (FERREIRA; ROSSO; MERCADANTE, 2010).

O teor de taninos condensados e de flavonóis totais dos frutos dos genótipos variou de 42,77 a 48,24 mg.100g⁻¹ em equivalente de catequina, e de 2,6 a 2,8 mg em equivalente de quercetina 100g⁻¹, respectivamente. A análise estatística dos dados revela não haver diferença estatística entre os genótipos para estes constituintes. Valores bastante superiores foram encontrados por Mattietto, Lopes e Menezes (2010) para taninos condensados em polpa de cajá provenientes de Belém-PA (299,81 mg.100g⁻¹), e por Musser et al. (2004) para flavonóis totais em acerolas do banco ativo de Germoplasma de Pernambuco (5,9 a 22,2 mg em equivalente de quercetina 100g⁻¹). Outros frutos, no entanto, apresentaram valores inferiores aos dos genótipos de cajá-umbu, a exemplo da Manga cv. Espada, Melão cv. Espanhol, Mamão cv. Formosa e Abacaxi, procedentes do Centro de Abastecimento Alimentar de Pernambuco (CEASA – PE), com teor de flavonóides totais de 1,52; 0,32; 1,20 e 1,17 mg em equivalente de quercetina 100g⁻¹, respectivamente (MELO et al., 2006).

Considerando o somatório de todos os polifenóis quantificados (Tabela 1), evidencia-se que os frutos dos genótipos G 2.3 e G.3.2 apresentaram os mais elevados teores (236,53 e 235,30mg. 100g⁻¹), seguidos pelos frutos dos genótipos G 2.2 (196,89 mg. 100g⁻¹). Enquanto que os frutos do genótipo G 3.1 se destacam por apresentarem o menor teor de polifenóis totais (163,81 mg.100g⁻¹). Estes compostos, de estrutura química variável, mas que têm em comum a presença de anel aromático contendo um ou mais grupos hidroxílicos, incluindo os seus derivados funcionais, apresentam propriedade antioxidante, podem atuar como sequestradores de radicais livres e como quelantes de metais. (ANGELO; JORGE, 2007; BRAVO, 1998; PESSUTO et al., 2009; SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992). Assim, a ação antioxidante dos vegetais, em especial das frutas, tem sido atribuída, principalmente a estes fitoquímicos (KAUR; KAPOOR, 2002; MARTINEZ-VALVERDE; PERIAGO; ROS, 2000).

Os frutos dos genótipos estudados apresentaram teor de ácido ascórbico que variou de 6,1 a 7,3 mg.100g⁻¹. Com destaque para o genótipo G 3.2 que exibiu o maior teor, sem, contudo diferir do G 2.3. Os demais genótipos apresentaram o menor teor, não havendo diferença estatisticamente entre eles. O teor de ácido ascórbico dos frutos dos genótipos de cajá-umbu deste estudo encontra-se próximo dos valores relatados por outros autores. Em cajá-umbu

proveniente do Município de Areia-PB, Lima et al. (2002) quantificaram, em frutos de 5 estádios de maturação, teor de ácido ascórbico de 8,6 a 13,7 mg.100g⁻¹. Os frutos com menor e maior quantidade de ácido ascórbico foram aqueles que se apresentavam no estádio de maturação maduro (fruto totalmente amarelo-alaranjado) e verde (fruto totalmente verde), respectivamente. Como acontece com outros frutos tropicais, o teor deste constituinte é maior nos frutos verdes, e diminui em função do grau de maturação. Em frutos maduros de 50 diferentes genótipos de cajá-umbuzeiro da Bahia o teor de ácido ascórbico variou de 3,8 a 16,4 mg.100g⁻¹ (CARVALHO et al., 2008). Santos et al. (2011) relatam que frutos de cajá-umbu comercializados no Recôncavo Sul da Bahia exibiram um teor médio de ácido ascórbico de 8,0 mg.100mL⁻¹. Por outro lado, Silva (2008) detectou em frutos maduros (frutos amarelo-alaranjado) de genótipos de cajá-umbuzeira, provenientes do Município de Iguatu-CE, uma variação de 16,77 a 34,18 mg/100g de ácido ascórbico. Os valores relatados por este autor foram bastante superiores aos dos frutos deste estudo.

Frutos de outras espécies, porém do mesmo gênero, exibiram teor de ácido ascórbico superior ao do cajá-umbu em estudo. Costa et al. (2010) relatam que em diferentes genótipos de ciriguela o teor de ácido ascórbico foi 11,66 a 15,96 mg .100g⁻¹, enquanto que em 32 genótipos de umbu, provenientes de Petrolina-PE, o teor deste constituinte encontrava-se entre 44,01 e 71,05 mg.100g⁻¹ (DANTAS JUNIOR, 2008).

Além do grau de maturação, o teor de ácido ascórbico em vegetais pode ser influenciado por vários fatores, dentre os quais podem ser citados: espécie e cultivar do vegetal, condições climáticas e edáficas do plantio, práticas culturais do cultivo, tratamento pós-colheita, métodos de colheita, entre outros (LEE; KADER, 2000). Desta forma, as diferenças encontradas entre os teores de ácido ascórbico dos genótipos em estudo e dos frutos da mesma espécie e de espécies diferentes, mas do mesmo gênero botânico, podem ser justificadas.

Assim como outros frutos de coloração amarela, o cajá-umbu apresenta carotenóides em sua composição. Estes fitoquímicos são isoprenóides, comumente constituídos por oito unidades de isoprenos, formando uma longa cadeia de polieno, contendo de 2 a 15 ligações duplas conjugadas. A estes compostos têm sido atribuída propriedades biológicas, terapêuticas e preventivas

de vários tipos de distúrbios e enfermidades em humanos (AGOSTINI COSTA et al., 2010; NUNES; MERCADANTE, 2004). A ação protetora dos carotenóides está relacionada à sua propriedade antioxidante, especificamente, à capacidade de sequestrar o oxigênio singleto e interagir com radicais livres (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Dos pigmentos extraídos dos frutos dos genótipos de cajá-umbuzeiro, 5 frações foram obtidas usando cromatografia de coluna. A primeira foi eluída com éter de petróleo, a segunda, terceira e quarta com éter etílico em éter de petróleo, e a quinta com acetona em éter de petróleo. No espectro de absorção UV-visível (350–550nm) destas frações foi constatada a existência de três picos bem definidos (Figura 2), característicos da maioria dos carotenóides.

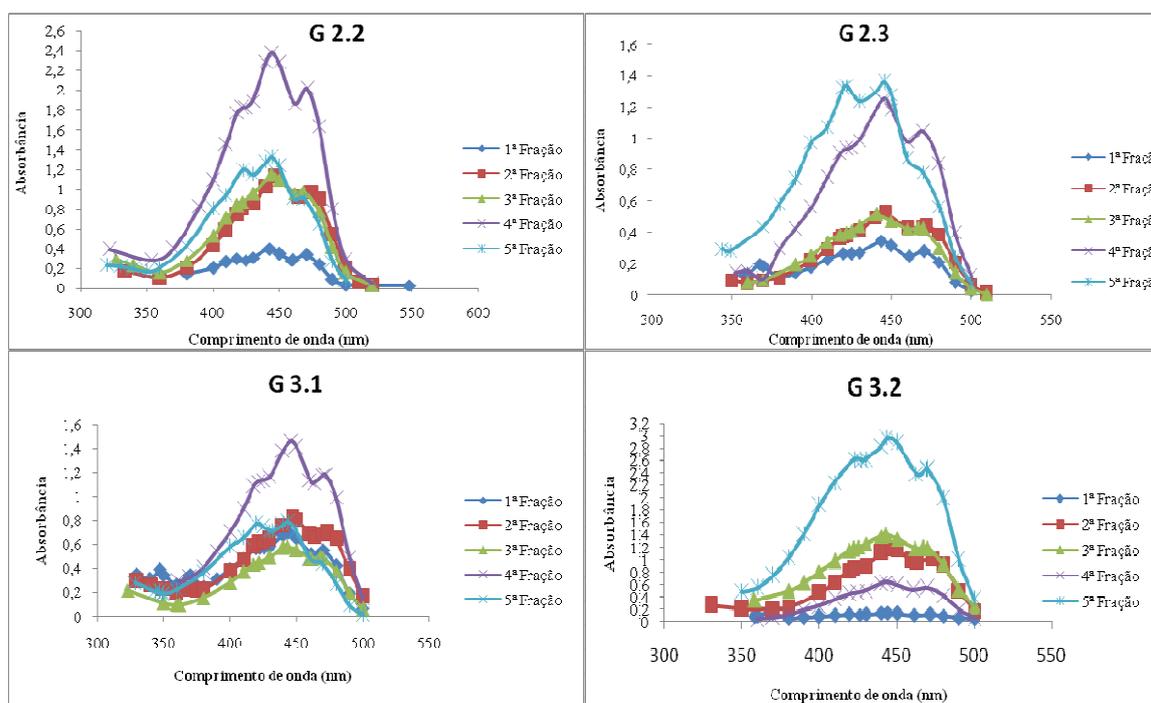


Figura 2. Espectro de absorção UV-Visível dos carotenóides de frutos de genótipos de cajá umbuzeiros cultivados no Banco de Germoplasma do IPA (Instituto Agrônômico de Pernambuco), em Itambé-PE.

Considerando os valores de $\lambda_{\text{máx}}$ relatados na literatura, verificou-se através do espectro de absorção das frações que o pigmento da 1ª fração apresentava características do α -caroteno, com espectro de absorção na região visível de $\lambda_{\text{máx}}$ 422, 442 e 471 nm. A 2ª fração foi identificada como β -caroteno-

5,6-epóxido ($\lambda_{\text{máx}}$ 422, 447 e 472nm), a 4^a fração como β -caroteno-5,6-5'6' diepóxido ($\lambda_{\text{máx}}$ 422, 447 e 472nm), e a 5^a fração como luteína-5,6 epóxido ($\lambda_{\text{máx}}$ 420, 443 e 470nm). Entretanto, não foi possível identificar o pigmento da 3^a fração, porém as características espectrais e cromatográficas desta fração permitem inferir que se trata de um caroteno.

Em produtos de cajá (suco e polpa), comercializados em Campinas-SP, Hamano e Mercadante (2001) detectaram a presença de α -caroteno, β -caroteno e luteína. Corroborando com os autores acima, Rodriguez-Amaya, Kimura e Amaya-Farfan (2008) relatam a presença do α -caroteno, β -caroteno, β -critoxantina e luteína em polpa de cajá (*Spondias lutea*). Assim, dos quatro carotenóides identificados em genótipos de umbu-cajá neste estudo, três (α -caroteno, β -caroteno e luteína, estando o β -caroteno e a luteína na forma epóxido), também, foram encontrados em cajá, fruto do mesmo gênero botânico. A identificação de epóxidos nos genótipos estudados deve ser vista com cautela uma vez que podem ter sido formados durante o processamento das polpas, bem como, extração e análises dos pigmentos, apesar de que todo procedimento analítico foi conduzido de forma a minimizar a formação de artefatos. Entretanto, Rodriguez-Amaya, Kimura e Amaya-Farfan (2008), ressaltam que a predominância de β -caroteno e quantidades substanciais de epóxidos, entre outros, são comuns em frutas.

Na cromatografia de camada delgada, as frações, com exceção da 1^a, quando foram expostas a vapores de HCl apresentaram coloração azul ou verde, característica dos epóxidos. As quatro primeiras frações (1^a a 4^a fração) apresentaram valores de R_f de 0,99 a 0,97, enquanto que o R_f da 5^a fração foi inferior a 0,50 (Tabela 2). Os valores de R_f da 1^a a 4^a fração são característicos dos carotenos, enquanto que o da 5^a fração é característico das xantofilas.

Tabela 2. Características cromatográficas dos carotenóides presentes em frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agrônômico de Pernambuco, em Itambé-PE.

Genótipos (2.2; 2,3; 3.1; 3,2)				
Frações	$\lambda_{\text{Máx.}}$ (nm)	Rf	Vapor de HCl	Pigmento
1 ^a	440	0,98	-	α -caroteno
2 ^a	447	0,97	+	5,6 epóxido β -caroteno
3 ^a	441	0,99	+	Não identificado
4 ^a	444	0,99	+	5,6- 5,6' diepóxido β -caroteno
5 ^a	443	0,31	+	Luteína 5,6 epóxido

Os teores de carotenóides calculados a partir dos coeficientes de absorção ($E^{1\%_{\text{cm}}}$) de 2800, 2590, 2500, 2690 e 2800 referentes ao α -caroteno, β -caroteno-5,6-epóxido, caroteno equivalente ao β -caroteno (fração não identificada), β -caroteno-5,6-5'6'diepóxido e a luteína 5,6 epóxido, respectivamente, citados por Rodriguez-Amaya (1999) e Britton (1991), encontram-se na Tabela 3. A polpa de cajá-umbu dos genótipos estudados apresentou teor de carotenóides de 6,67 a 11,44 $\mu\text{g/g}$, com destaque para a polpa do genótipo 2.3 que exibiu o menor valor. Evidencia-se, portanto, que todos os genótipos exibiram a mesma composição de carotenóides, porém o perfil quantitativo foi diferenciado. Os genótipos G 2.2; G 2.3 e G 3.1 exibiram maior concentração de β -caroteno-5,6- 5'6'diepóxido (4^a fração) enquanto que no genótipo G 3.2, a luteína-5,6 epóxido (5^a fração) encontra-se em maior proporção (Tabela 3). Segundo Rodriguez-Amaya, Kimura e Amaya-Farfan (2008), diferenças qualitativas e, especialmente, quantitativas são resultantes de fatores como variedade/cultivar, grau de maturação, condições edafoclimáticas, entre outros. Ressaltam, ainda, que diferenças entre cultivares de um mesmo produto agrícola estão bem documentadas.

Tabela 3. Teor de carotenóides presentes nas frações dos 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco, Itambé-PE.

Genótipos	Frações (µg/g)					Total
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	
G 2.2	0,64	2,18	1,83	4,43	2,36	11,44
G 2.3	0,60	1,02	1,03	2,32	1,70	6,67
G 3.1	0,61	1,58	1,12	2,44	1,41	7,16
G 3.2	0,26	1,65	2,24	0,89	5,28	10,32

Diferenças quantitativas na composição de carotenóides em 5 lotes de maracujá-amarelo comercializados em Campinas-SP, também, foram detectadas por Silva e Mercadante (2002). O perfil de carotenóides destes frutos era constituído pelos seguintes pigmentos: β -criptoxantina, prolicopeno, cis- ζ -caroteno, ζ -caroteno, β -caroteno e 13-cis- β -caroteno. Entretanto foi constatado que nos frutos de dois lotes o ζ -caroteno era o pigmento majoritário, enquanto que em outros dois lotes o β -caroteno encontrava-se em maior concentração, e o cis- ζ -caroteno estava presente em maior proporção em um dos lotes. Os autores atribuem essa variação, provavelmente, à procedência das amostras que podem ser de localidades diferentes, assim como, ao clima e solo do plantio, e ao grau de maturação dos frutos.

Comparando o teor de carotenóides totais deste estudo (somatório dos teores dos pigmentos que foram fracionados) com o de outros frutos do mesmo gênero botânico, cujo teor de carotenóides totais está expresso em equivalente de β -caroteno, pois os pigmentos não foram fracionados, evidencia-se que os frutos de cajá-umbuzeiro exibem menor teor destes constituintes (6,67 a 11,44 µg/g). Costa et al. (2010) e Mattietto, Lopes e Menezes (2010) relatam valores de 20,51 a 27,93 µg.g⁻¹ em equivalente de β -caroteno para ciriguela e de 28,30 µg.g⁻¹ em equivalente de β -caroteno para cajá, respectivamente. No entanto, em umbu, maduro e semi-maduro, o teor de carotenóides foi mais baixo (3,02 \pm 0,22 e 1,70 \pm 0,08 em equivalente de β -caroteno, respectivamente) do que o dos genótipos estudados (MELO; ANDRADE, 2010). Nesses trabalhos, como não foi efetuado o fracionamento dos carotenóides, a sua quantificação foi determinada

considerando o λ Máx e o coeficiente de absorvidade do β -caroteno, recomendado para a quantificação de carotenóides não fracionados, o que possivelmente contribuiu para uma super ou sub quantificação dos pigmentos dos frutos.

CONCLUSÕES

Os genótipos de cajá-umbu do Banco de Germoplasma do IPA apresentaram teor relevante de polifenóis totais, baixos teores de ácido ascórbico e de carotenóides. O β -caroteno-5,6-5'6'-diepóxido foi o componente majoritário dos genótipos G 2.2; G 2.3; G 3.1, enquanto que a luteína-5,6 epóxido foi encontrada em maior quantidade no G 3.2.

Embora os frutos de cajá-umbuzeiro exibam variações dos teores dos fitoquímicos entre os genótipos, apresentam em sua constituição quantidades relevantes destes compostos bioativos, podendo contribuir com o aporte de antioxidante dietético.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINI-COSTA, T. S.; WONDRACEK, D. C.; LOPES, R. M.; VIEIRA, R. F.; FERREIRA, F. R. Composição de carotenóides em Canistel (*Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni). **Comunicação científica**, 2010.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.66, n.1, p.1-9, 2007.

AOAC INTERNATIONAL. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16th ed. Gaithersburg: AOAC International, 2005.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Review**. v.56, p.17-33, 1998.

BRITTON, G. Carotenoids. In: Britton, G. **Methods in Plant Biochemistry**. London: Academic Press, vol. 7, p. 473-518, 1991.

CAETANO, A. C. S.; ARAÚJO, C. R.; MELO, E. A.; LIMA, V. L. A. G; MACIEL, M. I. S. Avaliação da atividade antioxidante de extratos de polpa e resíduos de cajá e ciriguela. In: Simpósio Brasileiro sobre umbu, cajá e espécies afins, 2008, Recife. **Anais...Recife: IPA**, 2008, CD-ROM.

CARVALHO, P. C. L.; RITZINGER, R.; SOARES FILHO, W. S.; LEDO, C. A. S. Características morfológicas, físicas e químicas de frutos de populações de umbu-cajazeira no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 140-147, 2008.

CAVALCANTI, N. B.; RESENDE, G. M.; BRITO, L. T. L.; LIMA, J. B. Extrativismo do imbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara) como fonte alternativa de renda para pequenos produtores no semi-árido nordestino: um estudo de caso. **Ciência e Agrotécnica**, v.20, n.4, p.525-528, 1996.

COSTA, M. G. P.; FIGUEIREDO, F. J.; ANDRADE, R. A. M. S.; SILVA, Q. J.; MELO, E. A.; LIMA, V. L. A. G. Teor de ácido Ascórbico, carotenóides totais e avaliação cromática de polpa de Ciriguela (*Spondias Purpurea* L.). In: II Simpósio

de Ciência e Tecnologia de Alimentos e I Congresso do Instituto Nacional de Frutos Tropicais, 2010, Aracajú. **Anais...** Aracajú:SBCTA, 2010, CD-ROM.

DAVIES, B. H. Analysis of carotenoid pigments. In: Goodwin, T.W. **Chemistry and biochemistry of plants pigments**. Academic press. p. 489 – 532, 1965.

DANTAS JUNIOR, O. R. **Qualidade e Capacidade Antioxidante Total de Frutos de Genótipos de Umbuzeiro oriundos do Semi-Árido Nordestino**. UFPB/CCA. 106 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Areia, 2008.

DEWANTO, V.; WU, X.; ADOM, K. K.; LIU, R. H. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.10, p. 3010-3014, 2002.

FERREIRA, D. S.; ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Compostos bioativos presentes em amora-preta (*Rubus* spp.). **Revista Brasileira Fruticultura**. v. 32, n. 3, p. 664-674, 2010.

GIACOMETTI, D. C. Recursos genéticos de frutíferas nativas do Brasil. In: Simpósio nacional de recursos genéticos de frutíferas nativas, 1, 1992, Cruz das Almas: **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, p. 13-27, 1993.

HAMANO, P. S.; MERCADANTE, A. Z. Composition of Carotenoids from Commercial Products of Caja (*Spondias lutea*). **Journal of Food Composition and Analysis**, 14, p.335-343, 2001.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.37, p.153-161, 2002.

KIM, D. O.; JEONG, S. W.; LEE, C. Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry**. v. 81, p. 321–326, 2003.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 25, p. 726-732, 2005.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **HortScience**, v.7, n.1, p.83-84, 1972.

LEE, S. K.; KADER, A. A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v. 20, n. 3, p. 207-220, 2000.

LIMA, E. D. P. A.; LIMA, C. A. A.; ALDRIGUE, M. L.; GONDIM, P. J. S. Caracterização física e química dos frutos da umbu-cajazeira (*spondias spp*) em cinco estádios de maturação, da polpa congelada e néctar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.2, p. 338-343, 2002.

LIRA JÚNIOR, J. S.; MUSSER, R. S.; MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LEDERMAN, I. E.; SANTOS, V. F. Caracterização física e físico-química de frutos de cajá-umbu (*Spondias spp.*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n.4, p. 757-761, 2005.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.50, n.1, p.5-18, 2000.

MATTIETTO, R. A.; LOPES, A. S.; MENEZES, H. C. Caracterização física e físico-química dos frutos da cajazeira (*Spondias mombin* L.) e de suas polpas obtidas por dois tipos de extrator. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13, n. 3, p. 156-164, 2010.

MELO, E. A.; ANDRADE, R. A. M. S. Compostos bioativos e potencial antioxidante de frutos do umbuzeiro. **Alimentos e Nutrição**, v.12, n.3, p.453-457, 2010.

MÉLO, E. A.; LIMA, V. L. A. G.; MACIEL, M. I. S.; CAETANO, A. C. S.; LEAL, F. L. L. Polyphenol, Ascorbic Acid and Total Carotenoid Contents in Common Fruits and Vegetables. **Brazilian Journal of Food Technology**. v.9, n.2, p. 89-94, 2006.

MUSSER, R.S.; LEMOS, M.A.; LIMA, V.L.A.G.; MELO, E.A.; LEDERMAN, I.E.; SANTOS, V.F. Características físico-químicas de Acerola do banco ativo de Germoplasma em Pernambuco. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.4, p. 556-561.2004.

NUNES, I. L.; MERCADANTE, A. Z. Obtenção de Cristais de Licopeno a partir de descarte de Tomate. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 24(3): p.440-447, 2004.

PRADO, A. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. Dissertação de Mestrado, Piracicaba, 2009.

PESSUTO, M. B.; COSTA, I. C.; SOUZA, A. B.; NICOLI, F. M.; MELLO, J. C. P. Atividade antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. **Química Nova**, vol. 32, p. 412-416, 2009.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoids analysis in foods**. Washington: Ilsi, 1999. 119p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos**. Brasília: MMA/SBF, 2008, 100p.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURACALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p. 996–1002, 2010.

SACRAMENTO, C. K.; SOUSA, F. X. **Cajá (*Spondias mombin* L.)**. FUNEP, Jaboticabal. 2000. 52p. (Série Frutas Nativas, n. 4)

SANTOS, M. B.; CARDOSO, R. L.; FONSECA, A. A. O.; CONCEIÇÃO, M. N. Caracterização e qualidade de frutos de umbu-cajá (*Spondias tuberosa* X *S. mombin*) provenientes do Recôncavo Sul da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.21, 2011.

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

SILVA, L. R. **Qualidade e atividade antioxidante de frutos de genótipos de umbucajazeiras (*Spondias* sp.) oriundos da microrregião de Iguatu, CE.** UFPB/CCA. 135 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Areia, 2008.

SILVA, R. S.; MERCADANTE, A. Z. Composição de carotenóides de Maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* flavicarpa) *in natura*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 22, p. 254-258, 2002.

SOUZA, V. A. B. **Perspectivas do Melhoramento de Espécies Nativas do Nordeste Brasileiro.** In: Congresso brasileiro de melhoramento genético de plantas, 1, 2001, Goiânia-GO. Resumo 25, EMBRAPA Meio-Norte, Teresina-PI, 2001.

TIITTO-JULKUNEN, R. Phenolic constituents in the leaves of Northern Willows: Methods for the analysis of certain phenolics. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.33, n.2, p.213-217, 1985.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, p. 816–823, 2008.

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, n. 5, p.1801-1812, 1999.

**ARTIGO 2: POLIFENÓIS EM FRUTOS DE GENÓTIPOS DE CAJÁ-
UMBUZEIRAS: EFICIÊNCIA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO E
POTENCIAL ANTIOXIDANTE**

RESUMO

Com vistas a definir o procedimento para extração eficiente dos polifenóis e avaliar o potencial antioxidante, frutos de 4 genótipos de cajá-umbu (G 2.2; G 2.3; G 3.1 e G 3.2) procedentes do Banco de Germoplasma do IPA (Instituto Agrônômico de Pernambuco) foram utilizados para obtenção de extratos hidroacetônico, hidrometanólico e aquoso, empregando-se três sistemas de extração: a) extração sequencial, utilizando acetona a 80%, metanol a 80% e água; b) extração sequencial, utilizando água, metanol a 80% e acetona a 80%; c) extração não sequencial, utilizando isoladamente os solventes extratores acima referidos. Os extratos obtidos foram submetidos à determinação do teor de fenólicos totais e da capacidade de sequestro do radical DPPH^{*}. A maior quantidade de polifenóis extraída foi conseguida no sistema cuja solução de acetona 80% foi o primeiro solvente extrator aplicado (1528,23 a 2644,18 µg EAG. mL⁻¹), com destaque para o genótipo G 2.3. Estes extratos, independente do genótipo, atingiram o platô de estabilidade da reação de captura do radical DPPH^{*} aos 15 minutos, exibindo uma forte capacidade de sequestro (> 70%), exceto o extrato aquoso, excluindo o do G 3.1, cuja ação foi fraca (< 50%). A ação anti radical foi dependente da concentração de fenólicos totais, existindo correlação positiva significativa entre estes dois parâmetros (R=0,8779; p<0,05). Os genótipos de cajá-umbu do Banco de Germoplasma do IPA apresentaram teor relevante de fenólicos totais, fitoquímicos eficientemente extraídos em sistema de extração sequencial empregando solução de acetona a 80% como primeiro solvente extrator. A maior capacidade de sequestro do radical DPPH foi exibida pelo genótipo G 3.1, entretanto a ação anti-radical dos extratos dos demais genótipos, especialmente o hidroacetônico e hidrometanólico, também foi relevante. Desta forma, os frutos do cajá-umbuzeiro, por apresentar em sua constituição compostos bioativos e bom potencial antioxidante podem contribuir com o aporte dietético de antioxidante, propiciando efeitos benéficos ao organismo.

Palavras-chave: Cajá-umbu, Fenólicos totais, *Spondias*.

ABSTRACT

In order to define the procedure for efficient extraction of polyphenols and evaluate the antioxidant potential, fruits of 4 genotypes of “cajá-umbu” (G 2.2, G 2.3, G 3.1 and G 3.2) coming from the IPA germplasm collection (Instituto Agronômico de Pernambuco) were used to obtain hydroacetone, hydromethanolic and aqueous extracts, using three extraction systems: a) sequential extraction using acetone 80%, methanol 80% and water distilled; b) sequential extraction using water, methanol 80% and acetone 80%; c) non-sequential extraction using the above extractors solvents alone. The extracts were subjected to determination of total phenolic content and DPPH• radical scavenging capacity. The highest total phenolic content was achieved in the system whose solution of acetone 80% was the first organic solvent applied (1528.23 to 2644.18 $\mu\text{g EAG}\cdot\text{mL}^{-1}$), especially for genotype G 2.3. These extracts, regardless of genotype, reached a plateau of stability of DPPH radical scavenging at 15 minutes, displaying a strong capacity (> 70%), except the aqueous extract, excluding the G 3.1, whose action was weak (<50%). The anti-radical action was dependent on the concentration of total phenolic, there is a positive correlation ($R= 0.8779$, $p<0.05$) observed between these two parameters. The “cajá-umbu” genotypes of the IPA germplasm collection had relevant content of total phenolic, phytochemicals extracted efficiently in a system of sequential extraction using acetone 80% solution as the first extractor solvent. The highest DPPH radical scavenging capacity was exhibited by genotype the G 3.1, however the anti-radical action of extracts of the other genotypes, especially hydroacetone and hydromethanolic was also relevant. Thus, the “cajá-umbuzeiro” fruits presenting in its constitution bioactive compounds and antioxidant potential may well contribute to the dietary intake of antioxidant, providing beneficial effects to the human health.

Keywords: “Cajá-umbu”, *Spondias*, Total phenolics.

INTRODUÇÃO

A umbu-cajazeira, também denominada de cajá-umbuzeira, pertencente à família *Anacardiaceae* Lindl., gênero *Spondias* L., ocorre ao lado do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda) no semi-árido nordestino (CARVALHO et al., 2008). É uma frutífera tropical nativa do Nordeste brasileiro, de fácil propagação, que apresenta grandes perspectivas de inserção no mercado interno de frutas exóticas (RITZINGER et al., 2001). Seus frutos, por apresentarem aroma agradável e sabor agridoce, são bastante apreciados, tanto para o consumo *in natura*, como também, na forma de sucos, doces, picolés e sorvetes (GIACOMETTI, 1993). Estes frutos caracterizados como drupa arredondada, de cor amarela, casca fina e lisa, com endocarpo (caroço) grande, branco, suberoso e enrugado, quando maduros, apresentam percentual médio de rendimento em polpa de 55,75% e teor médio de vitamina C de 17,75 mg.100g⁻¹ (LIMA et al., 2002). Entretanto, assim como ocorre em outras frutas, além deste constituinte, outros compostos, a exemplo dos polifenóis, fazem parte da composição química deste fruto.

Os polifenóis ou compostos fenólicos, integrantes de um amplo e complexo grupo de fitoquímicos, encontram-se largamente distribuídos na natureza (ANGELO; JORGE, 2007). Estes compostos apresentam em sua estrutura um anel aromático com uma ou mais hidroxilas que lhes confere a propriedade de agentes redutores. Desta forma, atuam como sequestradores de radicais e algumas vezes como quelantes de metais (SHAHIDI et al., 1992), agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo, gerando produtos intermediários relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentada por estas substâncias (McCLEMENTS; DECKER, 2010).

Muitos estudos têm demonstrado de forma conclusiva que a propriedade antioxidante exibida por muitos vegetais se deve, principalmente, aos compostos fenólicos (KAUR; KAPOOR, 2002; MARTINEZ-VALVERDE; PERIAGO; ROS, 2000). No entanto, a eficácia da ação antioxidante destes componentes bioativos depende de sua estrutura química e de sua concentração no alimento. Por sua vez, o teor destes fitoquímicos em vegetais é amplamente influenciado por fatores

genéticos, condições ambientais, além do grau de maturação e variedade da planta, entre outros. Além disso, outro aspecto importante relacionado ao potencial antioxidante destes fitoquímicos diz respeito ao processo de extração que deverá propiciar a completa extração dos compostos de interesse, evitando a sua modificação química.

A eficiência do processo de extração de fitoquímicos depende do solvente e do método empregado (TURKMEN; SARI; VELIOGLU, 2006). No caso dos polifenóis que reúne uma grande variedade de substâncias (fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, taninos e ligninas), de diferentes polaridades, não existe um procedimento de extração universal. Soluções aquosas de etanol, metanol e acetona, entre outras, em diferentes concentrações, são freqüentemente usadas, 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).

Assim, frente à peculiaridade destes fitoquímicos relacionada à solubilidade em solventes, e considerando a escassez de dados científicos, especialmente no que concerne ao potencial antioxidante do umbu-cajá, este trabalho teve como objetivo definir o procedimento para extração eficiente dos polifenóis deste fruto e avaliar a sua capacidade de sequestrar o radical DPPH.

MATERIAL e MÉTODOS

Material

Frutos maduros de 4 (quatro) genótipos (G 2.2; G 2.3; G 3.1; G 3.2) foram coletados, no meses de fevereiro e março de 2010, do Banco de Germoplasma, que se encontra instalado na Estação Experimental de Itambé - PE, pertencente ao Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA. Este banco encontra-se localizado na mesorregião da Mata Pernambucana, microrregião da Mata Setentrional (7°24'50" de latitude sul e 35°06'30" de longitude oeste), altitude de 190m acima do nível do mar. Esta localidade apresenta clima quente e úmido, com índice pluviométrico médio de 1200 mm/ano, temperatura média anual de 24° C e umidade relativa média do ar de 80%, com os meses mais chuvosos ocorrendo geralmente de abril a julho. Os frutos foram colhidos dos quatro quadrantes da

árvore, utilizando delineamento inteiramente casualizado, e em seguida, acondicionados em caixa isotérmica, e imediatamente transportados para o Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos, do Departamento de Ciências Domésticas da UFRPE para serem higienizados e despulpados. As polpas frescas obtidas foram acondicionadas em sacos de polietileno e armazenadas, sob congelamento (-18°C), até o momento das determinações analíticas.

Métodos

Obtenção dos extratos

Extratos hidroacetônico, hidrometanólico e aquoso foram obtidos, utilizando três (03) processos de extração: a) Sistema de extração sequencial, utilizando acetona a 80%, metanol a 80% e água destilada; b) Sistema de extração sequencial, utilizando água destilada, metanol a 80% e acetona a 80%; c) Sistema de extração não sequencial, utilizando, isoladamente, os solventes extratores acima referidos. Nos sistemas de extração sequencial, 70g de polpa dos frutos foram mantidas, sob agitação permanente, a temperatura ambiente ($24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), por 20 minutos, em 30mL do primeiro solvente extrator (acetona a 80%, no caso do primeiro sistema, ou água destilada no caso do segundo sistema), e em seguida, centrifugado a 3233g. O sobrenadante foi coletado, o precipitado ressuspensionado no mesmo solvente, e submetido ao mesmo processo acima descrito, por mais dois períodos de 20 minutos, totalizando 60 minutos de extração. Ao término deste período de extração, os sobrenadantes foram combinados, concentrados sob pressão reduzida a 40°C , e o volume final aferido para 50 mL. O precipitado foi reutilizado para a extração com o segundo solvente extrator (metanol a 80%) e, subsequentemente, com o terceiro solvente extrator (água destilada ou acetona a 80%) nas condições acima descritas. Os extratos obtidos foram acondicionados em recipientes tampados e mantidos sob congelamento (-18°C) até o momento das análises.

No sistema de extração não sequencial, 70g da polpa dos frutos foram mantidos sob agitação permanente, a temperatura ambiente ($24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), por 20

minutos, em acetona a 80%, e em seguida, centrifugadas a 3233g. O sobrenadante foi coletado, o precipitado ressuspense no mesmo solvente e submetido ao mesmo processo acima descrito, por mais dois períodos de 20 minutos, totalizando 60 minutos de extração. Ao término deste período de extração, os sobrenadantes foram combinados, concentrados sob pressão reduzida a 40° C, e o volume final aferido para 50 mL (extrato hidroacetônico). Este procedimento foi repetido com metanol a 80% e com água destilada para obtenção dos extratos hidrometanólico e aquoso. Todo o processo de extração foi efetuado em triplicata.

Fenólicos Totais

A determinação do teor de fenólicos totais dos extratos foi efetuada, por método espectrofotométrico, utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (Merck), segundo metodologia descrita por Wettasinghe e Shahidi (1999). O teor de fenólicos totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com ácido gálico (20 a 240 µg/mL), e os resultados expressos em expressos em µg em equivalente de ácido gálico por mL do extrato

Capacidade de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•)

A capacidade dos extratos de sequestrar 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, 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 fenólicos totais de 6, 18, 25 e 33 µg mL⁻¹. A absorbância a 517 nm foi monitorada, em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC) até a reação atingir o platô de estabilidade. A capacidade de sequestrar o radical DPPH• foi expressa em percentual, calculada em relação ao controle (sem antioxidante), segundo a expressão abaixo descrita por Miliauskas et al. (2004):

$$\% \text{ sequestro} = \frac{\text{Absorbância do controle} - \text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância do controle}} \times 100$$

Análise Estatística

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 estatístico “Statistic - for Windows”, versão 7. Os coeficientes de correlação e regressão foram calculados usando o Excel (Microsoft, Inc.).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos obtidos por processo de extração sequencial, com três ciclos de extração para cada solvente e temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), exibiram teor de polifenóis variado (Tabela 1). A maior quantidade de polifenóis foi extraída com o uso do primeiro solvente extrator, independente de ser água destilada ou acetona a 80%. Entretanto, no sistema em que a solução de acetona foi o primeiro solvente a ser aplicado obteve-se a extração de uma maior quantidade de fenólicos totais, demonstrando a superioridade da acetona como solvente extrator. Em *Camellia sinensis* (L) O. Kuntz, a solução de acetona a 70% empregada em seqüência à solução hidrometanólica, também conseguiu extrair o maior teor desses fitoquímicos (MANIAN et al., 2008). Entretanto, Melo et al. (2008) constataram que a água destilada empregada como o primeiro solvente extrator, conseguiu extrair de várias frutas (abacaxi, acerola, caju, goiaba, manga, mamão, melancia, melão e laranja), com exceção da pinha, maior teor de fenólicos totais.

Tabela 1. Fenólicos totais em extratos de cajá-umbu de 4 genótipos extraídos por sistema de extração sequencial e em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$).

Sistema extração sequencial (ordem de aplicação do solvente extrator)	Fenólicos totais extraíveis($\mu\text{g. mL}^{-1}$)			
	Genótipos			
	G 2.2	G 2.3	G 3.1	G 3.2
Hidroacetônico	1988,0 \pm 92,3 ^b	2467,4 \pm 33,6 ^a	1361,8 \pm 55,6 ^c	2438,8 \pm 51,4 ^a
Hidrometanólico	27,0 \pm 1,2 ^c	89,3 \pm 3,5 ^a	52,9 \pm 1,48 ^b	54,0 \pm 1,4 ^b
Água destilada	72,1 \pm 5,6 ^c	87,5 \pm 2,5 ^b	134,0 \pm 4,8 ^a	84,9 \pm 9,4 ^b
Total	2087,2 \pm 98,2^b	2644,2 \pm 34,8^a	1528,2 \pm 26,8^c	2577,7 \pm 60,73^a
Água destilada	2097,3 \pm 98,1 ^a	955,2 \pm 54,8 ^c	1075,8 \pm 53,3 ^{bc}	1272,8 \pm 127,9 ^b
Hidrometanólico	203,5 \pm 16,3 ^b	163,0 \pm 9,5 ^c	240,0 \pm 8,8 ^a	225,0 \pm 4,9 ^{ab}
Hidroacetônico	102,4 \pm 10,9 ^c	114,5 \pm 19,1 ^b	128,1 \pm 2,5 ^b	169,8 \pm 13,9 ^a
Total	2403,1 \pm 105,8^a	1232,8 \pm 82,4^c	1374,9 \pm 55,3^c	1667,6 \pm 66,9^b

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

Em termos do total de polifenóis extraídos, no sistema de extração sequencial que teve como primeiro solvente extrator a solução de acetona a 80%, destaca-se o genótipo G 2.3, cujo teor de polifenóis foi estatisticamente semelhante ao do G 3.2. No entanto, ao empregar os solventes extratores em outra ordem (água destilada, metanol 80% e acetona 80%), o genótipo G 2.2 passou a exibir a maior quantidade deste constituinte. Na Tabela 2, encontra-se o teor de fenólicos totais de extratos obtidos por processo não sequencial, ou seja, com solventes isolados. Evidencia-se que a maior parte dos polifenóis foi solubilizada em acetona a 80%, em seguida em água destilada e por último em metanol a 80%. No caso do genótipo G 2.2, o teor de polifenóis do extrato aquoso foi superior aos demais, porém, estatisticamente semelhante ao do extrato hidroacetônico. Constata-se, portanto, mais uma vez, a superioridade da acetona na extração de polifenóis de umbu-cajá. Além disso, os dados obtidos apontam para eficácia do sistema de extração sequencial, concordando com a assertiva de Pérez-Jiménez et al. (2008), que refere sobre a necessidade de combinar pelo menos dois ciclos de extração e de utilizar solventes orgânicos em soluções aquosas, com diferentes polaridades.

Tabela 2. Fenólicos totais em extratos de cajá-umbu de 4 genótipos extraídos por sistema de extração isolado e em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$).

Genótipos	Fenólicos totais extraíveis ($\mu\text{g. mL}^{-1}$)		
	Solventes extratores		
	Hidroacetônico	Hidrometanólico	Aquoso
G 2.2	1988,0 \pm 92,3 ^a	852,2 \pm 17,5 ^b	2097,3 \pm 98,2 ^a
G 2.3	2467,4 \pm 33,6 ^a	726,8 \pm 35,1 ^c	955,2 \pm 54,8 ^b
G 3.1	1361,8 \pm 55,5 ^a	686,3 \pm 57,8 ^c	1075,8 \pm 53,3 ^b
G 3.2	2438,8 \pm 51,4 ^a	751,3 \pm 41,1 ^c	1272,8 \pm 127,9 ^b

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

Jayaprakasha e Patil (2007), no entanto, utilizando isoladamente metanol, metanol a 80%, acetona e acetato de etila, para extração de polifenóis em duas variedades de frutas cítricas evidenciaram que o metanol a 80% foi mais eficiente para a extração de fenólicos da laranja variedade Citron ($71,81\text{mg.g}^{-1}$ extrato), enquanto que a acetona foi mais eficaz na extração dos fenólicos da laranja variedade Blood Orange ($48,80\text{ mg.g}^{-1}$ extrato). O etanol a 40% foi indicado como eficiente para a extração de compostos antioxidantes a partir de *Morinda citrifolia* (THOO et al., 2010). Assim, pode-se evidenciar que a extração de compostos fenólicos está diretamente relacionada com a compatibilidade dos compostos com o sistema de solventes. Segundo Naczek e Shahidi (2004), a eficácia do solvente dependerá da polaridade dos polifenóis presentes na amostra, bem como do grau de polimerização e da interação com outros constituintes. Outros autores ainda complementam que o rendimento da extração depende tanto do solvente utilizado como do método aplicado, enquanto que a composição do extrato está relacionada ao sistema solvente utilizado (MOURE et al., 2001; OU; HAMPSCH – WOODILL; PRIOR, 2001; SUN; HO, 2005). Evidencia-se, portanto, a necessidade de efetuar seleção criteriosa do solvente de extração, tendo em vista que em vegetais existem polifenóis com polaridade diversificada, e que a solubilidade destes constituintes em um determinado solvente é uma característica peculiar do fitoquímico. No caso dos polifenóis de umbu-cajá, frente à eficiência demonstrada, pode-se apontar como ideal o processo de extração sequencial que utilizou a acetona como o primeiro solvente e três ciclos de extração para cada solvente.

Capacidade de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•)

Os ensaios da atividade antioxidante foram conduzidos com os extratos obtidos com o sistema de extração seqüencial em que a solução de acetona 80% foi a primeira a ser aplicado, uma vez que com este sistema foi possível extrair maior teor de fenólicos totais. Nas Figuras 1 e 2 encontram-se a capacidade de seqüestro do radical DPPH• dos extratos isolados e dos extratos combinados dos genótipos de cajá-umbu. Analisando a cinética da reação (Figura 1), evidencia-se que, independente do genótipo, todos os extratos atingiram o platô de estabilidade da reação aos 15 minutos, entretanto os extratos hidroacetônico e hidrometanólico exibiram os mais elevados percentuais de seqüestro do radical DPPH•. Merecem destaque os extratos hidroacetônico e o aquoso do genótipo G 3.1 e o extrato hidrometanólico do genótipo G 3.2 por terem exibido a maior ação anti-radical. Os extratos combinados de todos os genótipos, exceto o G 2.2, aos 15 minutos da reação, exibiram percentual de seqüestro estatisticamente semelhante (Figura 2).

A análise do percentual de seqüestro do radical DPPH aos 15 minutos da reação evidencia que os extratos hidroacetônico, hidrometanólico e aquoso combinados, do genótipo G 3.1, exibiu capacidade de seqüestro superior a dos extratos combinados dos demais genótipos sem, contudo, diferir estatisticamente dos genótipos G 2.3 e G 3.2. A ação anti-radical dos extratos combinados de todos os genótipos, exceto o G 3.1, foi superior a do extrato aquoso e inferior a dos extratos hidroacetônicos e hidrometanólicos. Evidencia-se, portanto, que, possivelmente, os compostos bioativos presentes no extrato aquoso dos genótipos influenciaram na menor ação dos extratos combinados.

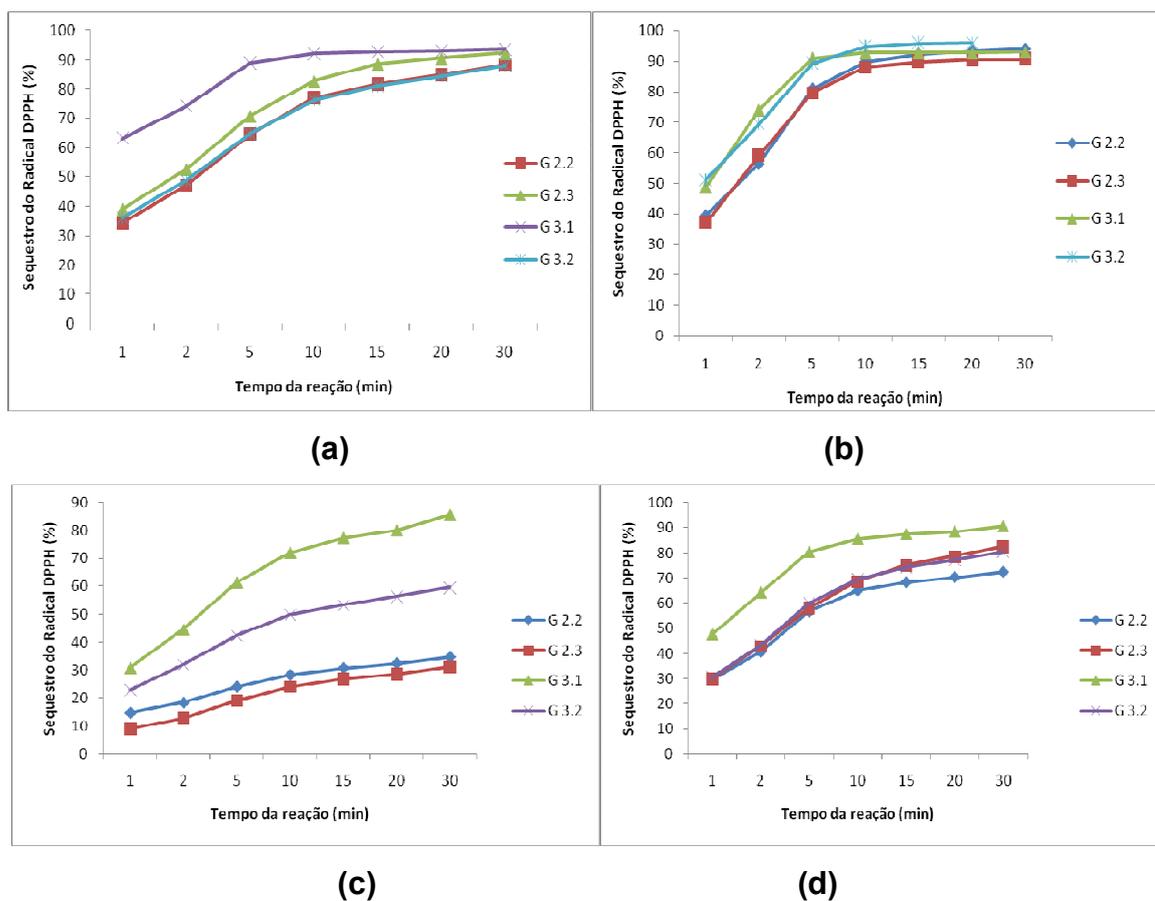


Figura 1. Cinética da reação de seqüestro do radical DPPH dos extratos hidroacetônico (a), Hidrometanólico (b), Aquoso (c) e dos extratos combinados (hidroacetônico + hidrometanólico + aquoso) (d) de frutos de 4 genótipos (G 2.2; G 2.3; G 3.1 G 3.2) de cajá-umbu do Banco de Germoplasma do IPA contendo $33 \mu\text{g}$ de fenólicos totais equivalente em ácido gálico. mL^{-1} de extrato.

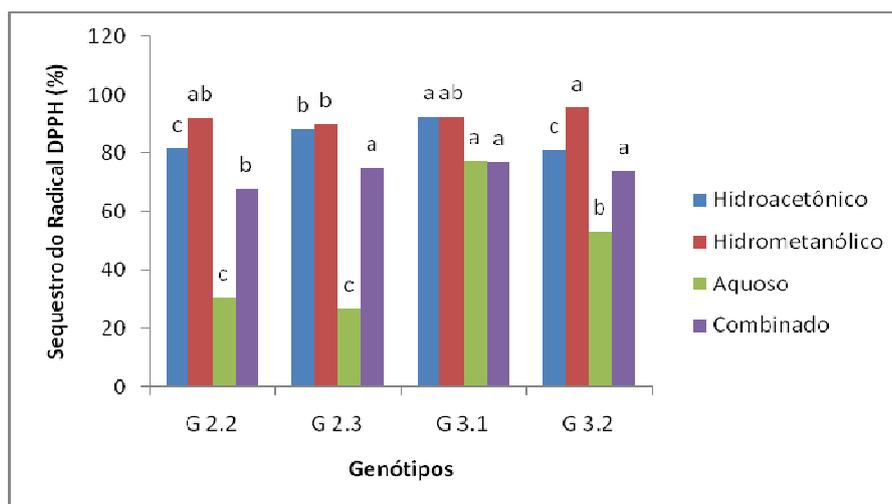


Figura 2. Percentual de sequestro do radical DPPH dos extratos hidroacetônico, hidrometanólico, aquoso e dos extratos combinados (hidroacetônico + hidrometanólico + aquoso) de frutos de 4 genótipos (G 2.2; G 2.3; G 3.1 e G 3.2) de cajá-umbu do Banco de Germoplasma do IPA, aos 15 minutos da reação, contendo 33 μg de fenólicos equivalente em ácido gálico. mL^{-1} de extrato. [Médias do mesmo extrato, porém de genótipo diferente seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ($p > 0,05$)]

Vale destacar, ainda, que a ação anti-radical do extrato hidroacetônico e do aquoso do genótipo G 3.1 foi estatisticamente superior a dos respectivos extratos dos demais genótipos. No entanto, a ação do extrato hidrometanólico do G 3.1 não exibiu diferença estatística quando comparada com a do extrato hidrometanólico dos outros genótipos. Segundo a classificação estabelecida por Melo et al. (2008), a capacidade de sequestro pode ser considerada forte, moderada ou fraca quando atingir o percentual de 70%, entre 50 e 70% e abaixo de 50%, respectivamente. Desta forma, evidencia-se que os extratos hidroacetônico, hidrometanólico e os combinados de todos os genótipos de cajá-umbu, exibiram uma forte capacidade (superior a 70%), enquanto que o extrato aquoso, exceto o do genótipo 3.1, exibiu uma fraca capacidade de sequestro do radical DPPH (inferior a 50%). A ação antioxidante dos extratos de cajá-umbu frente ao radical DPPH foi superior a exibida pelo extrato metanólico de cajá e ciriguela (50 a 70%), aos 15 minutos da reação (CAETANO et al., 2008) e ao extrato metanólico do umbu maduro e semi maduro (inferior a 40%) (MELO; ANDRADE, 2010).

A ação antioxidante, aos 5 minutos de reação, exibida pelos extratos combinados, contendo concentração final de 6, 18, 25 e 33 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de fenólicos totais, encontra-se apresentada na Figura 2. O genótipo G 3.1 destacou-se por exibir o mais elevado percentual de sequestro diferindo estatisticamente dos demais extratos dos genótipos, exceto na concentração de 25 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ cuja a ação foi semelhante a do G 3.2.

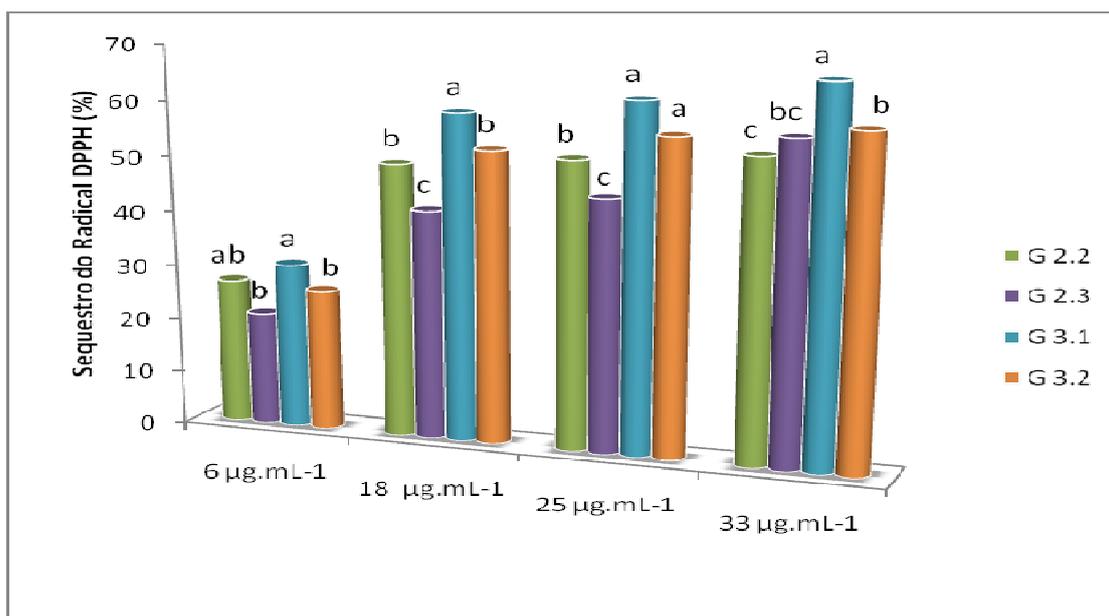


Figura 3. Capacidade de sequestro do radical DPPH (%) exibida pelos extratos combinados dos genótipos de umbu-cajá, nas concentrações de 6, 18, 25 e 33 μg de fenólicos totais equivalente em ácido gálico. mL^{-1} de extrato, aos 5 minutos de reação. [Médias dentro da mesma concentração seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ($p > 0,05$)]

A análise dos dados permite evidenciar que a ação é dependente da concentração de fenólicos totais, e que existe uma correlação positiva ($R = 0,8779$; $p < 0,05$) significativa entre estes dois parâmetros. Evidencia-se, também, que houve um aumento linear da capacidade de sequestrar o radical DPPH em função do teor de fenólicos totais (Figura 3). Xu e Chang (2007) também detectaram forte correlação ($R = 0,98$) entre o teor de fenólicos totais e % de sequestro de DPPH em extratos hidroacetônicos de vários legumes.

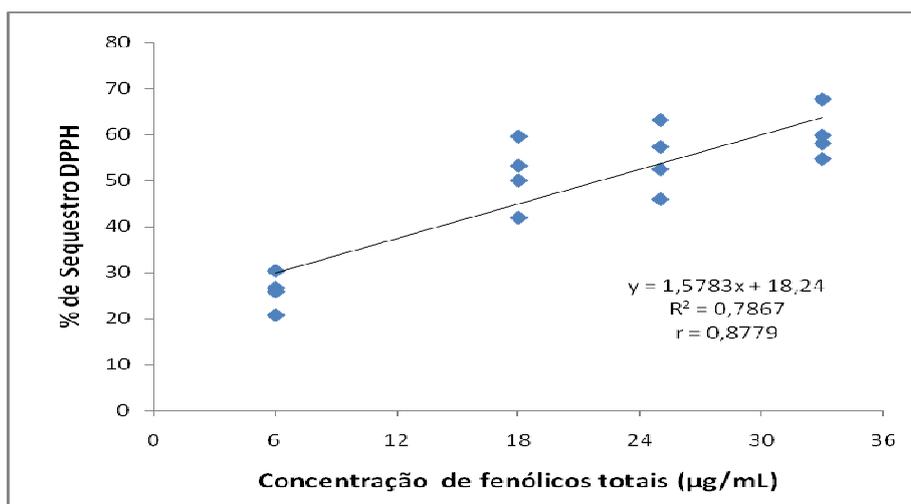


Figura 4. Correlação entre o teor de fenólicos totais e a capacidade de sequestrar o radical DPPH (%) dos extratos combinados dos 4 genótipos do cajá-umbu, nas concentrações de 6, 18, 25, 33 µg de fenólicos totais equivalente em ácido gálico.mL⁻¹ de extrato.

Corroborando com o resultado deste estudo, vários autores têm demonstrado de forma conclusiva que existe uma forte relação positiva entre o teor de fenólicos totais e a capacidade antioxidante de frutas e hortaliças (VISON et al., 1998; VELIOGLU et al., 1998; KAUR, KAPOOR, 2002; ABDILLE et al., 2005; VASCO, RUALES e KAMAL-ELDIN, 2008). Além da presença nos extratos de outros fitoquímicos, a estrutura química do componente ativo tem influência sobre a eficácia do antioxidante natural, uma vez que a posição e o número de hidroxilas presentes na molécula dos polifenóis é um fator relevante para esta atividade (MELO et al., 2008).

CONCLUSÕES

Os genótipos de cajá-umbu do Banco de Germoplasma do IPA apresentaram teor relevante de fenólicos totais. A maior parte dos polifenóis presente destes frutos foi solubilizada em acetona 80%, e o sistema de extração sequencial que teve esta solução como primeiro solvente extrator foi mais eficiente na extração dos polifenóis de frutos de cajá-umbu.

O genótipo G 3.1 exibiu a maior capacidade de sequestro do radical DPPH, entretanto a ação anti-radical dos extratos dos demais genótipos, especialmente o hidroacetônico e hidrometanólico, também foi relevante. Desta forma, pode-se inferir que os frutos do cajá-umbuzeiro, por apresentar em sua constituição compostos bioativos e bom potencial antioxidante, podem contribuir com o aporte dietético de antioxidante, propiciando efeitos benéficos ao organismo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDILLE, M. D. H.; SINGH, R. P.; JAYAPRAKASHA, G. K.; JENA, B. S. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. **Food Chemistry**, v.90,p.891-896, 2005.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.66, n.1, p.1-9, 2007.

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

CAETANO, A. C. S.; ARAÚJO, C. R.; MELO, E. A.; LIMA, V. L. A. G; MACIEL, M. I. S. Avaliação da atividade antioxidante de extratos de polpa e resíduos de cajá e ciriguela. In: Simpósio Brasileiro sobre umbu, cajá e espécies afins, 2008, Recife. **Anais...Recife: IPA**, 2008, CD-ROM.

CARVALHO, P. C. L.; RITZINGER, R.; SOARES FILHO, W. S.; LEDO, C. A. S. Características Morfológicas, Físicas e Químicas de Frutos de Populações de Umbu-Cajazeira no Estado da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 140-147, 2008.

GIACOMETTI, D. C. Recursos genéticos de frutíferas nativas do Brasil. In: Simpósio nacional de recursos genéticos de frutíferas nativas, 1, 1992, Cruz das Almas: **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, 1993. p. 13-27.

JAYAPRAKASHA, G. K.; PATIL, B. S. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. **Food Chemistry**, v.101, p. 410–418, 2007.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.37, p.153-161, 2002.

LIMA, E. D. P. A.; LIMA, C. A. A.; ALDRIGUE, M. L.; GONDIM, P. J. S. Caracterização física e química dos frutos do umbu-cajazeira (*spondias spp*) em cinco estádios de maturação, da polpa congelada e néctar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.2, p. 338-343, 2002.

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

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.50, n.1, p.5-18, 2000.

MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Lipídeos. *In: Química de alimentos de FENNEMA*. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900p.

MELO, E. A; MACIEL, M. I. S; LIMA, V. L. A. G; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, 2008.

MELO, E. A; ANDRADE, R. A. M. S. Compostos bioativos e potencial antioxidante de frutos do umbuzeiro. **Alimentos e Nutrição**, v.12, n.3, p.453-457, 2010.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J. M.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; NUNEZ, M.; PARAJÓ, J. C. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, n. 2, p. 145 – 171, 2001.

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

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

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**, v.41, n.3, p.274-285, 2008.

RITZINGER, R.; SOARES FILHO, W. S.; CARVALHO, P. C. L.; FOLEGATTI, M. I. S.; MATSUURA, F. C. A. U.; CERQUEIRA, E. Q.; KISARI, R. G.; SILVA NETO, C. N. Caracterização e avaliação de Germoplasma de umbu-cajazeira no estado da Bahia. In: Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 1., 2001, **Anais...** GOIÂNIA: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2001. CD ROM

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.

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

SUN, T.; HO, C. Antioxidant activity of buckwheat extracts. **Food Chemistry**, v. 90, n. n. 4, p. 743 – 749, 2005.

THOO, Y. Y.; HOA, S. K.; LIANG, J. Y.; HOB, C. W.; TAN, C. P. Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). **Food Chemistry**, v. 120, p. 290–295, 2010.

TURKMEN, N.; SARI, F.; VELIOGLU, Y. S. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. **Food Chemistry**, 99, p. 835–841, 2006.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, p. 816–823, 2008.

VELIOGLU, Y. S.; MAZZA, G.; GAO, L.; OOMAH, B.D. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p.4113-4117, 1998

VISON, J. A.; HAO, Y.; SU, X.; ZUBIK, L. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p.3630-3634, 1998.

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**, v. 72, n. 2, p. 159-166, 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**, v.47, n. 5, p.1801-1812, 1999.

**ARTIGO 3: CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS DE
GENÓTIPOS DE CAJÁ-UMBUZEIRAS**

RESUMO

Com o objetivo de avaliar a capacidade antioxidante dos frutos de cajá-umbu procedente do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco – IPA, frutos de 4 genótipos (G 2.2; G 2.3; G 3.1 e G 3.2) foram utilizados para obtenção de extratos hidroacetônico, hidrometanólico e aquoso, empregando-se o sistema de extração sequencial, utilizando acetona a 80%, metanol a 80% e água destilada. Os extratos obtidos foram submetidos à determinação do teor de fenólicos totais e em seguida, combinados e submetidos aos seguintes ensaios antioxidantes: capacidade de sequestro do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH^{*}), capacidade de sequestrar o radical ABTS^{*}; inibição da oxidação lipídica em sistema de Co-oxidação do β -caroteno e ácido linoléico, e em sistema de inibição da peroxidação do ácido linoléico - Método Tiocianato Férrico. A quantidade do total de polifenóis extraídos variou de 1.528,23 a 2.644,18 $\mu\text{g EAG. mL}^{-1}$, com destaque para o genótipo G 2.3 com o maior teor. Todos os genótipos apresentaram baixo valor de EC_{50} (0,30 a 0,43), valor de $\text{T}_{\text{EC}_{50}}$ de 8,98 a 15,24 minutos, classificando-os como intermediário, e eficiência anti-radical de 0,18 a 0,40. Exibiram expressiva capacidade de sequestro do radical ABTS (55,56 a 120,08 $\mu\text{Mol TEAC.g}^{-1}$). A ação antioxidante destes extratos em sistema modelo da co-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico foi considerada moderada (56,91 a 69,41 % de inibição), todos os extratos demonstram ser eficientes em bloquear o início da reação de oxidação ($\text{F1} < 1$), porém na fase de propagação, o extrato do genótipo G 3.2 demonstrou maior eficiência ($\text{F2} < 1$). A inibição da peroxidação do ácido linoléico pelos extratos de genótipos de cajá-umbu variou de 88,45% a 92,89%. Portanto, os genótipos de cajá-umbuzeiros apresentam bom potencial antioxidante, tanto na captura de radicais livres, doando hidrogênio ou elétron, quanto em meio lipídico, inibindo a peroxidação lipídica. Frente à ação antioxidante exibida, a inserção do cajá-umbu na dieta usual torna-se recomendável, uma vez que este fruto poderá contribuir com o aporte de antioxidante dietético.

Palavras-chave: ABTS, Cajá-umbu, DPPH, Sistema modelo β -caroteno.

ABSTRACT

This study was carried out aiming to evaluate the antioxidant capacity of “cajá-umbu” fruits from the Instituto Agronômico de Pernambuco – IPA germplasm collection. Fruits of the four genotypes (G 2.2, G 2.3, G 3.1 and G 3.2) were used to obtain hydroacetone, hydromethanolic and aqueous extracts using sequential extraction procedure (acetone 80%, methanol 80% and distilled water). The extracts were submitted to determination of total phenolic content and screened for their free DPPH (1,1-diphenyl-2-picrilhidrazil) and ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina 6-sulfonic acid) scavenging activity and their effect on the linoleic acid peroxidation by β -carotene-linoleic acid co-oxidation system and ferric thiocyanate method. The amount of total polyphenols extracted ranged from 1528.23 to 2644.18 $\mu\text{g EAG. mL}^{-1}$, highlighting the genotype G 2.3 with the highest level. All genotypes exhibited good DPPH• scavenging activity (EC_{50} value of 0.30 to 0.43, $T_{\text{EC}_{50}}$ value of 8.98 to 15.24 minutes, and EA value of 0.18 to 0.40), significant ABTS•+ scavenging capacity (55,56 a 120,08 $\mu\text{Mol TEAC.g}^{-1}$) and high percentage of inhibition of peroxidation of linoleic acid (88.45 to 92.89%). In co-oxidation of linoleic acid/ β -carotene system exhibited moderate activity (56.91 to 69.41% inhibition), showing that they are effective in blocking the starting of oxidation reaction ($F1 < 1$), but the propagation phase, 3.2 G genotype showed higher efficiency ($F2 < 1$). Therefore, the genotypes of “cajá-umbu” have good antioxidant potential, both in free radicals scavenging, donating hydrogen or electron, as in the lipid, inhibiting lipid peroxidation. Thus, considering exhibited the antioxidant action, the inclusion of “cajá-umbu” in usual diet becomes advisable, since this fruit can contribute to the dietary intake of antioxidant.

Keywords: “Cajá-umbu”, DPPH, ABTS, Model system β -carotene

INTRODUÇÃO

No Nordeste brasileiro, árvores frutíferas nativas são largamente exploradas através do extrativismo, ou em pomares domésticos e em plantio desorganizados conduzidos empiricamente. Neste contexto, encontra-se a cajaraneira, a cirigueleira, a umbugueleira e a umbu-cajazeira, espécies, da família *Anacardiaceae* Lind., gênero *Spondias* L. Os frutos destas espécies, classificados como drupa, por apresentarem aroma e sabor agradáveis são bastante apreciados tanto para o consumo *in natura* como na forma processada, como polpa, sucos, doces, néctares, picolés e sorvetes (CAVALCANTI et al., 1996; SACRAMENTO; SOUZA, 2000). Acredita-se que o cajá-umbu (*Spondias* spp) seja resultante de possíveis cruzamentos naturais entre o cajá (*Spondias mombim* L.) e o umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.).

Assim como acontece com outros frutos, vitaminas, minerais e fibras fazem parte da constituição química do cajá-umbu. Em estágio de maturação comercial (fruto totalmente amarelo), este fruto apresentam, em média, rendimento em polpa de 55,75%, pH de 2,08; sólidos solúveis totais (SST) de 11,25° Brix; acidez total titulável (ATT) de 1,77 g de ácido cítrico/100g de polpa; relação SST/ATT de 6,39 e teor de vitamina C total de 17,75 mg/100g (LIMA et al., 2002). Entretanto, segundo Rice-Evans et al. (1996), também fazem parte da composição dos vegetais fitoquímicos bioativos, dentre os quais se destacam os polifenóis, ácido ascórbico, vitamina E, e o β -caroteno.

A natureza química destes compostos possibilita reagirem com os radicais livres, retardando a velocidade das reações de oxidação. O efeito protetor resultante desta ação tem conduzido à redução da mortalidade e morbidade por algumas doenças crônicas não transmissíveis, conforme demonstram as evidências epidemiológicas (KAUR; KAPOOR, 2002; MARTINEZ-VALVERDE; PERIAGO; ROS, 2000). No entanto, os teores dos constituintes antioxidantes em vegetais variam em função das condições edafoclimáticas do cultivo, bem como, da variedade e grau de maturação dos frutos, entre outros (SCALZO et al., 2005). Estas constatações motivaram a implementação deste estudo, com vistas a avaliar a capacidade antioxidante dos frutos de cajá-umbu procedentes do Banco de Germoplasma do Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Frutos maduros de 4 (quatro) genótipos (G 2.2; G 2.3; G 3.1; G 3.2) foram coletados, no meses de fevereiro e março de 2010, do Banco de Germoplasma, que se encontra instalado na Estação Experimental de Itambé - PE, pertencente ao Instituto Agronômico de Pernambuco – IPA. Este banco encontra-se localizado na mesorregião da Mata Pernambucana, microrregião da Mata Setentrional (7°24'50" de latitude sul e 35°06'30" de longitude oeste), altitude de 190m acima do nível do mar. Esta localidade apresenta clima quente e úmido, com índice pluviométrico médio de 1200 mm/ano, temperatura média anual de 24° C e umidade relativa média do ar de 80%, com os meses mais chuvosos ocorrendo geralmente de abril a julho. Os frutos foram colhidos dos quatro quadrantes da árvore, utilizando delineamento inteiramente casualizado, e em seguida, acondicionados em caixa isotérmica, e imediatamente transportados para o Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos, do Departamento de Ciências Domésticas da UFRPE para serem higienizados e despulpados. As polpas frescas obtidas foram acondicionadas em sacos de polietileno e armazenadas, sob congelamento (-18°C), até o momento das determinações analíticas.

Métodos

Obtenção Sequencial dos Extratos

Extratos hidroacetônico, hidrometanólico e aquoso foram obtidos por processo de extração sequencial, utilizando acetona a 80%, metanol a 80% e água. Neste sistema, 70g de polpa dos frutos foram mantidas, sob agitação permanente, a temperatura ambiente ($24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), por 20 minutos, com o primeiro solvente extrator (acetona a 80%), e em seguida, centrifugada a 3233g. O sobrenadante foi coletado, o precipitado ressuspenso no mesmo solvente, e submetido ao mesmo processo acima descrito, por mais dois períodos de 20 minutos, totalizando 60 minutos de extração. Ao término deste período de

extração, sobrenadantes foram combinados, concentrados sob pressão reduzida a 40° C, e o volume final aferido para 50 mL. O precipitado foi reutilizado para a extração com o segundo solvente extrator (metanol a 80%) e, subsequentemente, com o terceiro solvente extrator (água destilada) nas condições acima descritas. Os extratos obtidos foram acondicionados em recipientes tampados e mantidos sob congelamento (-18°C) até o momento das análises.

Determinações analíticas

Fenólicos totais

A concentração dos compostos fenólicos totais foi determinada por espectrofotometria através do reagente Folin-Ciocalteu (Merck), segundo metodologia descrita por Wettasinghe e Shahidi (1999). O teor de fenóis totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com ácido gálico (20 a 240 µg/mL), e os resultados expressos em expressos em µg em equivalente de ácido gálico por mL do extrato.

Determinação da Atividade antioxidante

Capacidade de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•)

Os extratos hidroacetônico, hidrometanólico e aquoso foram combinados e submetidos à determinação da capacidade de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•), utilizando o método descrito por Brand-Williams et al. (1995), modificado por Sánchez-Moreno, Larrauri e Saura-Calixto (1998). Extratos combinados, com diferentes concentrações de fenólicos totais, foram adicionados à solução de DPPH em metanol (0,1M), atingindo a concentração final de 6, 18, 25 e 33µg 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 do extrato eficiente para diminuir em 50% a concentração inicial do DPPH• (EC₅₀) 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 anti-radical (EA) foi calculada considerando o valor de EC₅₀ e o tempo em que foi atingido o EC₅₀ (T_{EC50}), conforme expressão abaixo:

$$EA = 1/EC_{50} \cdot T_{EC50}$$

O comportamento cinético dos extratos foi classificado em rápido (T_{EC50} < 5 minutos), intermediário (T_{EC50} = 5 a 30 minutos) ou lento (T_{EC50} > 30 minutos), segundo o valor de T_{EC50}, e a eficiência anti-radical, em baixa (EA < 1), média (EA > 1 e ≤ 5), alta (EA > 5 e ≤ 10) ou super alta (EA > 10) de acordo com o valor de EA (SÁNCHEZ-MORENO, LARRAURI; SAURA-CALIXTO.1998).

Capacidade de sequestrar o radical ABTS^{•+}

A capacidade de sequestrar o radical 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico (ABTS^{•+}) foi determinada segundo o método descrito por RE et al. (1999). O radical ABTS^{•+} 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 absorvância de 0,7 ± 0,05, em comprimento de onda de 734 nm. Os extratos com diferentes concentrações de fenólicos totais foram adicionadas a solução do ABTS^{•+}, atingindo concentração final de 5, 10 e 15µg de fenólicos totais/mL, e a absorvância

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 ($\mu\text{Mol TEAC.g}^{-1}$ de polpa).

Co-oxidação do β -caroteno e ácido linoléico

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada utilizando método descrito por Marco (1968), modificado por Hammerschmidt e Pratt (1978), como segue: A solução de β -caroteno (1 mL), preparada pela dissolução de 1 mg de β -caroteno em 10 mL de clorofórmio, foi colocada em um balão de fundo redondo, contendo 20 mg de ácido linoléico e 200 mg do emulsificante Tween 20. Após a remoção do clorofórmio, em evaporador rotatório a 50°C, 50 mL de água destilada foram adicionados sob agitação vigorosa. Alíquotas (5 mL) desta emulsão foram transferidas para uma série de tubos de ensaios contendo 0,2 mL dos extratos, atingindo concentração final de $100\mu\text{g}$ de fenólicos totais. mL^{-1} . Em seguida, os tubos foram colocados em banho-maria a 50°C, durante 105 min, e a absorbância mensurada a 470 nm, nos intervalos de tempo de 0, 5, 15, 30, 45, 60, 75, 90 e 105. A atividade antioxidante foi expressa como percentual de inibição da oxidação, calculada em relação a 100% da oxidação do controle (sem antioxidante), conforme expressão abaixo:

$$\% \text{ de inibição} = \frac{\text{Taxa de degradação do controle} - \text{taxa de degradação da amostra}}{\text{Taxa de degradação do controle}} \times 100$$

Estudo cinético da atividade antioxidante no sistema da co-oxidação do β -caroteno /ácido linoléico

A eficiência da atividade antioxidante dos extratos foi estimada a partir da relação entre a tangente das curvas cinéticas do extrato e do controle (sem adição de antioxidante), em duas partes da curva, entre 15 e 45 minutos e entre 75 e 105 minutos, segundo metodologia descrita por Silva, Nascimento e Moreira

(2007). Na primeira parte da curva, o valor obtido (F1) indica a eficiência do antioxidante de bloquear a reação em cadeia através da interação com os radicais peróxidos, enquanto que na segunda parte da curva o valor obtido (F2) indica a eficiência do antioxidante em participar de outras reações durante o processo oxidativo, como por exemplo, a decomposição dos hidroperóxidos, produzindo espécies radicalares que aceleram a oxidação no sistema.

Inibição da peroxidação do ácido linoléico - Método Tiocianato Férrico

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada utilizando o método tiocianato ferrico descrito por Jayaprakasha, Shigh e Sakariah (2001). A emulsão do ácido linoléico foi preparada homogeneizando 0,25g de ácido linoléico e 50 mL de tampão fosfato 0,2 M (pH 7,0). Alíquotas dos extratos combinados (0,5 ml), com concentração final de fenólicos totais de $100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, foram individualmente misturadas com 1,0mL da emulsão do ácido linoléico, 2,0mL tampão fosfato 0,2 M (pH 7,0) e 1,5ml de água destilada, acondicionadas em frasco de vidro âmbar, com tampa rosqueável, e encubada em estufa com circulação de ar a $50^{\circ}\text{C} \pm 1$. Em período regular de tempo (a cada 24h), 0,1 mL desta solução foi retirado e adicionado 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 0,02M em HCl 3,5%. Após, exatamente 3 minutos à temperatura ambiente ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$) foi medida a absorvância 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 absorvância. O grau da inibição da peroxidação do ácido linoléico foi calculado usando expressão algébrica:

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

Análise estatística

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 estatístico “Statistic - for Windows”, versão 7.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos obtidos por processo de extração sequencial, com três ciclos de extração para cada solvente e temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), exibiram teor de polifenóis variado (Tabela 1). Ao comparar o total de polifenóis dos extratos dos genótipos, evidencia-se que o G 2.3 e o G 3.2 diferenciaram-se, estatisticamente, dos demais por terem apresentado maior teor de polifenóis. Os menores teores de polifenóis foram exibidos pelos extratos hidrometanólico e aquoso de todos os genótipos. Assim, para os ensaios antioxidantes os extratos hidrometanólico, hidrometanólico e aquoso de cada genótipo foram combinados.

Tabela 1. Fenólicos totais em extratos de cajá-umbu de 4 genótipos extraídos por sistema de extração sequencial e em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$).

Sistema extração sequencial (ordem de aplicação do solvente extrator)	Fenólicos totais extraíveis($\mu\text{g. mL}^{-1}$)			
	Genótipos			
	G 2.2	G 2.3	G 3.1	G 3.2
Hidroacetônico	1988,0 \pm 92,3 ^b	2467,4 \pm 33,6 ^a	1361,8 \pm 55,6 ^c	2438,8 \pm 51,4 ^a
Hidrometanólico	27,0 \pm 1,2 ^c	89,3 \pm 3,5 ^a	52,9 \pm 1,48 ^b	54,0 \pm 1,4 ^b
Água	72,1 \pm 5,6 ^c	87,5 \pm 2,5 ^b	134,0 \pm 4,8 ^a	84,9 \pm 9,4 ^b
Total	2087,2 \pm 98,2^b	2644,2 \pm 34,8^a	1528,2 \pm 26,8^c	2577,7 \pm 60,73^a

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

Potencial Antioxidante

Os extratos combinados foram submetidos aos ensaios para avaliar sua habilidade em sequestrar radicais livres gerados no meio da reação, e sua eficiência em inibir a peroxidação em meio lipídico.

Capacidade de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•)

O ensaio da capacidade de sequestro do radical DPPH• baseia-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para o DPPH•, convertendo-o a sua forma reduzida (picrilhidrazina). Nesta reação, a solução metanólica de DPPH, inicialmente de coloração púrpura, torna-se descolorida, e o grau desta descoloração indica a habilidade do antioxidante em sequestrar o radical livre. Desta forma, avalia-se o poder redutor de um antioxidante, não sendo possível detectar a ação pró-oxidante de substâncias (DUARTE-ALMEIDA, 2006). Na Tabela 2, evidencia-se baixo valor de EC_{50} , para os extratos dos genótipos de cajá-umbu. Considerando que o valor EC_{50} é inversamente relacionado à atividade anti-radical (ROESLER et al., 2007; SOUSA et al., 2007), o genótipo G 3.1 com o mais baixo valor de EC_{50} , exibiu a melhor capacidade de sequestro do radical DPPH, diferindo estatisticamente da ação exibida pelo genótipo G 2.3, porém semelhante a do G 2.2 e do G 3.2.

O poder antioxidante é resultante da capacidade do composto ou do extrato em atuar rapidamente, em baixa concentração, prevenindo ou retardando a reação de autooxidação. Portanto, para melhor avaliar a capacidade antioxidante de uma amostra se faz necessário utilizar outros parâmetros, além de EC_{50} . Neste sentido, Sánchez-Moreno, Larrauri e Saura-Calixto (1998), estabeleceram o $T_{EC_{50}}$ e EA como parâmetros de avaliação da capacidade antioxidante em ensaio de DPPH. O $T_{EC_{50}}$ dos extratos de todos os genótipos encontra-se na faixa de 5 a 30 minutos, com classificação cinética intermediária. A eficiência anti-radical de todos os genótipos foi considerada baixa uma vez que este parâmetro atingiu valores inferiores a 1. Entretanto, o genótipo G.3.1 apresentou o melhor desempenho.

Tabela 2. Valores de EC_{50} , de T_{EC50} e classificação cinética e anti-radical de frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agrônômico de Pernambuco, em Itambé-PE.

Amostras	EC_{50} (g fenólicos. g DPPH ⁻¹)	T_{EC50} (min)	Classificação cinética	EA	Classificação Anti-radical
G 2.2	0,33 ^b	15,24 ^a	Intermediário	0,20 ^c	Baixa
G 2.3	0,43 ^a	12,81 ^{ab}	Intermediário	0,18 ^c	Baixa
G 3.1	0,30 ^b	8,98 ^b	Intermediário	0,40 ^a	Baixa
G 3.2	0,38 ^{ab}	11,21 ^{ab}	Intermediário	0,26 ^{bc}	Baixa

EC_{50} = a concentração do extrato eficiente para diminuir em 50% a concentração inicial do DPPH•; T_{EC50} = tempo necessário para atingir o valor de EC_{50} ; EA= eficiência anti-radical = $1/EC_{50} \cdot T_{EC50}$. [Médias seguidas por letras iguais, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ($p>0,05$)].

Capacidade de sequestrar o radical ABTS^{•+}

O radical cromóforo monocatiônico gerado pela oxidação do ABTS^{•+} [2,2'-azino-bis(3-etil-benzolona-6-sulfonado)] com persulfato de potássio, desencadeia a abstração do hidrogênio, doador de elétrons, da substância antioxidante, promovendo a supressão da cor da solução. O grau deste descolorimento é usado para avaliar a atividade oxidante (RE, et al., 1999; SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

A capacidade de sequestro de radicais livres ABTS^{•+} dos genótipos de cajá-umbu encontra-se na Tabela 3. Evidencia-se que o genótipo G 3.1 exibiu o mais elevado valor de TEAC, demonstrando que sua ação frente ao radical ABTS^{•+} foi superior a dos demais genótipos. Frutos da mesma espécie botânica exibiram valor de TEAC bastante inferior ao encontrado em cajá-umbu. Rufino et al. (2010) relatam que em cajá e em umbu o valor de TEAC foi de 7,8 e 6,3 $\mu\text{mol/g}$, respectivamente. Outras frutas, no entanto, exibiram valor de TEAC próximo ao encontrado neste estudo, a exemplo da acerola e (67,06 $\mu\text{mol TEAC. g}^{-1}$ da amostra (KUSKOSKI et al., 2005).

Vasco, Ruales e Kamal-Eldin (2008) consideram que as frutas que exibem ação antiradical superior a 40 $\mu\text{mol TEAC. g}^{-1}$ da amostra, entre 20 e 40 $\mu\text{mol TEAC. g}^{-1}$ da amostra e inferior a 20 $\mu\text{mol TEAC. g}^{-1}$ da amostra são consideradas com elevada, intermediária e baixa atividade. Assim, considerando esta classificação, constata-se que os frutos de cajá-umbu integram o grupo das frutas com elevada atividade frente ao radical ABTS.

Tabela 3: Capacidade de sequestro do radical ABTS^{•+} de frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco, em Itambé-PE.

Amostras	$\mu\text{mol TEAC.g}^{-1}$
G 2.2	55,56 ^c
G 2.3	68,48 ^b
G 3.1	120,08 ^a
G 3.2	68,75 ^b

Os valores referem-se à média 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 (6 minutos).

Sistema de Co-oxidação do β -caroteno e ácido linoléico

A atividade antioxidante dos extratos mensurada em sistema da co-oxidação β -caroteno/ácido linoléico encontra-se apresentada na Figura 2. Considerando a classificação descrita por Melo et al. (2008) que estabelece alta, moderada e baixa para a atividade antioxidante que atingir percentual de inibição da oxidação superior a 70%, entre 50 e 70% e abaixo de 50%, respectivamente, evidencia-se que todos os genótipos exibiram uma atividade moderada. O genótipo G 2.2 e o G 3.1 se destacaram com a maior atividade (69,41 e 65,71%, respectivamente).

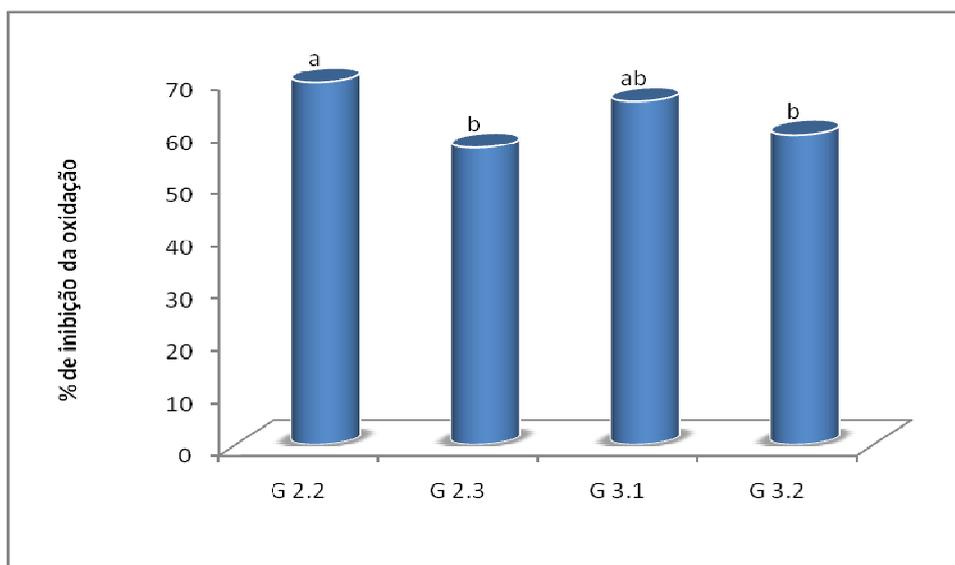


Figura 1. Atividade antioxidante de extratos de frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco, em Itambé-PE, em sistema β -caroteno/ ácido linoléico contendo $100\mu\text{g}$ de fenólicos totais. mL^{-1} , aos 105 minutos da reação. (Os valores referem-se à média de três determinações. Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan $p>0,05$).

Em frutos do mesmo gênero botânico, a percentagem de inibição da oxidação foi diferenciada. O umbu e o cajá exibiram, respectivamente, de 63,4%, e 92,7% de inibição da oxidação (RUFINO et al., 2010). Outras frutas, também, demonstraram atividade moderada, a exemplo da pinha (extrato aquoso) e da goiaba (extrato acetônico), cujo percentual de inibição da oxidação situou-se entre 50 a 70% (MELO et al., 2008). Entretanto, há relatos de frutas com elevada capacidade antioxidante, a exemplo de polpas de romã provenientes de Petrolina – PE que atingiram percentagem de inibição de 76,39% (JARDINI; MANCINI-FILHO, 2007).

Para melhor entender o mecanismo de ação dos compostos fenólicos presentes nos extratos dos frutos dos genótipos estudados, foram construídas curvas cinéticas da inibição da oxidação no sistema modelo da co-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico (Figura 3). Evidencia-se que os extratos de todos os genótipos exibiram comportamento similar.

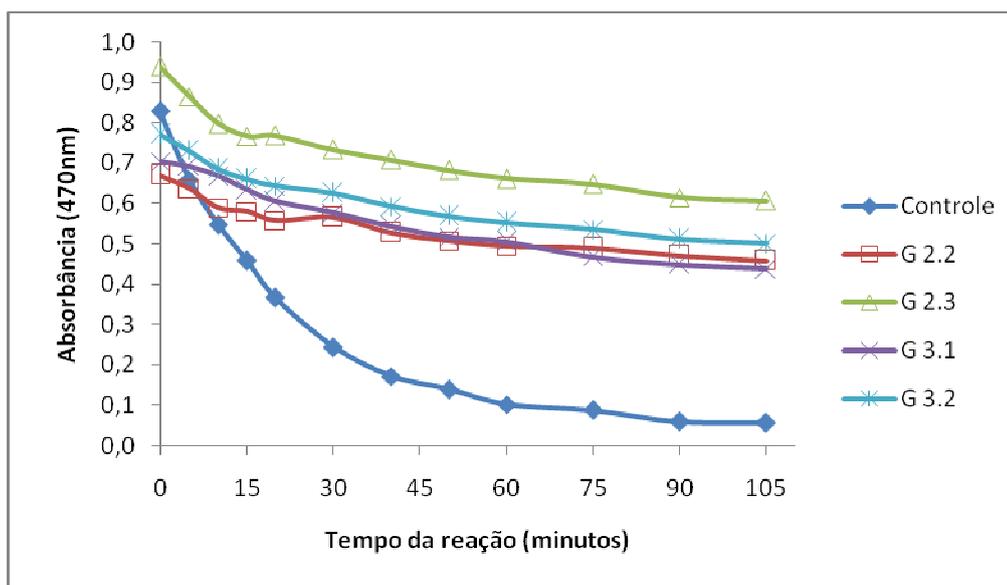


Figura 2. Cinética da ação antioxidante de extratos de frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agrônomo de Pernambuco, em Itambé-PE ($100\mu\text{g}$ de fenólicos totais. mL^{-1} de extrato), em sistema da co-oxidação do β -caroteno/ ácido linoléico.

A partir das curvas cinéticas da oxidação foram calculadas as tangentes em dois intervalos da curva (entre 15 e 45 minutos e entre 75 e 105 minutos), para se obter, respectivamente, os fatores F1 e F2 (Tabela 4). O F1 representa a efetividade do antioxidante em bloquear as reações em cadeia, ocasionadas pelos radicais livres, na etapa de iniciação da oxidação; enquanto que o F2 representa a possibilidade do antioxidante de participar de reações em uma etapa mais adiantada do processo da reação de oxidação, como a decomposição de hidroperóxidos e estabilização de compostos formados ao longo do processo de oxidação. Quanto menor o valor de F1, mais eficientes são os compostos da amostra em retardar ou inibir o processo oxidativo. O valor de F2 tende a ser maior que o do F1, porém para o desempenho do antioxidante ser satisfatório este valor não deve ser superior a 1 (YANISHILIEVA; MARINOVA, 1995).

Tabela 4. Parâmetros cinéticos dos extratos de frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco, em Itambé-PE, na concentração final de 100µg de fenólicos totais. mL⁻¹ de extrato, determinados em sistema da co-oxidação do β-caroteno/ácido linoléico.

Amostras	Fatores	
	F1	F2
G 2.2	0,18 ^b	1,04 ^b
G 2.3	0,20 ^b	1,34 ^a
G 3.1	0,31 ^a	1,00 ^b
G 3.2	0,29 ^a	0,65 ^c

F1= relação entre as tangentes das curvas cinéticas da solução teste e o controle entre 15 e 45 min; F2= relação entre as tangentes das curvas cinéticas da solução-padrão ou teste e o controle entre 75 e 105 min. Os valores referem-se à média de três determinações. Médias seguidas por letras iguais, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan $p>0,05$.

A análise dos dados da Tabela 4 permite evidenciar que todos os genótipos apresentaram efetividade em bloquear a reação em cadeia na etapa de iniciação da oxidação, uma vez que o valor de F1 foi inferior a 1. Entretanto, a intensidade desta ação foi diferenciada entre os genótipos. A melhor ação foi exibida pelo genótipo G 2.2, com o mais baixo valor de F1, sem, contudo, diferir estatisticamente do G 2.3. A ação dos demais genótipos não apresentou diferença significativa entre si, porém foi inferior a dos genótipos G 2.2 e G 2.3.

Os genótipos G 2.2 e G 2.3, embora tenham apresentado eficiência no início da reação de oxidação, o desempenho não continuou satisfatório uma vez que o F2 foi superior a 1. Desta forma, possivelmente, os compostos antioxidantes presentes nestes extratos participam de reações em uma etapa mais adiantada do processo da reação de oxidação, formando espécies radiculares que aceleram o processo oxidativo do sistema. Comportamento diferente foi exibido pelo genótipo G. 3.2 cujo desempenho na fase de propagação da cadeia oxidativa foi mais satisfatório ($F2<1$).

A eficiência dos extratos dos genótipos de cajá-umbu, relativa à fase inicial do processo oxidativo, foi semelhante ao extrato alcoólico da polpa de romã, onde

o fator cinético (F1) calculado utilizando concentração de 86,4 µg de fenólicos totais/mL, foi de 0,18. Para a fase de propagação, verificada pelos valores de F2, o mesmo extrato demonstrou eficiência antioxidante, pois atingiu valor de 0,85, semelhante ao comportamento do extrato do genótipo G 3.2 (JARDINI; MANCINI-FILHO, 2007).

Inibição da peroxidação do ácido linoléico - Método Tiocianato Férrico

O efeito antioxidante dos extratos dos genótipos de cajá-umbu sobre a inibição da peroxidação do ácido linoléico também foi avaliado por meio do método Tiocianato Férrico. Neste ensaio, 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 vermelho sangue, que é monitorado espectrofotometricamente. Na Figura 4, evidencia-se que a absorbância do sistema, com e sem antioxidante, aumentou ao longo do tempo de incubação, atingindo o controle (amostra sem adição de antioxidante), em 48h, o mais elevado valor, para em seguida ocorrer um decréscimo da densidade ótica, momento em que foi interrompido o ensaio. Segundo Jayaprakasha, Singh, e Sakariah (2001), o decréscimo da densidade ótica revela a 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 dos frutos dos genótipos apresentaram comportamento similar entre si.

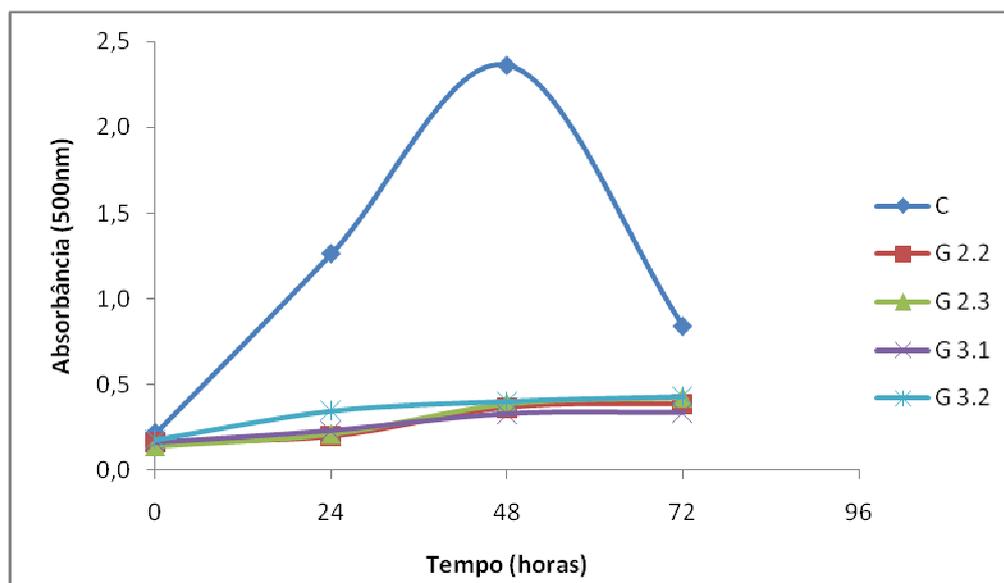


Figura 3. Atividade antioxidante de frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agrônomo de Pernambuco, em Itambé-PE ($100\mu\text{g}$ de fenólicos totais. mL^{-1} de extrato), provenientes de genótipos em emulsão de ácido linoléico (método tiocianato férrico).

Em termos percentuais, a inibição da peroxidação do ácido linoléico pelos extratos de genótipos de cajá-umbu, na concentração de $100\mu\text{g}$ de fenólicos totais/mL, ao atingir 48h do período de incubação, variou de 88,4% a 92,2% (Tabela 5). O extrato do genótipo 3.1 destacou-se por exibir o maior percentual sem, contudo, diferir do G 2.2.

Tabela 5. Inibição da peroxidação do ácido linoléico (%) por ação de extratos de frutos de 4 genótipos de cajá-umbu provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco, em Itambé-PE (100 μ g de fenólicos totais. mL⁻¹ de extrato) (método Tiocianato férrico).

Amostras	Inibição da peroxidação (%)
G 2.2	90,5 \pm 0,4 ^a
G 2.3	88,4 \pm 1,0 ^b
G 3.1	92,2 \pm 2,1 ^a
G 3.2	89,5 \pm 1,2 ^b

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

CONCLUSÕES

Os genótipos de cajá-umbuzeiros possuem bom potencial antioxidante, tanto na captura de radicais livres, doando hidrogênio ou elétron, quanto em meio lipídico, inibindo a peroxidação lipídica. O melhor desempenho frente aos radicais DPPH e ABTS foi exibido pelos frutos do genótipo 3.1. Embora em meio lipídico, todos os genótipos tenham demonstrado ser eficientes em bloquear o início da reação de oxidação, na fase de propagação, verificada pelos valores de F2, o extrato do genótipo G 3.2 demonstrou maior eficiência.

Frente à ação antioxidante exibida, a inserção do cajá-umbu na dieta usual torna-se recomendável, uma vez que este fruto poderá contribuir com o aporte de antioxidante dietético.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

CAVALCANTI, N. B.; RESENDE, G. M.; BRITO, L. T. L.; LIMA, J. B. Extrativismo do imbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara) como fonte alternativa de renda para pequenos produtores no semi-árido nordestino: um estudo de caso. **Ciência e Agrotécnica**, v.20, n.4, p.525-528, 1996.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de sequestro de Radicais DPPH•. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 26, p. 446-452, 2006.

HAMMERSCHMIDT, P. A.; PRATT, D. E. Phenolic antioxidants of dried soybeans. **Journal of Food Science**, v.43, p. 556-559, 1978.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, v.37, p.153-161, 2002.

KUSKOSKI, E. M; ASUERO, A. G. TRONCOSO, N. M; MANCINI-FILHO. J; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25 n. 4 p. 726-732, 2005.

JARDINI, F. A.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum*, L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 43, n. 1, 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**, v. 73, n. 3, p. 285-290, 2001.

LIMA, E. D. P. A.; LIMA, C. A. A.; ALDRIGUE, M. L.; GONDIM, P. S. Caracterização física e química dos frutos da umbu-cajazeira (*Spondias* spp.) em cinco estádios de maturação, da polpa e néctar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 2, p. 338-343, 2002.

MARCO, G. J. A rapid methods for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemist' Society**, v.45, p. 594-598, 1968.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.50, n.1, p.5-18, 2000.

MELO, E. A; MACIEL, M. I. S; LIMA, V. L. A. G; ARAÚJO, C. R. Teor de fenólicos totais e capacidade Antioxidante de polpas congeladas de frutas. **Alimentos e Nutrição**, v.19, n.1, p. 67-72, 2008.

MELO, E. A; MACIEL, M. I. S; LIMA, V. L. A. G; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. vol. 44, n. 2, 2008.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, 26, p. 1231–1237, 1999.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acid. **Free Radical Biology and Medicine**, v.20, n.7, p.933-956, 1996.

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**, v.27, n.1, p.53-60, 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURACALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant

capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p. 996–1002, 2010.

SACRAMENTO, C. K.; SOUSA, F. X. **Cajá (*Spondias mombin* L.)**. FUNEP, Jaboticabal. 52p. (Série Frutas Nativas, n. 4), 2000.

SCALZO, J.; POLITI, A.; PELLEGRINI, N.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. **Nutrition**, v.21, n. 2, p. 207-213, 2005.

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.

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**, v. 22, 1999.

SILVA, D. C. F.; NASCIMENTO, M. A.; MOREIRA, A. V. B. Verificação da presença de compostos fenólicos com propriedades antioxidantes em amostras de café. **Nutrire**, v.32, n.1, p.41-58, 2007.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; Costa, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, Vol. 30, No. 2, p. 351-355, 2007.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, p. 816–823, 2008.

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, n. 5, p.1801-1812, 1999.

YANISHILIEVA, N. V. I.; MARINOVA, E. M. Effects of antioxidants on the stability of triacylglycerols and methyl esters of fatty acids of sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 54, n. 4, p. 377-382, 1995.

CONCLUSÕES GERAIS

Nas condições em que foram desenvolvidos os experimentos, os resultados obtidos permitem concluir que:

Frutos dos genótipos de cajá-umbuzeiros do Banco de Germoplasma do IPA apresentaram teor relevante de polifenóis totais, baixos teores de ácido ascórbico e de carotenóides. O β -caroteno-5,6-5'6'-diepóxido foi o componente majoritário dos genótipos G 2.2; G 2.3; G 3.1, enquanto que a luteína-5,6 epóxido foi encontrada em maior quantidade no G 3.2. A maior parte dos polifenóis presente nestes frutos foi solubilizada em acetona 80%, e o sistema de extração sequencial que teve esta solução como primeiro solvente extrator foi mais eficiente na extração dos polifenóis de frutos de cajá-umbu.

Os frutos de todos os genótipos apresentaram um bom potencial antioxidante, tanto na captura de radicais livres, doando hidrogênio ou elétron, quanto em meio lipídico, inibindo a peroxidação lipídica. Entretanto, o melhor desempenho frente aos radicais DPPH e ABTS foi exibido pelos frutos do genótipo 3.1. Em meio lipídico, demonstram ser eficiente em bloquear o início da reação de oxidação, porém na fase de propagação, o genótipo G 3.2 demonstrou maior eficiência. Possivelmente, ação antioxidante exibida decorra, principalmente, dos polifenóis presentes nestes frutos.

Frente à ação antioxidante exibida, a inserção do cajá-umbu na dieta usual torna-se recomendável, uma vez que este fruto poderá contribuir com o aporte de antioxidante dietético, propiciando efeitos benéficos ao organismo.