



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS



**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE
DOS FRUTOS DA *Terminalia catappa* Linn**

ANDRÉIA ALVES DE PAULA

**ITAPETINGA
BAHIA - BRASIL
2008**

ANDRÉIA ALVES DE PAULA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
ANTIOXIDANTE DOS FRUTOS DA *Terminalia catappa* Linn**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador:
Prof^a Dr^a Alexilda Oliveira de Souza

Co-orientador:
Prof. Dr. Genebaldo Sales Nunes

ITAPETINGA
BAHIA - BRASIL
2008

634.53 P346c	<p>Paula, Andréia Alves de.</p> <p>Caracterização físico-química e avaliação do potencial antioxidante dos frutos da <i>Terminalia catappa</i> Linn./ Andréia Alves de Paula. – Itapetinga: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2008. 91p.</p> <p>Dissertação do Programa de Pós-Graduação “<i>Strictu Senso</i>” do Curso de Mestrado em Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação da Prof^a. DSc. Alexilda Oliveira de Souza e co-orientação do Prof. DSc Genebaldo Sales Nunes.</p> <p>1. <i>Terminalia catappa</i> Linn – Atividade antioxidante. 2. Amendoeira-da-praia – Utilização – Frutos. 3. Castanheira – Usos – Medicina popular. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. II. Souza, Alexilda Oliveira de. III. Nunes, Genebaldo Sales. IV. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD(21): 634.53</p>
-----------------	--

Catálogo na Fonte:

Cláudia Aparecida de Souza – CRB 1014-5ª Região
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por assunto:

1. *Terminalia catappa* Linn – Atividade antioxidante
2. Amendoeira-da-praia – Utilização
3. Castanheira – Usos
4. Nutrição humana – Frutos – Amêndoas

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Campus de Itapetinga-BA

TERMO DE APROVAÇÃO

Título: Caracterização físico-química e avaliação do potencial antioxidante dos frutos da *Terminalia catappa* Linn

Autor: Andréia Alves de Paula

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de **Mestre em Engenharia de Alimentos**, pela Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Alexilda Oliveira de Souza – UESB
Presidente

Prof. Dr^a. Rosenira Serpa da Cruz - UESC

Prof^a. Dr^a. Simone Andrade Gualberto – UESB

Data da defesa: 08/08/2008

Dedico este trabalho à minha grande e eterna amiga, Deborah Oliveira Aguilar (in memorian), aos meus pais e à minha amada família que sempre me apoiaram nas minhas realizações.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, pela oportunidade de realizar este curso.

À FAPESB pelo suporte financeiro.

À professora Alexilda Oliveira de Souza, pela orientação, pelo apoio, pela amizade e pela compreensão nos momentos difíceis.

Ao professor Genebaldo Sales Nunes, que gentilmente permitiu que eu pudesse contribuir com seu projeto de pesquisa, por sua amizade e suas sugestões oportunas.

À professora Simone A. Gualberto, pelo apoio, incentivo, companheirismo, pelas sugestões e por abrir as portas para o treinamento realizado na Universidade de Salamanca, Salamanca, Espanha.

À Rosenira Serpa da Cruz, pela disponibilidade em contribuir com a minha formação, através de sugestões e correções e por disponibilizar o laboratório de pesquisa em biocombustível da UESC, em Ilhéus – BA.

À professora Mara Lucia Pereira Albuquerque por ceder o espaço para realização desse trabalho.

Aos professores Marcondes Viana, Ronan Batista, Paulo Bonomo, Carmen Rech, José Rech, Aureliano José Vieira Pires e demais colegas professores, pela disponibilidade, pelas críticas, sugestões e conselhos, que muito contribuíram para o enriquecimento deste trabalho.

Aos professores Julian C. Rivas Gonzalo, M^a. Ángeles Castro González e Dr. José M^a Miguel del Corral Santana, a José Joaquin Pérez Alonso e a todos da Faculdade de Farmácia da Universidade de Salamanca.

Ao Dr. André M. Amorim, curador do Herbário André Maurício Vieira de Carvalho, do CEPEC, localizado em Ilhéus – BA, pela disponibilidade em identificar a espécie.

Aos alunos de iniciação científica Wilson Rodrigues, Davi Fogaça e Francisco Júnior, sem a ajuda dos quais a realização deste trabalho não se tornaria possível. Aos demais colegas, que ajudaram a realizar algumas análises: Aristides, Newton, Lara Covre e Fernanda.

Um agradecimento especial à Alana Lemos, pela troca de informações, pelo auxílio em algumas análises, incentivo, apoio nas horas difíceis, pela disponibilidade e acima de tudo bom humor e amizade.

A toda comunidade da UESB que de uma forma direta ou indireta contribuiu na realização deste trabalho, com incentivos, votos de sucesso, sugestões, amizade, companheirismo e pela compreensão na minha ausência em tempo dispensado por mim na elaboração do mesmo.

Um agradecimento especial aos meus pais, por sempre me incentivarem a estudar e por construírem a base da minha educação e valores, me proporcionando alcançar esta vitória.

A todos aqueles que porventura não tenham sido citados, mas que com certeza contribuíram de forma importante para a realização deste trabalho.

RESUMO

PAULA, A. A. de **Caracterização físico-química e avaliação do potencial antioxidante dos frutos da *Terminalia catappa* Linn.** Itapetinga-BA: UESB, 2008. 91p. (Dissertação - Mestrado em Engenharia de Alimentos).*

Caracterizações físicas e químicas dos frutos da *Terminalia catappa* Linn (Combretaceae) coletados na cidade de Itapetinga-BA, foram realizadas. Foram determinados os seguintes parâmetros: umidade, cinzas, minerais, lipídios, fibras, proteínas, carboidratos, sólidos solúveis totais (°Brix), acidez total e pH, os quais indicaram um potencial de aplicação nutricional e tecnológico da polpa e sementes desta espécie. O extrato etanólico da polpa exibiu um alto teor de compostos fenólicos totais (2319.0 ± 249.0 mg/100 g em equivalentes de ácido gálico), determinado pelo método Folin-Ciocalteu, os quais devem ser os principais componentes ativos responsáveis pelas suas propriedades antioxidantes. Perfis cromatográficos dos extratos, usando HPLC/MS, indicaram, principalmente, a presença de antocianinas e flavonóis. A atividade antioxidante foi avaliada por meio do sistema β -caroteno/ácido linoléico e pelo método de seqüestro de radicais livres (DPPH•, 2,2-difenil-1-picrilhidrazila), expressos como %I (porcentagem de inibição da oxidação relativa ao controle) e %SRL (porcentagem de seqüestro de radicais livres), respectivamente. Os valores médios obtidos, %I = 93.0 ± 5.3 % e %SRL = 93.5 ± 0.8 %, foram semelhantes aos obtidos com o padrão BHA.

Palavras-chaves: *Terminalia catappa*; amêndoa tropical, atividade antioxidante, compostos fenólicos.

*Orientador: Alexilda Oliveira de Souza, *D.Sc.*, UESB e Co-orientador: Genebaldo Sales Nunes, *D.Sc.*, UESB.

ABSTRACT

PAULA, A. A. de **Physicochemical characterization and antioxidant potential evaluation of *Terminalia catappa* Linn fruits**. Itapetinga-BA: UESB, 2008. 91p. (Thesis – Mastership in Food Engineering).*

Physical and chemical characterizations of fruits from *Terminalia catappa* Linn (Combretaceae), collected in Itapetinga-BA, were examined. The follow parameters were determined: humidity, minerals, lipids, fibers, proteins, carbohydrates, total soluble sugar (°Brix), total acidity and pH, which indicated nutrition and technologic potential applications of pulp and seeds of that species. The ethanolic extract of pulp showed a high total phenolic content ($2319 \pm 249,0$ mg/100 g in gallic acid equivalents), obtained according to the Folin-Ciocalteau method, which might be the main active compounds responsible for the antioxidant properties of the extract. HPLC/MS analysis of the extract indicated, mainly, the presence of anthocyanins and flavonols. Antioxidant activity was evaluated by β -carotene/linoleic acid method and free radical scavenging assay (DPPH•, 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), expressed as %I (percent inhibition relative to the control) and %FRS (percent free radical scavenging), respectively. The mean values obtained, %I = $93,0 \pm 5,3$ % e %FRS = $93,5 \pm 0,8$ %, were similar to that observed to the standard BHA.

Keywords: *Terminalia catappa*, tropical almond, antioxidant activity, phenolic compounds.

*Adviser: Alexilda Oliveira de Souza, *D.Sc.*, UESB and Co-advise: Genebaldo Sales Nunes, *D.Sc.*, UESB.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.1 - Árvores e folhas da espécie <i>Terminalia catappa</i> (Itapetinga-BA) .	21
Figura 1.2 - Partes do fruto da <i>Terminalia catappa</i> (amêndoa-da-praia) .	23
Figura 1.3 – Punicalina e punicalagina .	25
Figura 1.4 - Amêndoas inteiras e despulpadas (caroços) .	28

CAPÍTULO 2

Figura 2.1 - Catecol, guaiacol e floroglucinol .	46
Figura 2.2 - Ácidos fenólicos derivados do ácido benzóico .	46
Figura 2.3 - Ácidos <i>p</i> -hidroxicinâmicos .	47
Figura 2.4 - Ácido caféico e ácido clorogênico .	47
Figura 2.5 - 2-fenilbenzopirona, núcleo dos flavonóides .	48
Figura 2.6 - Principais grupos estruturais de flavonóides .	49
Figura 2.7 - Antocianinas .	50
Figura 2.8 - Formas estruturais de antocianinas em equilíbrio em meio aquoso .	51
Figura 2.9 - Unidades estruturais de taninos hidrolisáveis .	52
Figura 2.10 - Ligações <i>m</i> -depsídicas entre as unidades de ácido gálico para formar taninos gálicos .	52
Figura 2.11 - Elagitaninos .	53
Figura 2.12 - Proantocianidinas .	54
Figura 2.13 - Curva analítica de ácido gálico .	59
Figura 2.14 - Cromatograma das principais antocianinas detectadas .	61
Figura 2.15 - Flavonóides detectados no extrato etanólico da polpa .	62
Figura 2.16 - Cromatograma das principais antocianinas detectadas .	62

CAPÍTULO 3

Figura 3.1 - Principais antioxidantes usados em alimentos .	71
Figura 3.2 - Radical livre 2,2-difenil-1-picrilidrazil (DPPH•) .	74
Figura 3.3 - Mecanismos de reação entre radicais livres e fenóis .	75
Figura 3.4 - Atividade antioxidante do extrato e do BHA em diferentes concentrações .	80
Figura 3.5 - Descoramento do β -caroteno na presença de diferentes concentrações de extrato e na ausência (controle) .	81
Figura 3.6 - Porcentagem de seqüestro de radicais livres DPPH (% SRL) das soluções do extrato etanólico da polpa da <i>T. catappa</i> e do BHA, em diferentes concentrações .	82

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1.1 - Principais aspectos estudados sobre a <i>T. catappa</i> , descritos na literatura.....	26
Tabela 1.2 - Composição centesimal e de fibras da polpa e da castanha dos frutos da <i>Terminalia catappa</i> coletados em Itapetinga-BA	33
Tabela 1.3 - Composição centesimal de frutas	33
Tabela 1.4 - Composição centesimal da noz e da castanha-do-pará.....	34
Tabela 1.5 - Valores de pH e acidez para a polpa e as castanhas da <i>T. catappa</i> frescas	37
Tabela 1.6 - Teores médios de elementos minerais	39

CAPÍTULO 2

Tabela 2.1- Condições utilizadas na obtenção do perfil cromatográfico das antocianinas	57
Tabela 2.2 - Condições utilizadas na obtenção do perfil cromatográfico dos flavonóis	58
Tabela 2.3 - Teor de compostos fenólicos totais em frutos tropicais expressos em mg de ácido gálico / 100 g de frutos (extratos do jambolão e polpas congeladas comercializadas, reconstituídas)	60
Tabela 2.4 - Teores de polifenóis totais das frações das uvas expressos em mg de ácido gálico/ 100 g da fração em base seca	60

LISTA DE SÍMBOLOS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHA	Butil hidroxi anisol
BHT	Butil hidroxi tolueno
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i> Cromatografia líquida de alta eficiência
DPPH	2,2-difenil-1-picrilidrazil
FB	Fibra bruta
FD	Fibra dietética
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
FRX	Fluorescência de raios-X
% I	Porcentagem de inibição da oxidação
SRL	Seqüestro de radicais livres
SST	Sólidos solúveis totais

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	19
CAPÍTULO 1 - CARACTERIZAÇÕES FÍSICAS E QUÍMICAS DOS FRUTOS DA ESPÉCIE <i>Terminalia catappa</i> Linn	
1 REVISÃO DE LITERATURA.....	21
1.1 Considerações gerais sobre a <i>Terminalia catappa</i> L.....	21
1.2 Atividades biológicas da <i>Terminalia catappa</i> L.....	24
2 OBJETIVOS.....	27
2.1 Objetivo geral.....	27
2.2 Objetivos específicos.....	27
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1 Coleta dos frutos.....	28
3.2 Caracterizações físicas e químicas da polpa e das sementes	28
3.2.1 Medida do pH.....	29
3.2.2 Determinação da acidez titulável.....	29
3.2.3 Sólidos solúveis totais (°Brix) da polpa.....	29
3.2.4 Determinação da umidade.....	30
3.2.5 Determinação do teor de cinzas.....	30
3.2.6 Determinação da composição de minerais.....	30
3.2.7 Determinação do teor de lipídios.....	30
3.2.8 Determinação do teor de fibras.....	31
3.2.9 Determinação do teor de proteína bruta.....	31
3.2.10 Determinação do teor de carboidratos.....	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1 Composição centesimal.....	33
4.2 Teor de fibras.....	35
4.3 Acidez total e pH.....	36
4.4 Teor de sólidos solúveis totais da polpa.....	37
4.5 Composição de minerais.....	38
5 CONCLUSÃO.....	40
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
CAPÍTULO 2 - EXTRAÇÃO, QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS E IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DA POLPA DOS FRUTOS DA <i>Terminalia catappa</i> Linn	
1 REVISÃO DE LITERATURA.....	45
1.1 Compostos fenólicos.....	45
1.2 Estrutura e classificação dos compostos fenólicos	46
1.2.1 Fenóis simples.....	46
1.2.2 Ácidos fenólicos.....	46
1.2.3 Flavonóides.....	48
1.2.4 Taninos.....	51
2 OBJETIVOS.....	55
2.1 Objetivo geral.....	55
2.2 Objetivos específicos.....	55
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	56
3.1 Obtenção dos extratos da polpa.....	56
3.2 Determinação de fenóis totais.....	56
3.3 Determinação do perfil cromatográfico das amostras utilizando HPLC acoplado a espectrometria de massas	57

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
4.1 Teor de compostos fenólicos totais.....	59
4.2 Perfil cromatográfico das amostras.....	61
5 CONCLUSÃO.....	63
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i> DO EXTRATO ETANÓLICO DA POLPA <i>Terminalia catappa</i> Linn	
1 REVISÃO DE LITERATURA.....	67
1.1 Oxidação e saúde	67
1.2 Antioxidantes naturalmente presentes em alimentos.....	68
1.3 Mecanismo da oxidação de lipídios.....	69
1.4 Antioxidantes como aditivos	70
1.5 Análises da capacidade antioxidante <i>in vitro</i>	73
2 OBJETIVOS	77
2.1 Objetivo geral	77
2.2 Objetivos específicos	77
3 MATERIAL E MÉTODOS	78
3.1 Determinação da atividade antioxidante.....	78
3.2 Seqüestro de radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH).....	79
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	80
4.1 Inibição da oxidação	80
4.2 Seqüestro de radicais livres DPPH	82
5 CONCLUSÃO.....	84
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85
CONSIDERAÇÕES FINAIS	89
PERSPECTIVAS.....	91

INTRODUÇÃO GERAL

A *Terminalia catappa* Linn (Combretaceae) cresce em regiões tropicais e subtropicais ao longo do mundo, particularmente localizadas em áreas costeiras. Suas árvores são bastante conhecidas pela vasta sombra que proporcionam ao longo das praias ensolaradas de toda a costa brasileira. Essa espécie é nativa da Ásia e foi introduzida no Brasil como árvore ornamental, sendo comum o consumo de seus frutos por crianças.

Na Ásia, tradicionalmente as folhas da *T. catappa* são submetidas à extração em água quente e usadas como bebida medicinal popular (chá) no tratamento de diversas doenças. O fruto (amêndoa-da-praia), por sua vez, possui polpa e sementes comestíveis, embora raramente aproveitadas.

Várias pesquisas têm sido realizadas sobre as propriedades biológicas dessa espécie na saúde humana, tendo sido descritas várias atividades como antiinflamatória, antitumoral, antiviral e antidiabética. Os estudos indicam que essas propriedades estão associadas à atividade antioxidante apresentada por extratos dessa planta. Além disso, seus frutos apresentam um teor elevado de ácido ascórbico, da ordem de 100 mg por 100 g de tecido. No entanto, essa espécie ainda não tem uma ampla aplicação terapêutica ou nutricional. Poucos estudos têm sido realizados no país na tentativa de isolar e caracterizar os principais componentes das folhas e frutos da *T. catappa*. Isto seria de grande interesse, uma vez que o cultivo da espécie em diferentes países pode fazer variar consideravelmente o teor de seus princípios ativos e influenciar no espectro de ações que ela pode apresentar.

A presença taninos e outros compostos fenólicos nas folhas da *T. catappa* revela que elas podem servir como fontes de antioxidantes naturais. No entanto, pouco se sabe com relação à atividade antioxidante dos extratos dos seus frutos. Antioxidantes são de grande interesse para a indústria de alimentos, uma vez que são essenciais para evitar reações deteriorativas, além da importância que têm no combate dos radicais livres, espécies importantes no processo de desenvolvimento de doenças. Considerando que restrições são impostas ao uso de antioxidantes sintéticos, como o BHA e o BHT, largamente empregados em alimentos, devido à toxicidade apresentada por estes compostos, há um interesse crescente no uso de antioxidantes naturais, obtidos de fontes alternativas.

Considerando os aspectos destacados, neste trabalho avaliou-se a composição química, o teor e a identificação de compostos fenólicos e a atividade antioxidante dos frutos da *T. catappa* com a finalidade de avaliar o potencial dessa espécie como uma alternativa nutricional de baixo custo.

A dissertação foi organizada em três capítulos, no primeiro destacou-se a composição química dos frutos, no segundo apresentou-se a quantificação e identificação dos compostos fenólicos presentes no extrato da polpa do fruto e no terceiro avaliou-se o poder antioxidante desse extrato.

CAPÍTULO 1

CARACTERIZAÇÕES FÍSICAS E QUÍMICAS DOS FRUTOS DA *Terminalia catappa* Linn COLETADOS EM ITAPETINGA - BA

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Considerações gerais sobre a *Terminalia catappa* L.

A *Terminalia catappa* Linn (da família Combretaceae) cresce em regiões tropicais e subtropicais, particularmente localizadas em áreas costeiras. Essa espécie é nativa de áreas próximas a regiões costeiras do Oceano Índico, na Ásia tropical e da região que compreende várias ilhas a oeste do Oceano Pacífico, como Malásia, Indonésia e ilhas da região da Melanésia. Como consequência da migração humana essa árvore foi introduzida e naturalizada, principalmente próximo ao litoral, em muitos países tropicais do mundo, incluindo o Brasil. Suas árvores (Figura 1.1) são bastante conhecidas pela vasta sombra que proporcionam ao longo das praias da costa brasileira (Francis, 1989; Lin, 1992; Thomson e Evans, 2006).



Figura 1.1 – Árvores e folhas da espécie *Terminalia catappa* (Itapetinga – BA)

Amendoeira-da-praia, amendoeira-da-índia e amendoeira tropical são algumas das denominações dadas à referida árvore (Francis, 1989; Tassara, 1996; Thomson e Evans, 2006). No Brasil é ainda conhecida como castanhola, chapéu-de-sol, guarda-sol (Michaelis 2000), sete copas, castanheira-da-praia entre outras denominações, em diferentes regiões do país.

A amendoeira-da-praia é uma árvore popular que fornece sombra ao longo dos trópicos (González-Mendoza et al., 2006; Thomson e Evans, 2006), possuindo uma copa ampla e bonita, com folhas que dão aspecto ornamental. Parte dessa aparência ornamental se deve às cores das folhas que se tornam púrpuras ou amarelas antes do desfolhamento anual. Mesmo sendo comumente encontrada em áreas urbanas litorâneas, essa espécie é adaptável a diferentes solos, incluindo os inférteis e arenosos (Thomson e Evans, 2006).

A *T. catappa* tem sido tradicionalmente muito importante para as comunidades costeiras do Oceano Pacífico, provendo uma extensa gama de produtos e serviços. Nessas regiões ela é largamente plantada para sombra, ornamentação e produção de castanhas comestíveis. Sua madeira é utilizada para confecção de utensílios e objetos decorativos em geral, móveis e construções de interiores. Além disso, seu sistema de raízes desempenha um papel vital na estabilização do litoral (Thomson e Evans, 2006).

Tradicionalmente as folhas da *T. catappa* são submetidas à extração em água quente para o preparo de bebida (chá) (Peterson e Johnson, 1978). Essas folhas têm sido usadas como fontes medicinais populares para diarreia e como antitérmico, na Índia, Filipinas e Malásia. Em Taiwan, têm sido aplicadas para prevenir hepatomas e no tratamento da hepatite. Estudos recentes mostram que a *T. catappa* apresenta, também, propriedades antioxidantes e antiinflamatórias (Lin, 1992; Lin et al., 1997; Chen et al., 2000).

As árvores perdem suas folhas uma ou duas vezes ao ano durante os períodos secos, florescem e frutificam anualmente, mas, em muitas áreas como no Havaí, Fiji e Tonga, frutificam e florescem continuamente ao longo do ano (Thomson e Evans, 2006). O fruto tem formato ovóide, de aproximadamente 5 a 7 cm, inicialmente verde, tornando-se arroxeadado quando maduro. A Figura 1.2 ilustra as partes dessa fruta, que é constituída por uma pele externa (exocarpo), pela polpa (mesocarpo) e, em seu interior, por um caroço duro (endocarpo), contendo a semente comestível, de sabor doce muito agradável ao paladar, que é revestida por uma película (Thomson e Evans, 2006; Vareschi, 1979 citado por González-Mendoza et al., 2006).

Segundo os dicionários Michaelis (2000) e Ferreira et al. (1993), o termo amêndoa pode ser dado aos frutos provenientes de muitas árvores que produzem sementes oleaginosas, incluindo a espécie *T. catappa*. Esse termo também pode designar o caroço que contém a semente ou qualquer semente contida em caroço. Segundo esses dicionários, os termos noz e castanha também podem dar nome a esses frutos. A palavra castanha é usada neste trabalho para designar a semente oleaginosa comestível desse fruto.

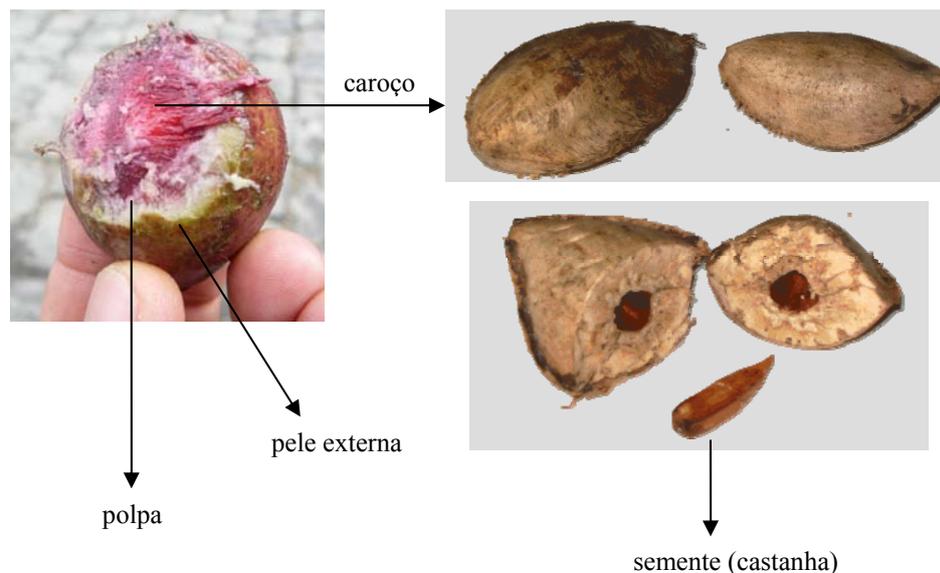


Figura 1.2 – Partes do fruto da *Terminalia catappa* (amêndoa-da-praia)

As amêndoas-da-praia possuem polpa comestível, embora raramente aproveitada, talvez por ser muitas vezes fibrosa e não muito saborosa. Às vezes as crianças consomem a polpa de certos tipos de frutas mais agradáveis. Além disso, nas Filipinas, um tipo de vinho é produzido a partir da fermentação dos frutos maduros (Tassara, 1996; Thomson e Evans, 2006).

As castanhas são importantes fontes alimentares em algumas regiões da Ásia, enquanto em outras, são raramente consumidas ou consumidas apenas por crianças. A dificuldade de extrair a semente, a qualidade comestível variável e a ausência de variedades com sementes maiores podem explicar a não utilização das castanhas em muitos locais (Thomson e Evans, 2006).

Amêndoas com sementes maiores e caroços mais macios foram selecionadas, preferencialmente propagadas e mantidas em algumas áreas da Melanésia. Nessa região existem pequenas plantações desses tipos selecionados para a produção de castanhas, que são vendidas em alguns mercados locais e constituem uma importante fonte de alimentação e de renda (Thomson e Evans, 2006).

Quantidades significativas de frutas são produzidas de 3 a 5 anos após a plantação, com frutificações regulares de uma a duas vezes ao ano. A produção de sementes das castanhas é estimada em 5 kg por árvore, por ano e pode ser o dobro a partir de estirpes geneticamente selecionadas e cultivadas em lugares de alta qualidade. Os principais obstáculos para a comercialização da castanha em algumas regiões do Pacífico, na Ásia, são o baixo conteúdo de semente, a falta de tecnologias de armazenamento comercial nas próprias fazendas, que permitam processamento nas

vilas, e os altos custos de transporte das sementes para unidades processadoras centrais (Thomson e Evans, 2006).

1.2. Atividades biológicas da *Terminalia catappa* L.

A *T. catappa* é comumente usada na medicina popular no Taiwan para o tratamento de doenças associadas ao estômago (Lin e Kan, 1990). Tradicionalmente, somente as folhas caídas são usadas na preparação de infusões para bebida, pelo fato das folhas verdes apresentarem um sabor muito adstringente, devido à presença de alto teor de taninos (Peterson e Johnson, 1978).

Essa espécie tem sido objeto de estudo de muitos pesquisadores asiáticos, em especial na China, Japão e Taiwan. Muitos trabalhos se referem aos estudos fitoquímicos, através dos quais se realizam extrações com diferentes solventes, a partir de várias partes da planta, para posterior avaliação das atividades biológicas dos extratos ou dos compostos majoritários isolados dos mesmos, para algum tipo de atividade específica (Chen et al., 2000; Fan et al., 2004; Ko et al., 2002; Lin, 1992; Lin et al., 1997; Lin et al., 1998; Lin e Hsu, 1999; Lin et al., 1999; Lin, Hsu e Lin, 2001; Lin et al., 2001; Liu et al., 1996; Nagappa et al., 2003; Ratnasooriya e Dharmasiri, 2000; Ratnasooriya et al., 2002; Tang et al.; Vrushabendra Swamy et al., 2006).

Várias atividades biológicas já foram descritas para a planta, como antioxidante (Chyau et al., 2002; Chyau et al., 2006; Lin, Hsu e Lin, 2001; Ko et al., 2002), antiinflamatória (Fan et al., 2004), antitumoral (Chen et al., 2000; Liu et al., 1996), antiviral (Tanaka, et al., 1986) e antidiabética (Nagappa et al., 2003).

Essas atividades foram atribuídas, principalmente, à presença de compostos fenólicos, sendo que alguns compostos já foram isolados e caracterizados. Os taninos hidrolisáveis são os principais compostos associados à atividade antioxidante (Chen et al., 2000), sendo a punicalina e a punicalagina (Figura 1.3) os compostos mais abundantes, encontrados nas folhas, associados a este tipo de ação. Além destes, outros compostos fenólicos menos abundantes têm sido isolados e associados à atividade antioxidante da *T. catappa*, como também ácidos benzóicos e cumáricos e seus derivados (Chyau et al., 2006). A punicalina e a punicalagina também têm sido associadas à atividade antitumoral (Chen, et al., 2000) e antiviral (Tanaka et al., 1986), o que pode ser uma consequência da atividade antioxidante destes compostos. A atividade antiinflamatória tem sido associada à presença de ácidos triterpênicos, principalmente o ácido ursólico e seu derivado (Fan et al., 2004). A atividade antidiabética também já foi descrita para os taninos, mas existem estudos que a associam à presença de β -caroteno (Nagappa et al., 2003).

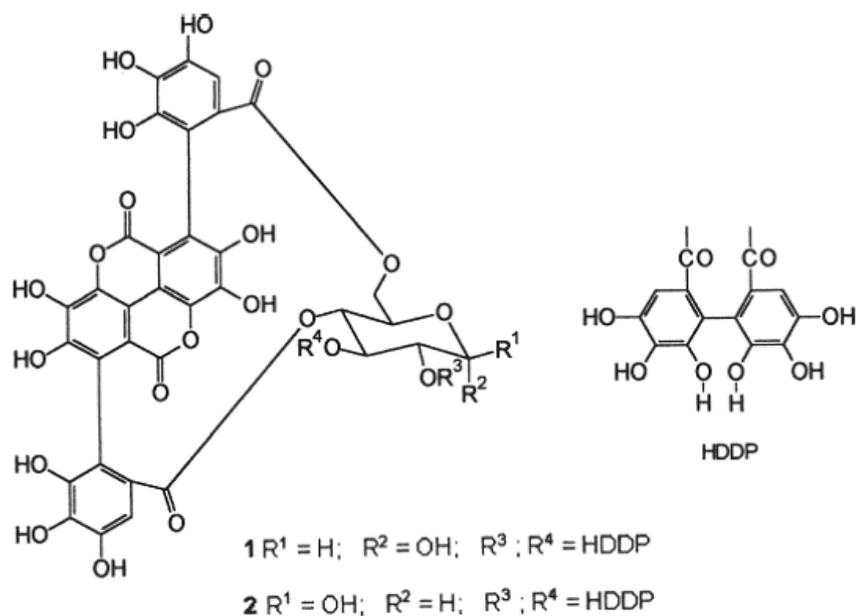


Figura 1.3 – Punicalina (1) e punicalagina (2)

A respeito de uma avaliação mais ampla do conteúdo nutricional da planta, só foram encontradas referências deste tipo de estudos para as sementes (Oliveira et al., 2000).

Nesse contexto, na Tabela 1.1 estão destacados os principais aspectos estudados a respeito da *T. catappa*, na qual se descrevem os compostos ativos já isolados de diferentes partes da planta e suas atividades biológicas. Verifica-se que os extratos obtidos a partir das folhas são os mais estudados, entretanto poucos estudos foram descritos sobre os frutos.

No Brasil, poucos trabalhos sobre a planta foram descritos, embora a mesma esteja vastamente distribuída em todo o país, inclusive na região do sudoeste baiano.

Diante do exposto, a proposta deste trabalho é realizar um estudo mais detalhado a respeito da polpa e das sementes da *T. catappa*, para ampliar as informações acerca das suas propriedades físico-químicas.

Tabela 1.1 – Principais aspectos estudados sobre a *T. catappa*, descritos na literatura

Parte Estudada	Extrato(s)	Atividade Biológica/Nutricional	Compostos Descritos	Análise Cromatográfica	Referência
Sementes	Aquoso	Tolerância para uso nutricional	-	-	Oliveira et al., 2000
	Suspensão a 1% em metil celulose	Inibidor de ejaculação precoce	Alcalóides	-	Ratnasooriya et al., 2000
Folhas	Aquoso	Proteção contra genotoxicidade em cultura de células de ovário de hamster (atividade antimutagênica)	Punicalagina	-	Chen et al., 2000
	Aquoso	Anticlastogênica (antitumoral)	Punicalina e punicalagina	-	Liu et al., 1996
	CO ₂ (supercrítico)	Aroma, antioxidante	18 identificados: fitol, terpenos, aldeídos e outros compostos simples.	CG/MS e Olfatometria	Mau et al., 2003
	Óleo essencial	Antioxidante			Wang et al., 2000
	<ul style="list-style-type: none"> • Pentano • Diclorometano • Acetato Etila • Metanol 	Antioxidante	-	-	Chyau et al., 2002
	Aquoso	Antioxidante	Ácidos cumáricos, benzóicos e outros (banco de dados)	CG/MS	Chyau et al., 2006
	-	Antioxidante	Punicalagina e punicalina.	-	Lin, Hsu e Lin, 2001
	Etanólico	Fração clorofórmica com mais ação antiinflamatória	Triterpenos: ácido ursólico e outros	-	Fan et al., 2004
	<ul style="list-style-type: none"> • Metanólico • Aquoso • Etéreo 	Antidiarréico	-	-	Vrushabendra Swamy, 2006
	-	Hepatoprotetora	Punicalina e punicalagina	-	Lin et al., 1998 ; Lin et al., 2001
	clorofórmico	Hepatoprotetora	-	-	Tang et al., 2006
	aquoso	Hepatoprotetora			Lin et al., 1997
	-	Antiinflamatória	Punicalina e punicalagina	-	Lin et al., 1999
	aquoso	Antinociceptivo (antiinflamatória, antipirético e analgésico)	-	-	Ratnasooriya, 2002
			Taninos hidrolisáveis (Terflavinas A e B, tergalagina, tercataína)		Tanaka et al., 1986
Folhas e sementes	CO ₂ (supercrítico)	Antioxidante	esqualeno	CG, HPLC	Ko et al., 2002
Frutos	<ul style="list-style-type: none"> • Eter de petróleo • Metanol • Aquoso 	Todos os 3 extratos com atividade antidiabética	Taninos	-	Nagappa et al., 2003
		Nutricional	Ácido ascórbico		Keshinro et al., 1985
			Taninos		Lin, 1992
Cascas	Acetona – água (8:2)	-	19 isolados: catapanina A, outros taninos, ác. fenólicos e flavonóis	-	Lin e Hsu, 1999

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Caracterizar, por meio de parâmetros físicos e químicos, as amostras da polpa e das sementes da *T. catappa* a partir de frutos coletados na cidade de Itapetinga – BA.

2.2. Objetivos Específicos

- Determinar a composição centesimal da polpa e das sementes, a partir da determinação dos teores de umidade, carboidratos, proteínas, lipídios, cinzas e fibras.
- Caracterizar a polpa e as sementes quanto à acidez total titulável e ao pH.
- Avaliar o teor de sólidos solúveis totais da polpa.
- Determinar a composição e o teor de minerais da polpa e sementes.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Coleta dos frutos

Os frutos da *Terminalia catappa* Linn (amêndoas) foram coletados de três árvores distintas localizadas no clube da AABB e no Estádio Municipal Primavera, na cidade de Itapetinga – BA, em março de 2008. A Amostra testemunho da espécie foi incorporada ao acervo do Herbário André Maurício Vieira de Carvalho, do CEPEC, em Ilhéus – BA, sob o N° de registro 122.935 e identificada pelo curador do herbário Dr. André M. Amorim. Foram selecionadas amêndoas no estágio de maturação em que são consumidas (coloração arroxeada), uma vez que não existem estudos sobre padrões dos estágios de maturação da mesma. Após lavagem em água destilada e secagem manual dos frutos, eles foram despulpados, sem a eliminação da casca, no laboratório de Química Analítica da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), na cidade de Itapetinga (Figura 1.4).



Figura 1.4 – Amêndoas inteiras e despulpadas (caroços).

3.2. Caracterizações físicas e químicas da polpa e das sementes

Para as caracterizações físicas e químicas, os frutos da *T. catappa* foram submetidos a análises dos teores de umidade, cinzas, lipídios, fibras, proteínas e sólidos solúveis totais (SST - °Brix). Os frutos também foram caracterizados quanto à composição e teor de minerais, à acidez e ao pH.

As análises de umidade, acidez e pH foram realizadas a partir dos frutos frescos e parte da polpa fresca foi separada para ser submetida à extração em etanol e para a análise de SST.

Da outra parte dos frutos, a polpa e os caroços foram submetidos à pré-secagem em estufa de circulação forçada de ar à temperatura de $55 \pm 5^\circ\text{C}$ durante 18 horas, quando o material apresentou peso constante e a polpa, consistência quebradiça. Posteriormente, a polpa foi moída em moinho, da marca Marconi e as sementes foram retiradas dos caroços em pedaços pequenos. As amostras pré-secas foram

acondicionadas em frascos de vidro hermeticamente fechados e identificados e submetidas às demais análises (Rech et al., 2006). Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

3.2.1. Medida do pH

Para as análises de pH pesou-se 1,5 g de cada amostra fresca e adicionou-se aproximadamente 10 mL de água destilada. O material foi macerado, filtrado e a solução sobrenadante foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL. Em seguida, adicionou-se mais 10 mL de água destilada em cada amostra e deixou-se em repouso por um período de 15 min. O procedimento foi repetido sucessivamente até que a água se tornasse clara. Então, o volume do balão foi completado com água destilada.

As medidas de pH foram realizadas nos filtrados obtidos, utilizando-se pHmetro marca GEHAKA, modelo W3B.

3.2.2. Determinação da acidez titulável

A acidez total das sementes foi determinada por titrimetria, utilizando-se fenolftaleína como indicador ácido-base. Para a determinação da acidez da polpa utilizou-se o método de titulação potenciométrica, uma vez que a amostra é colorida e sua cor prejudica a visualização do ponto final.

As soluções aquosas obtidas a partir das sementes para a análise de pH (100 mL) foram transferidas para erlenmeyers de 250 mL, posteriormente, adicionou-se fenolftaleína e titulou-se com solução de NaOH 0,0929 M (Instituto Adolfo Lutz, 1985). Para a análise da polpa, cada amostra (100 mL) obtida anteriormente foi colocada em béquer sob agitação magnética e utilizou-se o pHmetro para acompanhar a variação do pH ao longo da titulação. O ponto de viragem foi estabelecido como pH = 8,1 (Cecchi, 2007), uma vez que a constituição química de um alimento é complexa, existindo diversos compostos com diferentes pontos de equilíbrio ácido-base.

3.2.3. Sólidos solúveis totais (°Brix) da polpa

As leituras do grau Brix do suco integral da polpa de cada amostra (1 a 2 gotas) foram feitas por refratometria, utilizando-se o refratômetro portátil da marca QUIMIS. O aparelho foi calibrado à temperatura ambiente com água destilada e procedeu-se às leituras das amostras (Instituto Adolfo Lutz, 1985).

3.2.4. Determinação da umidade

A determinação do teor de umidade foi conduzida de acordo com metodologia apresentada por Rech et al. (2006), com modificações.

Pesou-se 3 g da amostra fresca em pesa-filtro, previamente aquecido em estufa a 105 °C por uma hora, resfriado em dessecador até a temperatura ambiente e pesado. A polpa e as castanhas frescas foram submetidas à pré-secagem em estufa de circulação forçada de ar à temperatura de $55 \pm 5^\circ\text{C}$ durante 18 horas, quando o material apresentou peso constante e a polpa, consistência quebradiça.

A secagem definitiva foi realizada após a etapa da pré-secagem, descrita anteriormente, em estufa de secagem a 105°C por um período de três horas. As amostras secas foram retiradas da estufa, colocadas em um dessecador para esfriar, durante uma hora. Pesou-se, anotando todos os pesos em uma ficha. Repetiu-se as operações de aquecimento por uma hora e resfriamento até que as amostras apresentassem peso constante.

3.2.5. Determinação do teor de cinzas

A determinação do teor de cinzas foi realizada segundo metodologia descrita em Rech et al. (2006), com modificações.

Pesou-se 2 g da amostra pré-seca em cadinho de porcelana previamente aquecido em mufla a 550 °C durante 15 minutos, resfriado em dessecador até a temperatura ambiente e pesado. A amostra foi incinerada em mufla a 550 °C por 4 horas, até a obtenção de cinza clara. Depois, o material foi colocado em dessecador para esfriar durante aproximadamente três horas (até temperatura ambiente) e pesado.

3.2.6. Determinação da composição de minerais

Os minerais foram quantificados por fluorescência de raios-X (FRX), no Centro de Tecnologia do Gás-CTGAS localizado na cidade de Natal-RN. De acordo com o princípio da técnica, o analisador irradia raios-X na amostra e o sistema detecta os sinais de fluorescência gerados. O tubo de raios-X utilizado foi de ródio e a atmosfera de trabalho foi de hélio. A energia de excitação utilizada foi de 50 keV e detector operando a -176°C . A amostra foi colocada em uma cubeta coberta por um filme de polipropileno de 5 μm de espessura. O equipamento utilizado foi o Shimadzu modelo EDX-720.

3.2.7. Determinação do teor de lipídios

O teor de lipídios foi determinado de acordo com a metodologia descrita em Rech et al. (2006), com modificações. Pesou-se 1 g de amostra pré-seca em papel

filtro e fez-se um envelope com o mesmo. A amostra foi colocada no extrator tipo Soxhlet a 105 °C, cujo balão foi previamente aquecido por uma hora, resfriado em dessecador até a temperatura ambiente e pesado. Colocou-se éter etílico P. A. suficiente para cobrir a amostra. O tempo total de extração foi de 5 horas para as amostras da polpa e 7 horas para as sementes. Após esse processo, o solvente foi evaporado, o balão com o extrato foi colocado em estufa a 105 °C durante 12 horas, resfriado em dessecador até a temperatura ambiente e pesado.

3.2.8. Determinação do teor de fibras

A partir das amostras desengorduradas na etapa anterior, foram realizadas as análises de fibra detergente neutra (FDN) e fibra detergente ácida (FDA), conforme metodologia descrita em Rech et al. (2006). Utilizou-se aparelho digestor de fibras da ANKOM e saquinhos específicos para acondicionar as amostras (Filter Bags for Fiber Analysis – F57 da marca ANKOM).

As análises de FDN e FDA foram realizadas seqüencialmente. Primeiramente, pesaram-se os saquinhos identificados e posteriormente as amostras restantes da análise anterior juntamente com os saquinhos, que, em seguida, foram selados. As amostras foram colocadas no aparelho, programado para 1h e 15 min a 100°C, e cobertas com a solução em detergente neutro (FDN), preparada conforme descrito em Silva e Queiroz (2002). Após este período, a solução foi descartada e as amostras foram lavadas três vezes com água destilada em ebulição durante 5 min. Os saquinhos contendo as amostras foram retirados, o excesso de água removido e os mesmos foram colocados em estufa a 105 °C por um período de 15 horas. Após a secagem, as amostras foram colocadas em dessecador para esfriar e pesadas em seguida.

A análise de FDA foi realizada logo após, a partir das mesmas amostras, através de procedimento semelhante ao anterior, utilizando-se solução digestora ácida (20g de brometo-cetil-trimetilamônio em 1 L de solução de H₂SO₄ 1 N) ao invés da solução de FDN.

3.2.9. Determinação do teor de proteína bruta

Utilizou-se o processo Semimicro Kjeldahl, segundo Silva e Queiroz (2002), com modificações. Colocou-se 200 mg de amostra pré-seca em tubo de digestão. Em seguida adicionou-se aproximadamente 2 g da mistura catalítica (10 partes de sulfato de potássio) e 5 mL de H₂SO₄. Iniciou-se a digestão à temperatura moderada, aumentando-se gradualmente até a temperatura máxima de 400°C. A amostra foi retirada 30 minutos após se tornar uma solução de coloração azul esverdeada clara. O processo de digestão foi de aproximadamente 3 horas. Após esfriar, adicionou-se uma

pequena porção de água destilada (cerca de 20 mL) e misturou-se. O tubo digestor foi colocado em destilador de nitrogênio Tecnal (TE 036/1) e adicionou-se cerca de 25 mL de solução de NaOH a 50%. Adicionou-se em erlenmeyer (125 mL) 10 mL de solução de ácido bórico a 4% com solução indicadora mista de vermelho-de-metila e verde-de-bromocresol. O erlenmeyer foi adaptado ao destilador para o recebimento da amônia, mantendo-se o terminal do condensador mergulhado na solução receptora até que toda a amônia fosse liberada. O volume do destilado foi de aproximadamente 75 mL e a cor da solução mudou de rosa para verde. Titulou-se com HCl 0,0216 N até a mudança de coloração verde para rosa.

3.2.10. Determinação do teor de carboidratos

O teor de carboidratos foi obtido pelo cálculo de diferença das outras frações analisadas (umidade, cinza, extrato etéreo e proteína) (Gondim, 2005).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Composição centesimal

Os resultados obtidos para a composição química centesimal da polpa da *T. catappa* (Tabela 1.2) apresentam valores próximos aos descritos para algumas frutas tipicamente consumidas no Brasil (Tabela 1.3). O conteúdo de cinzas ($1,06 \pm 0,13$ %) é aproximadamente 50% maior que a média dos valores apresentados por estas frutas ($0,45$ %).

Tabela 1.2 – Composição centesimal da polpa e da castanha dos frutos da *T. catappa* coletados em Itapetinga-BA (g /100 g de amostra)

<i>Amostras</i>	<i>Polpa</i>	<i>Castanha</i>	<i>Castanha seca</i>
Umidade	$82,67 \pm 4,06$	$23,88 \pm 0,39$	$4,66 \pm 0,52$
Lipídios	$0,35 \pm 0,09$	$42,13 \pm 6,05$	$52,72 \pm 7,19$
Proteínas	$0,85 \pm 0,30$	$19,27 \pm 1,45$	$24,14 \pm 0,98$
Cinzas	$1,06 \pm 0,13$	$3,06 \pm 0,45$	$3,83 \pm 0,55$
Carboidratos	$15,08 \pm 3,85$	$11,67 \pm 5,45$	$14,65 \pm 6,95$
Fibras	FDN	$4,78 \pm 1,84$	$10,91 \pm 6,29$
	FDA	$4,11 \pm 1,70$	$7,18 \pm 5,31$

Os valores são expressos em média \pm desvio-padrão.

Tabela 1.3 – Composição centesimal de frutas (g /100 g de parte comestível)

<i>Fruta</i>	<i>Umidade</i>	<i>Proteína</i>	<i>Lipídios</i>	<i>Carboidrato</i>	<i>Fibra alimentar</i>	<i>Cinzas</i>
Abacaxi	86,3	0,9	0,1	12,3	1,0	0,4
Acerola	90,5	0,9	0,2	8,0	1,5	0,4
Banana prata	71,9	1,3	0,1	26,0	2,0	0,8
Goiaba vermelha	85,0	1,1	0,4	13,0	6,2	0,5
Maçã Fuji	84,3	0,3	traços	15,2	1,3	0,2
Mamão Papaia	88,6	0,5	0,1	10,4	1,0	0,4
Manga Haden	82,3	0,4	0,3	16,7	1,6	0,4
Maracujá	82,9	2,0	2,1	12,3	1,1	0,8
Uva Rubi	86,1	0,6	0,2	12,7	0,9	0,5

Fonte: Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA-UNICAMP, 2006.

Os resultados da composição centesimal das sementes secas estudadas (Tabela 1.2) apresentam valores dentro da faixa daqueles descritos por Oliveira et al. (2000) e González-Mendoza et al. (2005) para as castanhas da *T. catappa*, com relação aos teores de umidade, lipídios e carboidratos. O teor médio de umidade ($4,66 \pm 0,52$ %) está abaixo daquele apresentado pelas castanhas estudadas do Ceará ($7,70 \pm 0,19$ %) e o conteúdo de cinzas ($3,83 \pm 0,55$ %) é maior ($2,4 \pm 0,06$ %). Isto pode ser explicado por condições de secagem diferentes, as quais não são apresentadas no referido

trabalho (Oliveira et al., 2000). Quanto ao teor médio de proteínas ($24,14 \pm 0,98$ %), este se apresenta menor que o valor obtido por Oliveira et al. (2000) ($29,4 \pm 1,12$ %) e consideravelmente maior que os valores obtidos para as sementes estudadas em diferentes regiões da Venezuela ($14,01 \pm 1,68$ a $16,32 \pm 1,03$) (González-Mendoza et al., 2005).

Comparando os resultados obtidos com os valores apresentados para a noz e castanha-do-pará cruas (Tabela 1.4), a semente *in natura* da *T. catappa* apresenta um valor médio de umidade bem maior ($23,88 \pm 0,39$ %) e um menor conteúdo de lipídios ($42,13 \pm 6,05$ %). A castanha seca apresenta teor de umidade ($4,66 \pm 0,52$ %) próximo aos valores da noz e da castanha-do-pará cruas, logo a sua composição centesimal pode ser comparada à composição dessas. Assim, a castanha seca estudada apresenta valores médios de lipídios ($52,72 \pm 7,19$ %), cinzas ($3,83 \pm 0,55$ %) e carboidratos ($14,65 \pm 6,95$ %) dentro da faixa de valores apresentados na Tabela 1.4. Já o conteúdo de proteínas é consideravelmente maior ($24,14 \pm 0,98$ %), o que revela o potencial nutricional da mesma.

Tabela 1.4 – Composição centesimal da noz e da castanha-do-pará (g/ 100 g de parte comestível)

	<i>Umidade</i>	<i>Proteína</i>	<i>Lipídios</i>	<i>Carboidrato</i>	<i>Fibra alimentar</i>	<i>Cinzas</i>
Castanha -do-Pará	3,5	14,5	63,5	15,1	7,9	3,4
Noz	6,2	14,0	59,4	18,4	7,2	2,1

Fonte: Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA-UNICAMP, 2006.

Essa avaliação da constituição química básica dos frutos da espécie *T. catappa* é de grande importância, uma vez que ainda existem poucos estudos publicados sobre a composição química e nutricional desses frutos (Ángel et al., 2003; Christian e Ukhun, 2006; González-Mendoza et al., 2005; Oliveira et al., 2000). Este estudo também é importante do ponto de vista da grande variação das características morfológicas, sensoriais e da variabilidade genética dessa espécie ao longo das diferentes regiões do Brasil e do mundo (Thomson e Evans, 2006). Portanto se torna necessário a investigação da composição química destes frutos ao longo dessas diversas regiões.

A polpa da amêndoa-da-praia é comestível, porém não é amplamente consumida, sendo este fato ainda desconhecido por muitas pessoas. A composição centesimal de um alimento nos dá informações básicas sobre o potencial nutricional do mesmo, mas se torna necessário uma avaliação completa dos aspectos nutricionais,

como composição de vitaminas, perfil de ácidos graxos, constituintes protéicos, além de fatores antinutricionais e outros.

Além disso, a composição centesimal de um alimento fornece informações básicas sobre o seu potencial de utilização tecnológica. A proporção entre os constituintes analisados influencia o comportamento do alimento nos diversos tipos de processamento, como, por exemplo, o rendimento do produto e os tipos de alterações químicas sofridas.

4.2. Teor de fibras

A polpa das amêndoas apresentou um conteúdo médio de fibras ($4,78 \pm 1,84$ % para FDN e $4,11 \pm 1,70$ % para FDA) superior aos valores apresentados pela maioria das frutas na Tabela 1.3, que variam entre 0,9 % e 2,0 %. Já as sementes apresentaram teores de fibras bem maiores, de $10,91 \pm 6,29$ % e $13,71 \pm 8,02$ %, para FDN nas castanhas cruas e secas, respectivamente. Esses dados estão dentro da faixa de valores apresentados para noz e castanha-do-pará destacados na Tabela 1.4.

A solução detergente neutra é usada para dissolver substâncias facilmente digeridas, como a pectina e o conteúdo celular da planta (proteínas, açúcares e lipídios), deixando um resíduo fibroso, a Fibra em Detergente Neutro (FDN). Esta é a parte da amostra constituída, basicamente, de celulose, hemicelulose e lignina, que são os principais componentes da parede celular, além de proteínas danificadas pelo calor, a maior parte das proteínas da parede celular, amido e minerais insolúveis em detergente neutro (Van Soest, 1965 citado por Silva e Queiroz, 2002).

A Fibra em Detergente Ácido (FDA) é a parte da amostra constituída, em sua quase totalidade, de celulose e lignina, além de proteínas danificadas pelo calor, a menor parte das proteínas da parede celular, parte da pectina e minerais insolúveis em detergente ácido. A fração celulose representa a maior parte da FDA (Cecchi, 2007; Van Soest, 1967 citado por Silva e Queiroz, 2002).

A Fibra Bruta (FB) corresponde ao resíduo obtido da planta após extrações sucessivas com solventes ácido e base diluídos (Cecchi, 2007; DeVries, acessado em julho de 2008). O método tradicional de determinação da FB considera uma porção da proteína da planta, sendo que partes da lignina e da hemicelulose que a constituem são solubilizadas e o resultado é então subestimado (Cecchi, 2007; Silva e Queiroz, 2002). Logo, esse método clássico não inclui muitos componentes que normalmente são associados com atividades fisiológicas desempenhadas pelas fibras (DeVries, acessado em julho de 2008).

O termo “Fibra Dietética” (FD), que evoluiu com o desenvolvimento da ciência, é atualmente empregado para designar o material vegetal constituído

basicamente da parede celular, além de polissacarídeos, lignina e substâncias associadas que não necessariamente são originárias da parede celular, que são resistentes à hidrólise enzimática da digestão humana. Atualmente já se sabe que não somente a fibra oriunda da parede celular, mas também aquela não proveniente da mesma tem ações fisiológicas importantes, atribuídas às fibras em geral. (DeVries, acessado em julho de 2008; Trowell, 1976).

Vários são os métodos analíticos que têm como objetivo a determinação do conteúdo das fibras alimentares da dieta humana. Estes métodos foram desenvolvidos, aperfeiçoados e modificados ao longo do tempo, de forma a obter resultados próximos ao conteúdo vegetal não digerível pelo homem, mas que desempenha papel fundamental na sua saúde. Ao mesmo tempo, observa-se uma evolução no conhecimento da constituição química e da função fisiológica da Fibra Dietética. Assim, a ciência se esforça para aproximar a metodologia analítica ao sistema digestivo humano.

Neste sentido, o método usado no presente trabalho não constitui um estudo detalhado da composição da fibra das amêndoas, mas possui vantagens em relação à metodologia tradicional de determinação da Fibra Bruta. Isto porque na análise de FDN e FDA considera-se diferentes compostos, além de incluir a hemicelulose e a lignina, importantes constituintes das fibras.

A presença de fibra alimentar nos alimentos é de grande interesse na área da saúde, já que estudos epidemiológicos indicaram uma relação inversa entre a ingestão de fibras e algumas formas de câncer, problemas cardiovasculares, diverticulite, apendicite, cálculos biliares, varizes, diabetes e hemorróidas (DeVries, acessado em julho de 2008).

Uma maior ingestão de fibras aumenta a suavidade fecal, o seu volume, a capacidade orgânica de reter água e reduz o tempo do trânsito intestinal, aumentando, dessa forma, a remoção de materiais estagnados ou potencialmente prejudiciais do intestino (DeVries, acessado em julho de 2008).

4.3. Acidez total e pH

Na Tabela 1.5 estão apresentados os resultados de acidez e pH para a polpa e as castanhas estudadas. A acidez foi expressa em mEq /100 g de amostra, uma vez que os ácidos orgânicos encontram-se presentes nas frutas em misturas complexas (Chitarra e Chitarra, 2005) e não se tem dados do principal ácido constituinte da amêndoa tropical.

Tabela 1.5 – Valores de pH e acidez para a polpa e as castanhas da *T. catappa* frescas

<i>Amostras</i>	<i>pH</i>	<i>% Acidez (mEq /100 g)</i>
Polpa	4,37 ± 0,52	7,94 ± 4,41
Castanhas	6,86 ± 0,19	3,44 ± 0,49

Os valores são expressos em média ± desvio-padrão

Os ácidos orgânicos presentes nos tecidos vegetais podem se encontrar nas formas livre ou esterificada. Os ácidos fracos livres, na presença de seus sais de potássio, apresentam pequena variação no pH em função do equilíbrio estabelecido no sistema. Na célula, esses ácidos encontram-se associados com seus sais de potássio e constituem sistemas tampões. A capacidade tampão de alguns sucos permite que ocorram grandes variações na acidez titulável, sem variações apreciáveis no pH. Contudo, numa faixa de concentração de ácidos entre 2,5 e 0,5 %, o pH aumenta com a redução da acidez, sendo utilizado como indicativo dessa variação. Uma pequena variação nos valores de pH é bem detectável nos testes organolépticos (Chitarra e Chitarra, 2005).

4.4. Teor de sólidos solúveis totais da polpa

A polpa apresentou um teor médio de sólidos solúveis totais (SST) de 12,96 ± 0,52 °Brix, que está entre os valores mínimos descritos para frutas como ameixa, uva, cereja e outras (Chitarra e Chitarra, 2005).

O teor de sólidos solúveis representa o total de todos os sólidos dissolvidos na água, começando com açúcares, sais, proteínas, ácidos entre outros (Moraes, 2006). São constituídos principalmente por açúcares, variando com a espécie, a forma de cultivo, o estágio de maturação e o clima, com valores médios entre 8% e 14% (Chitarra e Chitarra, 2005).

Dentre os diversos componentes da fruta, os SST (°Brix) desempenham um papel primordial para a sua qualidade, devido à influência nas propriedades termofísicas, químicas e biológicas da fruta. Na indústria, a análise do °Brix tem grande importância, no controle dos ingredientes a serem adicionados ao produto e na qualidade final deste. A determinação do °Brix é utilizada, por exemplo, na produção de doces, sucos, polpas e bebidas em geral (Costa et al., 2004). As matérias-primas serão tanto melhores para a industrialização quanto maiores forem os seus teores de SST (Chitarra e Chitarra, 2005).

O teor de SST é expresso em grau Brix (°Brix) ou % em volume, que é a quantidade em gramas, de SST existentes em 100 mL de solução (suco) (Chitarra e Chitarra, 2005).

A relação sólidos solúveis/acidez titulável é uma das formas mais utilizadas de avaliação do sabor de frutos, sendo mais representativa que a medida isolada de açúcares ou da acidez. Essa relação proporciona uma boa idéia do equilíbrio entre esses dois componentes (Chitarra e Chitarra, 2005).

Além disso, a medida de °Brix pode ser usada como índice de maturação de frutos juntamente com outros parâmetros. Em relação à amêndoa-da-praia, não foram encontrados na literatura estudos referentes à pós-colheita. Assim, os resultados obtidos no presente estudo podem variar caso haja uma definição e padronização do estágio de maturação ideal para o consumo desses frutos.

4.5. Composição de minerais

A Tabela 1.6 ilustra os teores dos elementos minerais encontrados na castanha e na polpa obtidas dos frutos secos da *T.Catappa* colhidos de duas diferentes árvores.

Os minerais desempenham diversos papéis essenciais no organismo, tanto na sua forma iônica em soluções nos fluidos corporais, quanto como constituintes de compostos essenciais. Eles também atuam como cofatores enzimáticos, sendo, portanto, requeridos em quantidades que dependem da fase de crescimento, das condições fisiológicas (gravidez, lactação) do estado nutricional e da saúde (Krause e Mahan, 1991). Além disso, regulam o equilíbrio ácido-base, a pressão osmótica, a atividade muscular e nervosa, facilitam a transferência de compostos essenciais através das membranas e, em alguns casos, fazem parte dos elementos constituintes dos tecidos do organismo (Shils et al. 1994).

Os elementos minerais reconhecidos como essenciais são comumente divididos em macrominerais ou minerais principais, que o organismo humano necessita em maior quantidade (cálcio, fósforo, potássio, sódio, cloro, magnésio, enxofre) e os minerais traços (microminerais), que são necessários em doses diárias bem pequenas (ferro, cobre, cobalto, manganês, zinco, iodo, flúor, molibdênio, selênio, cromo, silício). A importância de sua inclusão na dieta tem sido amplamente discutida em textos sobre nutrição (Sgabieri, 1987). Os macrominerais são necessários em quantidades de 100 mg ou mais por dia e os microminerais, embora em menor quantidade (miligramas ou microgramas por dia), são também importantes para o organismo humano.

A partir dos resultados obtidos, verificou-se a presença dos elementos minerais K, Ca, S, P, Si, Cu, Fe, Zn, Rb e Mg tanto na polpa quanto na castanha do

fruto da *T.catappa*. Tanto a polpa como as castanhas são ricas em macrominerais, exceto o Na, que não foi encontrado em ambas e o Cl que não foi encontrado na castanha. Entre os microminerais, verificou-se a presença de Fe, Cu, Zn, Si. O Mn foi encontrado somente na castanha.

A polpa dos frutos analisados mostrou-se uma boa fonte de potássio, duas vezes mais que na castanha. Já os elementos Ca, S, P, Si e Mg foram encontrados em maior quantidade na castanha com valores 2, 10, 10, 7 e 4 vezes maiores que na polpa, respectivamente. Não foram observadas grandes variações nos teores de Cu, Fe, Rb e Zn encontrados na polpa e castanha. Notou-se a presença de Br na polpa e de Ni na castanha.

Tabela 1.6 – Teores médios de elementos minerais

<i>Minerais</i>	<i>Teores de Elementos Minerais (%)</i>	
	Polpa	Castanha seca*
K	34,0 ± 4,36	15,0 ± 0,30
Ca	8,9 ± 0,69	20,9 ± 0,85
S	0,3 ± 0,01	3,3 ± 0,62
P	0,2 ± 0,02	3,1 ± 0,04
Cu	0,4 ± 0,16	0,5 ± 0,11
Si	0,3 ± 0,05	2,2 ± 0,46
Fe	0,1 ± 0,03	0,4 ± 0,09
Rb	0,1 ± 0,04	0,1 ± 0,01
Mg	0,7 ± 0,06	3,3 ± 0,32
Zn	0,2 ± 0,02	0,5 ± 0,06
Mn	0,0 ± 0,00	0,4 ± 0,07
Ni	0,0 ± 0,00	0,4 ± 0,03
Br	0,3 ± 0,11	0,0 ± 0,00
Cl	7,9 ± 3,50	0,0 ± 0,00

Os valores são expressos em média ± desvio-padrão.

*Análises realizada após pré-secagem das amostras até 4,66 ± 0,52 % de umidade.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho apontam para o potencial nutricional e tecnológico da polpa e das sementes da espécie *T. catappa*. A busca por fontes alimentícias alternativas e pela utilização de espécies disponíveis em níveis locais tem impulsionado pesquisas com o objetivo de traçar o perfil nutritivo dessas amêndoas. Estudos regionalizados, de modo a explorar espécies acessíveis e muitas vezes subutilizadas, são de grande relevância.

Assim como outras castanhas, normalmente comercializadas e bastante apreciadas em todo o mundo, as castanhas da amendoira-da-praia são ricas em lipídios, proteínas, minerais e fibras, além de bastante saborosas.

Diante desses resultados, podemos concluir que o fruto da *T. catappa* pode vir a se constituir numa alternativa promissora para o enriquecimento nutricional de dietas para populações com baixo poder aquisitivo, amenizando dessa forma, a carência em relação aos nutrientes que fazem parte da composição química dessas espécies.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁNGEL, M. H.; BACALLAO, L. G.; DOMINGUEZ, D. M. R.; PADILLA D. O. Almendro de la India: potencial biológico valioso. *Rev. Cubana Invest. Bioméd.* v. 22, n. 1, 2003.
- CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos.** 2 ed. Campinas: Ed. Unicamp, 2007, 208 p.
- CHEN, P. S.; LI, J. H.; LIU, T. C. Folk medicine of *Terminalia catappa* and its major tannin component, punicalagin, are effective against bleomycin-induced genotoxicity in Chinese hamster ovary cells. *Cancer Letters*, v.152, p. 115-122, 2000.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. C. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio.** 2 ed. Lavras: UFLA, 2005, 785p.
- CHRISTIAN, A.; UKHUN, M. Nutritional potential of the nut of tropical almond (*Terminalia Catappia* L.). *Pakistan J. of Nutr.*, v. 5, n. 4, p. 334-336, 2006.
- CHYAU, C. C.; KO, P. T.; MAU, J. L. Antioxidant properties of aqueous extracts from *Terminalia catappa* leaves. *LWT*, v. 39, p. 1099–1108, 2006.
- CHYAU, C. C.; TSAI, S. Y.; KO, P. T.; MAU, J. L. Antioxidant properties of solvent extracts from *Terminalia catappa* leaves. *Food Chem.*, v. 78, p. 483-488, 2002.
- COSTA, W. S. da, FILHO, J. S., MATA, M. E. R. M. C., QUEIROZ, A. J. de M. Influência da concentração de sólidos solúveis totais no sinal fotoacústico de polpa de manga. *Rev. Bras. de Prod. Agroind.*, v.6, n.2, p.141-147, 2004.
- DEVRIES, J. W. Total dietary fiber. Analytical progress. *Medalion Lab.* Disponível em <http://www.medlabs.com/file.aspx?FileID=89>. Acessado em julho de 2008
- FAN, Y. M.; XU, L. Z.; GAO, J.; WANG, Y.; TANG, X. H.; ZHAO, X. N.; ZHANG, Z. X. Phytochemical and antiinflammatory studies on *Terminalia catappa*. *Fitoterapia*, v. 75, p. 253–260, 2004.
- FRANCIS, J. K. *Terminalia catappa* L. Indian almond, almendra, Combretaceae, Combretum family *U. S. Forest Serv. [Publ.] SO- ITF-SM*, v. 23, p. 541-544, 1989.
- FERREIRA, A. B. de H.; FERREIRA, M. B.; DOS ANJOS, M. **Minidicionário Aurélio da língua portuguesa.** 3 ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1993.
- GONDIM, J. A. M.; MOURA, M. de F. V.; DANTAS, A. S.; MEDEIROS, R. L. S.; SANTOS, K. M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 25, n. 4, p. 825-827, 2005.
- GONZÁLEZ-MENDOZA, M.; MENDOZA, F.; MORA, J.; MENDOZA, M.; MÁRQUEZ, J.; BRAVO, M. Valor nutricional de la semilla del almendrán (*Terminalia catappa* Linn). *Rev. de la Facultad de Farm.*, v. 47, n. 1, p. 25-29, 2005.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos.** 3 ed. São Paulo: O Instituto, 1985, v. 1, 533p.

KESHINRO, O. O. The unconventional sources of ascorbic acid in the tropics. *Nutr. Reports Intern.*, v. 31, p. 381-387, 1985.

KO, T. F.; WENG, Y. M.; CHIOU, Y. Y. Squalene Content and Antioxidant Activity of *Terminalia catappa* Leaves and Seeds. *J. Agric. Food Chem.*, v. 50, n. 19, p. 5343-5348, 2002.

KRAUSE, M. V.; MAHAN, L. K. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. São Paulo: Livraria Roca, 1991, 981p.

LIN, C. C.; CHEN, Y. L.; LIN, J. M.; UJIE, T. Evaluation on antioxidant and hepatoprotective activity of *Terminalia catappa*. *Am. J. of Chin. Med.*, v. 25, n. 2, p. 153-161, 1997.

LIN, C. C.; HSU, Y. F.; LIN, T. C. Antioxidant and free radical scavenging effects of the tannins of *Terminalia catappa*. *Anticancer Res.*, v. 21, n. 1A, p. 237-243, 2001.

LIN, C.C.; HSU, Y. F.; LIN, T.C. Effects of punicalagin and punicalin on carrageenan-induced inflammation in rats. *Am. J. of Chin. Med.*, v. 27 (3-4), p. 371-376, 1999.

LIN, C. C.; HSU, Y. F.; LIN, T. C., HSU, H. Y. Antioxidant and hepatoprotective effects of punicalagin and punicalin on acetaminophen-induced liver damage in rats. *Phytother. Res.*, v. 15, n. 3, p. 206-212, 2001.

LIN, C. C.; HSU, Y. F.; LIN, T. C.; HSU, F. L.; HSU, H. Y. Antioxidant and hepatoprotective activity of punicalagin and punicalin on carbon tetrachloride-induced liver damage in rats. *J. of Pharm. and Pharmacol.*, v. 50, n. 7, p. 789-794, 1998.

LIN, C. C.; KAN, W. S. Medicinal plants used for the treatment of hepatitis in Taiwan. *Am. J. of Chin. Med.*, v. 18, p. 35-43, 1990.

LIN, T.-C. Study on the tannins and related compounds in the fruit of *Terminalia catappa* L. *J. Chin. Med. Pharmacol. Res.*, v. 14, p.165-174, 1992.

LIN, T. C.; HSU, F. L. Tannin and related compounds from *Terminalia catappa* and *Terminalia parviflora*. *J. Chin. Chem. Soc.*, v. 46, n. 4, p. 613-618, 1999.

LIU, T. Y.; HO, L. K.; TSAIB, Y. C.; CHIANGA, S. H.; CHAOS, T. W.; LIT, J. H.; CHI, C. W. Modification of mitomycin C-induced clastogenicity by *Terminalia Catappa* L. in vitro and in vivo. *Cancer Letters*, v. 105, p. 113-118, 1996.

MAU, J. L.; KO, P. T.; CHYAU, C. C. Aroma characterization and antioxidant activity of supercritical carbon dioxide extracts from *Terminalia catappa* leaves. *Food Res. Intern.l*, v. 36, p. 97-104, 2003.

MICHAELIS 2000: moderno dicionário da língua portuguesa. Rio de Janeiro: Reader's Digest; São Paulo: Melhoramentos, v.1, 2000.

MORAES, R. R. de. Refratometria. Governo do estado do Piauí. FAPEPI, 2006. Disponível em <http://www.fapepi.pi.gov.br>. Acessado em julho de 2008.

NAGAPPA, A. N; THAKURDESAI, P. A.; VENTAK RAO, N.; JIWAN SINGH. Antidiabetic activity of *Terminalia catappa* Linn fruits. *J. Ethnopharmacol.*, v. 88, n. 1, p. 45-50, 2003.

OLIVEIRA, J. T. A.; VASCONCELOS, I. M.; BEZERRA, L. C.N. M.; SILVEIRA, S. B.; MONTEIRO, A. C. O.; MOREIRA, R. A. Composition and nutritional properties of seeds from *Pachira aquatica* Aubl, *Sterculia striata* StHil et Naud and *Terminalia catappa* Linn. *Food Chem.*, v. 70, p. 185-191, 2000.

PETERSON, M. S.; JOHNSON, A. H. *Encyclopedia of food Sci.*, Westport, CT, USA: AVI Publishing Co., 1978.

RATNASOORIYA, W. D.; DHARMASIRI, M. G. Effects of *Terminalia catappa* seeds on sexual behaviour and fertility of male rats. *Asian J. Androl.*, v. 2, p. 213-219, 2000.

RATNASOORIYA, W. D.; DHARMASIRI, M. G.; RAJAPAKSE, R. A. S.; DE SILVA, M. S.; JAYAWARDENA, S. P. M.; FERNANDO, P. U. D.; DE SILVA, W. N.; NAWELA, A. J. M. D. N. B.; WARUSAWITHANA, R. P. Y. T.; JAYAKODY, J. R. C.; DIGANA, P. M. C. B. Tender leaf extract of *Terminalia catappa* antinociceptive activity in rats. *Pharm. Biol.*, v. 40, n. 1, p. 60-66, 2002.

RECH, C. L. de S.; XAVIER, E. G.; PINO, F. A. B. del; ROLL, V. F. B.; RECH, J. L.; CARDOSO, H. B. P.; NASCIMENTO, P. V. N. **Análises Bromatológicas e Segurança Laboratorial**. Pelotas, RS: Editora UFPEL, 2006, 132p.

SGABIERI, W.C. **Alimentação e nutrição: Fator de saúde e desenvolvimento**. Campinas/São Paulo: UNICAMP/Almed, 1987.

SHILS, M.E., OLSON, J. A., SHIKE, M. **Modern nutrition in health and disease**. 8 ed. Philadelphia, Lea e Febiger, 1994. 2v.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. de. **Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002, 235p.

Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA-UNICAMP. Versão II. 2. ed. Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, 2006, 113p. Disponível em http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_versao2.pdf. Acessado em julho de 2008.

TANAKA, T.; NONAKA, G. I.; NISHIOKA, I. Tannins and related compounds. XLII. Isolation and characterization of four new hydrolyzable tannins, terflavins A and B, tergalagin and tercatatin from the leaves of *Terminalia catappa*. *L. Chem. Pharm. Bull.*, v. 34, p. 1039-1049, 1986.

TANG, X.; GAO, J.; WANG, Y.; FAN, Y. M.; XU, L. Z.; ZHAO, X.; XU, Q.; QUIAN, Z. M. Effective protection of *Terminalia catappa* L. leaves from damage induced by carbon tetrachloride in liver mitochondria. *J. of Nutr. Biochem.*, v. 17, p.177-182, 2006.

TASSARA, H. *Frutas no Brasil*. São Paulo: Empresa das Artes, 1996. Biblioteca Virtual do Estudante de Língua portuguesa. Escola do futuro da USP. Disponível em http://www.bibvirt.futuro.usp.br/textos/didaticos_e_tematicos/frutas_no_brasil. Acessado em dezembro de 2006.

THOMSON, L. A. J.; EVANS, B. *Terminalia catappa* (tropical almond), ver. 2.2. In: Elevitch, C.R. (ed.). *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry*. Permanent Agriculture Resources (PAR), Hōlualoa, Hawai'i, 2006. Disponível em <http://www.traditionaltree.org>. Acessado em junho de 2008.

TROWELL, H C. Definition of dietary fiber and hypothesis that is as a protective factor in certain disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 29, p. 417-427, 1976.

VAN SOEST, P. J. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. *J. Anim. Sci.*, v. 24, n. 3, p. 834-843, 1965 citado por SILVA, D. J.; QUEIROZ , 2002.

VAN SOEST, P. J. Development of a comprehensive system of feed analysis and its applications to forage. *J. Anim. Sci.*, v. 26, n.1, p. 119-128, 1967 citado por SILVA e QUEIROZ , 2002.

VARESCHI, V. 1979. Plantas entre el mar y la tierra. Caracas- Venezuela. Talleres Gráficos Armitano citado por GONZÁLES-MENDOZA et al., 2006.

VRUSHABENDRA SWAMY, B. M.; AHMED, S. M.; GOPKUMAR, P.; DHANAPAL, R.; CHANDRASHEKAR, V. M.; RAO, T. S. Antidiarrhoeal activity of *Terminalia catappa* Linn leaf extracts in rats *Asian J. of Chem.*, v. 18, n. 2, p. 1236-1242, 2006.

WANG, H.-F.; KO, P.-T.; CHYAU, C.-C.; MAU, J.-L; KAO, M.-D. Composition and antioxidative activity of essential oils from *Terminalia catappa* L. leaves. *Taiwan J. of Agric. Chem. and Food Sci.*, v. 38, p. 27–35, 2000.

CAPÍTULO 2

EXTRAÇÃO, QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS E IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DA POLPA DOS FRUTOS DA *Terminalia catappa* Linn

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos têm sido tópicos de pesquisas extensivas nos últimos anos devido aos efeitos benéficos que proporcionam à saúde, como a ação anticarcinogênica, anti-úlceras, anti-trombótica, anti-inflamatória, anti-alérgica, moduladora do sistema imunológico, antimicrobiana, vasodilatadora e analgésica.

Os referidos compostos fazem parte de um grande e diversificado grupo de metabólitos secundários de plantas, essenciais para seu crescimento e reprodução. Além disso, eles atuam como agentes antipatogênicos e contribuem com a pigmentação. Em alimentos, são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa. As principais fontes destes compostos são frutas cítricas, como limão, laranja e tangerina, além de outras frutas como cereja, uva, ameixa, pêra, maçã e mamão, sendo encontrados em maiores quantidades na polpa, que no suco da fruta. Pimenta verde, brócolis, repolho roxo, cebola, alho e tomate também são excelentes fontes destes compostos (Ângelo e Jorge, 2007).

Do ponto de vista químico, os compostos fenólicos podem ser definidos como substâncias que possuem no mínimo um anel aromático em sua estrutura, com uma ou mais hidroxilas como grupos funcionais. Estes grupos podem ser substituídos por ésteres, ésteres metílicos e glicosídeos. Possuem estrutura química heterogênea e com isso, são multifuncionais. Existem cerca de cinco mil fenóis, dentre eles, destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (Naczk e Shahidi, 2004).

Os compostos fenólicos englobam desde moléculas simples até moléculas com alto grau de polimerização. Estão presentes nos vegetais nas formas livres ou conjugadas, ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas (Naczk e Shahidi, 2004).

Atualmente, este grupo de substâncias é de grande interesse, tanto nutricional, por sua contribuição na manutenção da saúde humana, como do ponto de vista tecnológico. Em alimentos, eles desempenham uma série de funções, como prevenção da oxidação de lipídios e proteção de vitaminas e enzimas, além de influenciar nas

qualidades sensoriais (cor, sabor, aroma) e na qualidade nutricional de produtos frescos e processados (Naranjo, 2006).

1.2. Estrutura e classificação dos compostos fenólicos

1.2.1. Fenóis simples

Os fenóis simples, como o catecol, o guaiacol e o floroglucinol (Figura 2.1) são pouco frequentes na natureza, com exceção dos derivados quinônicos hidroxilados presentes em algumas famílias (Rosáceas, Ericáceas e outras) geralmente na forma de glicosídeos (Fresno, 1999).

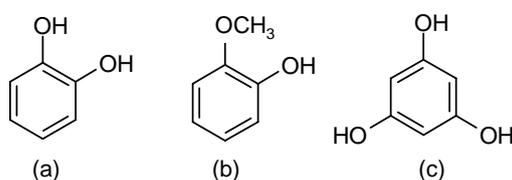


Figura 2.1 - (a) Catecol, (b) guaiacol, (c) floroglucinol (Fresno, 1999)

1.2.2. Ácidos fenólicos

Este grupo engloba todos os compostos orgânicos que têm pelo menos uma função carboxílica e um grupo hidroxila fenólico, no entanto, na prática esta denominação fica reservada aos derivados do ácido benzóico e do ácido cinâmico (Fresno, 1999).

(i) ácidos fenólicos derivados do ácido benzóico

Estes compostos se encontram amplamente distribuídos no reino vegetal, tanto em gimnospermas como nas angiospermas, podendo ser encontrados livres ou combinados na forma de heterosídeos ou ésteres (Figura 2.2) (Fresno, 1999).

R_1	R_2	
H	H	ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico
OH	H	ácido protocatético
OCH ₃	H	ácido vanílico
OH	OH	ácido gálico
OCH ₃	OCH ₃	ácido siríngico

Chemical structure of a phenolic acid derivative of benzoic acid, showing a benzene ring with a COOH group at the 1-position, an OH group at the 3-position, and R₁ and R₂ substituents at the 2 and 4 positions respectively.

Figura 2.2 – Ácidos fenólicos derivados do ácido benzóico (Fresno, 1999)

Alguns desses, como o ácido gálico e seu dímero o ácido elágico, desempenham um importante papel na constituição dos taninos hidrolisáveis (Fresno, 1999).

(ii) ácidos fenólicos derivados do ácido cinâmico

Alguns destes compostos estão presentes praticamente em todos os vegetais como os ácidos *p*-cumárico, caféico, ferúlico e sinápico (figura 2.3). Outros, por outro lado, como o ácido *o*-cumárico, por exemplo, estão menos distribuídos na natureza. (Fresno, 1999).

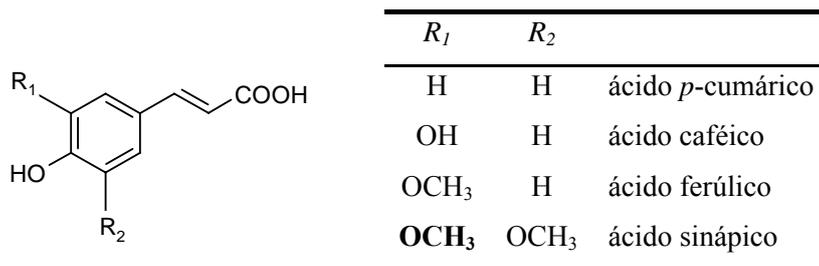


Figura 2.3 – Ácidos *p*-hidroxicinâmicos (Fresno, 1999)

Normalmente aparecem na forma de ésteres de álcoois alifáticos ou do ácido quínico. Também podem estar esterificados a açúcares (geralmente a glicose) e grupos hidroxilas de alguns metabólitos secundários, como flavonóides, antocianosídeos, saponosídeos, etc. Podem, igualmente, estar na forma de amidas derivadas da tiramina, putrescina entre outras (Fresno, 1999).

O ácido caféico é comumente encontrado em muitas frutas, vegetais, condimentos e bebidas. O ácido clorogênico (éster do ácido caféico e ácido quínico) é o composto fenólico majoritário do café e foi isolado de folhas e frutos de plantas. O ácido ferúlico é encontrado nas folhas e sementes de muitas plantas incluindo trigo integral, aveia, café, maçãs, amendoim, e ananases (Simpson, 2006).

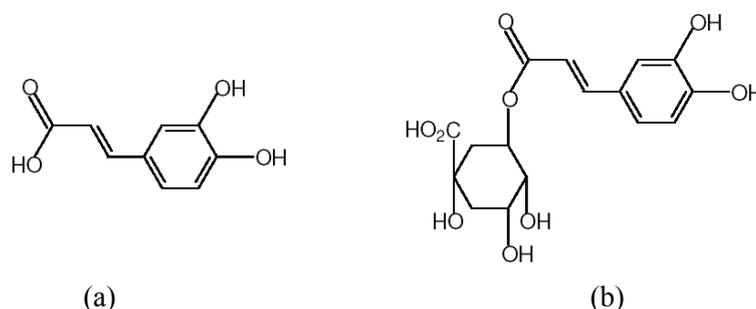


Figura 2.4 - Ácido caféico (a) e ácido clorogênico (b)

1.2.3. Flavonóides

Os flavonóides constituem o grupo de compostos fenólicos mais importante e abundante das plantas (Harborne e Williams, 2000). Nos vegetais estes compostos atuam na formação de pigmentos, na proteção à radiação ultravioleta, na defesa contra patógenos, na proteção contra danos oxidativos e no controle da ação de hormônios como as auxinas (Fresno, 1999; Naranjo, 2006). Encontram-se amplamente distribuídos em frutas e vegetais comestíveis, assim como em seus produtos derivados, como vinho, cerveja, sucos e outros (Naranjo, 2006).

Esses compostos estão amplamente distribuídos em todo o reino vegetal, constituindo a maioria dos pigmentos amarelos (flavonas, flavonóis, chalconas, auronas, flavanonas), roxos e azuis (antocianinas) de flores e de alguns frutos. São particularmente abundantes nas plantas vasculares. Destacam-se as famílias Asteraceae, Rutaceae, Fabaceae, Umbelliferae, Lamiaceae, entre outras, pelo conteúdo e diversidade estruturais de flavonóides existentes nelas. Salvo algumas exceções, as antocianinas estão presentes em todas as angiospermas; nas gimnospermas são característicos os biflavonóides (formas dímeras, com frequência, de flavonas e flavanonas) em Cycadales e Coniferales (com exceção de Pinnaceae) (Fresno, 1999).

Do ponto de vista químico, os flavonóides são fenóis que possuem uma estrutura básica do tipo diaril-propano ($Ar-C_3-Ar$), constituída por um anel benzênico condensado a uma γ -pirona (ou seus derivados) substituída na posição 2 ou 3 por um radical fenil, conforme representado na Figura 2.5. Em sua maioria, esses compostos encontram-se unidos a um açúcar (Fresno, 1999).

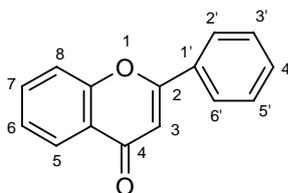


Figura 2.5 – 2-fenilbenzopirona, núcleo dos flavonóides

Dependendo do grau de oxidação do anel pirânico central os flavonóides podem diferenciar-se em vários tipos (Figura 2.6) (Fresno, 1999):

- a) 2(3)-fenilbenzopirona: flavonas, flavonóis, flavanonas, isoflavonas, chalconas (com anel pirânico aberto) e auronas (homólogos de flavonas com heterociclo pentagonal).
- b) 2-fenilbenzopirano: 3-flavanóis (catequinas), 3,4-flavanodióis (leucoantocianinas).
- c) 2-fenilbenzopirilo (cátion flavílio): antocianinas

A presença de grupos hidroxilas é freqüente nas posições 3, 5, 7, 3', 4', 5'; que podem estar livres, eterificados por metanol ou unidos a açúcares (L-raminose, D-glicose, D-galactose, L-arabinose ou outros) constituindo, em sua maioria, O-heterosídeos. Podem encontrar-se também como C-heterosídeos, sendo que neste caso a ligação se estabelece entre o carbono anomérico do açúcar e o C₆ ou C₈ da genina. É freqüente a acilação das hidroxilas do açúcar; sendo que nos antocianosídeos se realiza, sobretudo, na série dos 3,5-diosídeos (Fresno, 1999). Os flavonóides também se encontram na forma de polímeros com diferentes graus de polimerização (Aoki et al., 2000).

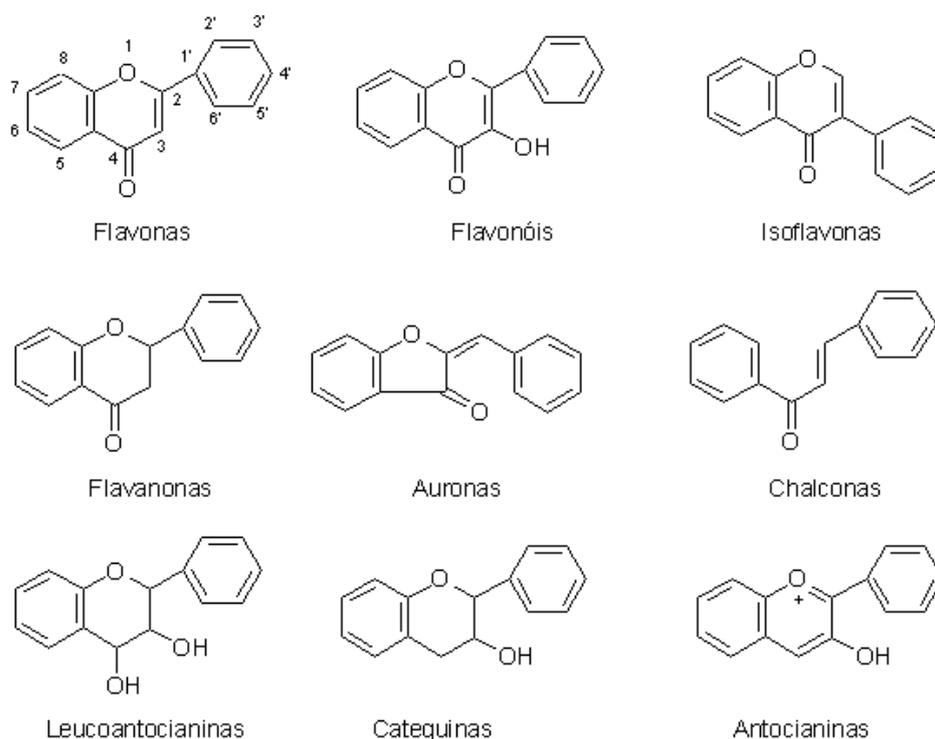
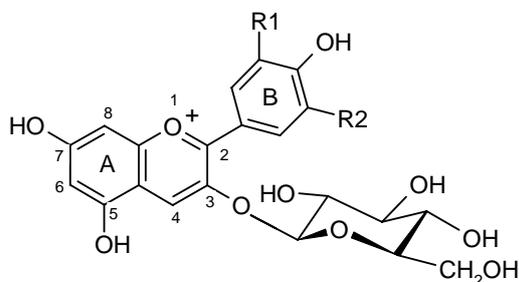


Figura 2.6 – Principais grupos estruturais de flavonóides

As antocianinas formam um dos grupos de pigmentos mais amplamente distribuído no reino vegetal. Estes compostos são responsáveis por uma larga faixa de cores da maioria dos vegetais comestíveis, incluindo azul, roxa, violeta, magenta, vermelha e alaranjada (Fennema, 1996; Malien-Aubert et al., 2001).

Estruturalmente, esses pigmentos são glicosídeos de poliidroxi e/ou polimetoxi derivados do íon flavílio. Todos possuem o mesmo esqueleto básico hidroxilado nas posições 3, 5 e 7 e diferem entre si no número e posição de hidroxilas e/ou grupos metoxi presentes, nos tipos, números e posições dos açúcares na molécula e nos tipos e números de ácidos alifáticos ou aromáticos ligados aos açúcares da molécula (Fennema, 1996; Malacrida e Motta, 2006; Naranjo, 2006), como ilustrado

na Figura 2.7. Os açúcares mais comuns são glicose, galactose, arabinose, xilose, raminose e di- ou trissacarídeos homogêneos ou heterogêneos formados da combinação destes. Estes se unem à aglicona (antocianidina) através de uma ligação do tipo éter entre o seu carbono anomérico e, na maioria das vezes, o C3; podendo se ligar também aos carbonos 5 e 7 do anel flavílico (Fennema, 1996; Kuskoski et al., 2006; Naranjo, 2006).



Aglicona (Estrutura do anel B)		Substituição glicosídica (nas posições 3 e 5)	Acilação (esterificação das hidroxilas do açúcar)
R_1	R_2		
H	H	pelargonidina	Ácidos cinâmicos
OH	H	cianidina	<i>p</i> -cumárico
OH	OH	delfinidina	ferrúlico
OCH ₃	H	peonidina	caféico
OCH ₃	OH	petunidina	
OCH ₃	OCH ₃	malvidina	Ácidos alifáticos
		soforose	acético
		sambubiose	malônico
		gentiobiose	succínico

Figura 2.7 – Antocianinas

Em condições levemente ácidas (pH entre 4 e 6), que é como se encontram nos vacúolos celulares, as antocianidinas se apresentam como uma mistura de quatro espécies denominadas base quinoidal, cátion flavílio, pseudobase carbinol e chalcona, que coexistem em equilíbrio a uma temperatura de 25°C (Figura 2.8.) A proporção de cada uma destas formas dependerá do pH. Quando este aumenta, a quantidade da base quinoidal aumenta, a pH neutro predomina a forma aniônica da base quinoidal, de coloração azulada, enquanto que em condições mais ácidas (pH < 2,0) predomina o cátion flavílio de cor vermelha. Este último é um híbrido de ressonância, no qual a carga positiva está deslocalizada por todo o heterociclo aromático, originando um cátion oxônio, no qual a maior densidade de carga positiva se localiza nos carbonos 2 e 4 (Francis, 2000; Naranjo, 2006).

1.2.4. Taninos

Os taninos são amplamente distribuídos na natureza. São encontrados em muitas plantas medicinais, produtos alimentícios e bebidas e sua aplicação na indústria do couro e outras como de corantes e adesivos são de grande utilidade para o homem (Fresno, 1999).

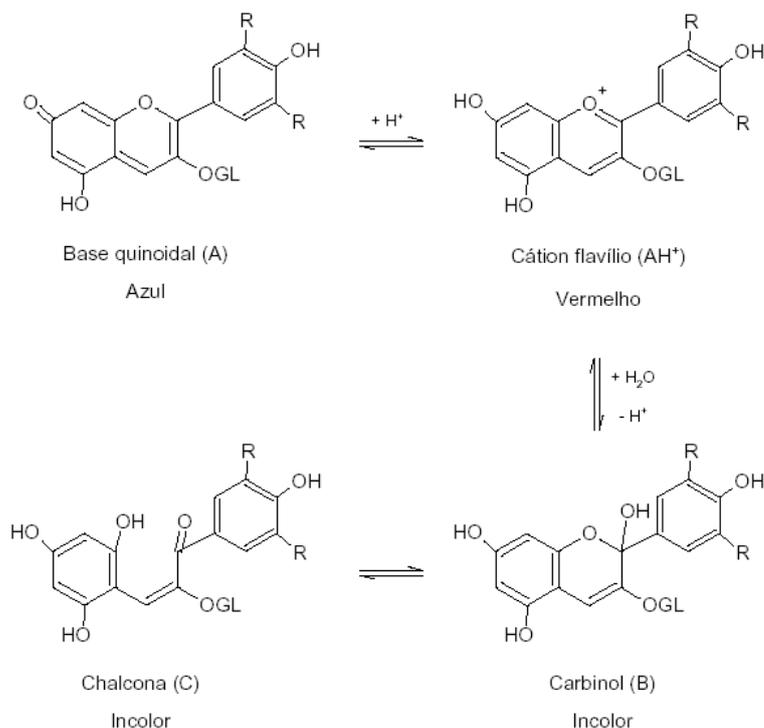


Figura 2.8 – Formas estruturais de antocianinas em equilíbrio em meio aquoso

Esses compostos estão relacionados a diversos efeitos fisiológicos, como sua propriedade de se ligar a proteínas, muito importante no processamento de alimentos; capacidade de reduzir a pressão sanguínea, acelerar a coagulação sanguínea, diminuir o nível de lipídios no soro e modular respostas imunológicas (imunomoduladores). Em vinhos, eles têm potencial atividade antioxidante, associada à sua atuação em lipoproteínas de baixa densidade (LDL), cujas formas oxidadas podem desencadear doenças coronarianas. A quantidade e o tipo de taninos são críticos para estes efeitos. (Millic e Stojanovic, 1972; Reed, 1995; Teissedre et al., 1996).

Os taninos são compostos fenólicos hidrossolúveis, de massa molar compreendida entre 500 e 5000, que apresentam, além das reações clássicas dos fenóis, a propriedade de precipitar os alcalóides, a gelatina e outras proteínas. Após o conhecimento da estrutura química de muitos taninos, este termo começou a ser substituído por outros, como polifenóis, proantocianidinas e poliésteres de ácido gálico (Fresno, 1999).

Nos vegetais superiores se distinguem dois grupos de taninos diferentes por sua estrutura e por sua origem biossintética: taninos hidrolisáveis e taninos condensados. Os *taninos hidrolisáveis* são poliésteres de um açúcar, geralmente glicose, ou de um poliol e um número variável de ácidos fenólicos. São hidrolisáveis por ácidos, álcalis e enzimas (Fresno, 1999).

Segundo a natureza do ácido unido à glicose ou ao poliol têm-se distinguido classicamente dois tipos de taninos hidrolisáveis: *taninos gálicos*, quando o ácido fenólico é o ácido gálico (ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico) e os impropriamente chamados *taninos elágicos*, quando o ácido fenólico é o hexahidroxidifênico e seus derivados de oxidação (Figura 2.9) (Fresno, 1999).

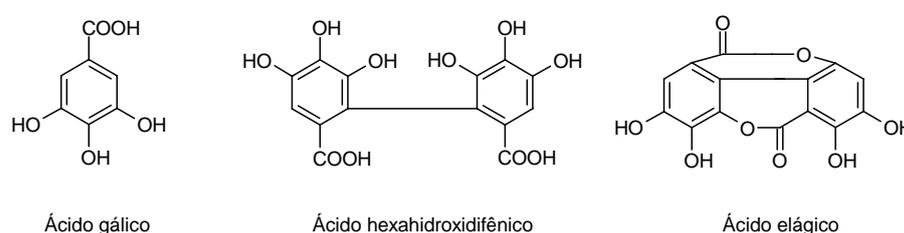


Figura 2.9 – Unidades estruturais de taninos hidrolisáveis (Fonte: Fresno, 1999)

Os taninos gálicos ou galotaninos incrementam seu grau de condensação por esterificação entre unidades de ácido gálico para produzir cadeias das chamadas unidades depsídicas. Estes taninos têm a estrutura β -penta-O-galoil-D-glicose, às quais se unem entre uma e cinco unidades galoil. Estas unidades estão distribuídas sobre essas espécies nas posições C-2, C-3 e C-4 e as uniões depsídicas se estabelecem entre a carboxila de um ácido gálico e a hidroxila em *meta* ou *para* em relação à carboxila do outro (Figura 2.10) (Fresno, 1999).

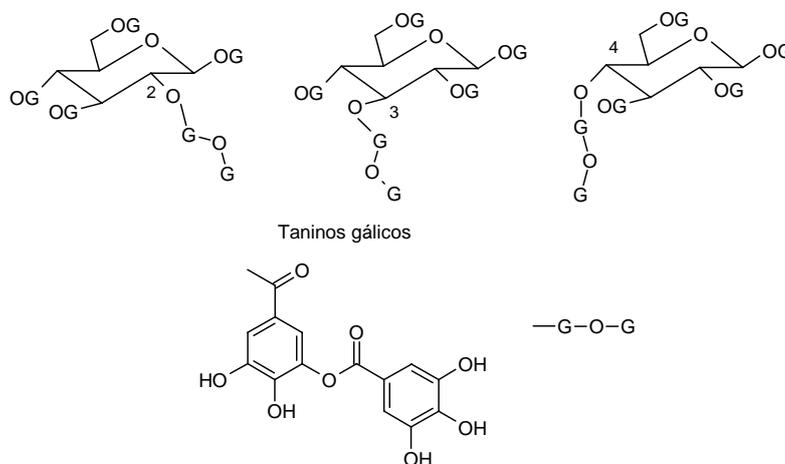


Figura 2.10 – Ligações *m*-depsídicas entre as unidades de ácido gálico para formar taninos gálicos (Fonte: Fresno, 1999)

Estes depsídeos têm sido isolados de plantas de várias famílias, entre elas, Combretaceae (Fresno, 1999).

Para formação dos elagitaninos, os acoplamentos oxidativos mais frequentes implicam nos resíduos galoil em C-2/C-3 e C-4/C-6 de uma pentagalactoglicose. São exemplos deste tipo a telimagrandina I e II com acoplamento oxidativo C-4/C-6 (Figura 2.11). Mais raramente o acoplamento oxidativo ocorre entre os grupos galoil em C-2/C-4 ou C-3-C-6 da glicose (Fresno, 1999).

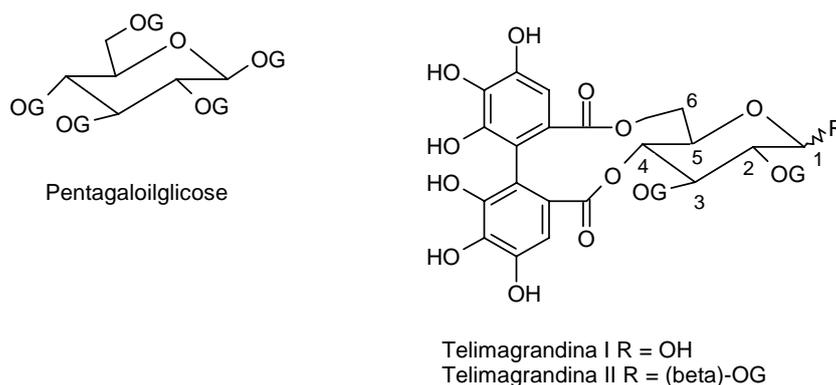


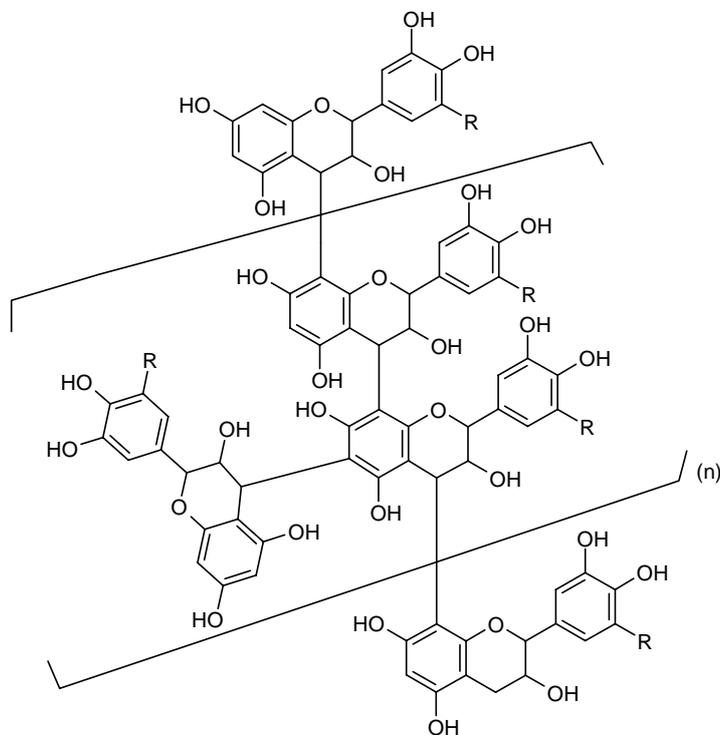
Figura 2.11 – Elagitaninos (Fonte: Fresno, 1999)

Elagitaninos mais complexos, oligômeros e polímeros, com massa molar compreendida entre 2000 e 5000, podem se formar pelo acoplamento oxidativo intermolecular entre elagitaninos monômeros. Essa união se estabelece por ligação C-O entre o ácido hexahidroxidifênico de um e um ácido gálico do outro. A distribuição dos oligômeros é mais limitada e se encontra em espécies de Rosaceae, Fagaceae, Betulaceae, Combretaceae, Cornaceae, Tamariceae, Nyssaceae, Hamamelidaceae e Theaceae (Fresno, 1999).

Os *taninos condensados* ou *proantocianidinas* são oligômeros e polímeros flavânicos (Figura 2.12). São constituídos por unidades de flavan-3-óis ou catequinas unidas entre si por ligações C-C. Diferenciam-se dos taninos hidrolisáveis pelo fato de suas moléculas serem mais resistentes à ruptura, e a sua estrutura estar relacionada com os flavonóides. O nome proantocianidina deriva do fato de que por aquecimento com ácidos esses compostos dão origem a antocianidinas e se denominam procianidinas, prodelfinidinas e propelargonidinas, etc., conforme a antocianidina resultante seja cianidina, delfinidina ou pelargonidina.

As proantocianidinas estão associadas à adstringência que muitas frutas comestíveis apresentam antes da maturação (Martinez-Valverde et al., 2000). As reações químicas que são a base dessa adstringência consistem na formação de complexos entre os taninos condensados e proteínas da saliva. O grau de

polimerização dos taninos influencia na sensação de adstringência e amargor, de forma que os trímeros e dímeros apresentam maior adstringência que os monômeros, enquanto que o amargor diminui com o aumento do tamanho da molécula (Peleg et al., 1999).



Polímeros de procianidina (R=H) e prodelfinidina (R=OH)

Figura 2.12 – Proantocianidinas (Fonte: Fresno, 1999)

Desde 1985 tem-se isolado de plantas superiores vários representantes de uma nova categoria de taninos, *taninos complexos* ou *taninos mistos*, que fazem mais imprecisa a fronteira entre os taninos hidrolisáveis e os condensados. São taninos elágicos modificados, que resultam da adição de um derivado de 2-fenil-cromano em uma molécula de éster de ácido hexahidroxidifênico e glicose. Ou seja, têm-se encontrado estruturas intermediárias entre as duas categorias clássicas de taninos. Assim, a complexidade das estruturas atualmente conhecidas torna mais imprecisa a tradicional classificação de taninos em hidrolisáveis e condensados e tem modificado o conceito antigo de taninos (Fresno, 1999).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudar a composição de fenóis em amostras da polpa das amêndoas da *Terminalia catappa* Linn.

2.2 Objetivos Específicos

- Obter o extrato etanólico a partir da polpa.
- Identificar os compostos fenólicos do extrato etanólico por HPLC.
- Quantificar o teor de compostos fenólicos totais no extrato obtido.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Obtenção do extrato da polpa

Após lavagem em água destilada e secagem manual dos frutos, a polpa foi separada da semente juntamente com a casca. Os extratos foram preparados utilizando-se aproximadamente 130 g da polpa fresca picada em pequenos pedaços. A extração foi realizada em erlenmeyer (500 mL) protegido da luz e tampado, à temperatura ambiente, através da imersão do material em etanol P.A. Foram realizadas sucessivas extrações, até que o solvente se tornasse bem claro, de modo a garantir a extração máxima dos compostos de interesse para as análises posteriores. O tempo total de extração foi de 6 a 9 horas, com um gasto de 600 a 1000 mL de solvente. Após a extração, o extrato foi filtrado.

Em seguida, o extrato foi submetido à evaporação do solvente, em evaporador rotativo, sob vácuo, a 50°C até eliminação completa do álcool. Depois esse material foi submetido a um processo de liofilização a pressão de 0,180 mBar e - 59 °C em liofilizador da marca LABCONCO, uma vez que a polpa da amêndoa possui um alto teor de água.

O extrato bruto obtido foi utilizado para a realização das análises que se seguem.

3.2. Determinação de fenóis totais

A quantidade de compostos fenólicos totais nos extratos da polpa foi determinada pelo método do reagente Folin-Ciocalteu, de acordo com metodologia descrita em Usenik et al. (2008), com modificações. O extrato obtido da polpa foi dissolvido em solução etanólica a 70% a uma concentração de 4 mg/mL. Tomou-se uma alíquota de 100 µL da solução do extrato, adicionou-se 6 mL de água destilada e 500 µL do reagente Folin-Ciocalteu. Depois de aproximadamente 5 minutos à temperatura ambiente, adicionou-se 1,5 mL de solução de carbonato de sódio a 20 %. Agitou-se a mistura e após 30 min à 40°C a absorbância foi medida a 780 nm em espectrofotômetro Shimadzu Mod UV-1240-mini. Utilizou-se como branco uma solução contendo etanol a 70% e os demais reagentes na mesma proporção descrita anteriormente, com exceção do extrato.

O teor de fenóis totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras em uma curva analítica construída com soluções padrões de ácido gálico em etanol P. A. (10 a 350 µg/mL). Os resultados foram expressos como mg em equivalentes de ácido gálico por 100 g de extrato. As análises foram realizadas em triplicata (Sousa et al., 2007).

3.3. Determinação do perfil cromatográfico das amostras utilizando HPLC acoplado à espectrometria de massas

Essas análises foram realizadas no Depto. De Química Analítica, Nutrição e Bromatologia da Universidade de Salamanca, Salamanca, Espanha.

Para a determinação do perfil cromatográfico dos extratos obtidos, utilizou-se o sistema HPLC (Agilent Technologies 1100 series, Waldbronn, Germany) constituído de uma bomba, um injetor de amostra e um detector de arranjo de diodos (*Diode-Array*), utilizando-se a coluna Aqua (Phenomenex, Torrance, CA, USA), coluna C18, 5 µm, 150 x 4,6 mm. A aquisição dos dados e controle do sistema foram feitos com o programa ChemStation. Todas as separações foram conduzidas a 35°C. As detecções com o arranjo de diodos foram realizadas nas seguintes condições: leituras entre 200-600 nm, usando intervalos de leitura de 1 Hz e comprimentos de onda de 5 nm (Alcalde-Eon et al., 2004).

Foram utilizados dois procedimentos para a detecção de compostos da classe dos flavonóides: um para flavonóis e outro para antocianinas. As demais classes de compostos fenólicos não puderam ser caracterizadas pelas técnicas utilizadas, devido à ausência de tempo disponível para realizar os procedimentos adequados para sua identificação.

Para a análise das antocianinas as amostras foram dissolvidas na fase móvel, filtradas com filtro Dismic-13JP (0,50 µm, Advantec, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Japan), injetadas diretamente na coluna do HPLC (100µL) e eluídas com um gradiente constituído por uma solução aquosa de ácido trifluoracético (TFA) a 0,1 % (Solução A) e acetonitrila (ACN) (Solução B), a uma vazão de 0,5 mL/min. Iniciou-se a eluição com 90 % da Solução A e 10 % da Solução B, modificando-se as concentrações das soluções de acordo com os valores indicados na Tabela 2.1 (Alcalde-Eon et al., 2004).

Tabela 2.1 – Condições utilizadas na obtenção do perfil cromatográfico das antocianinas

Tempo (min.)	% Solução A	% Solução B	Vazão (mL/min.)	Pressão Máxima (Bar)
0	90	10	0,5	400
5	90	10	0,5	400
20	85	15	0,5	400
25	85	15	0,5	400
30	82	18	0,5	400
50	75	35	0,5	400
60	90	10	0,5	400
70	90	10	0,5	400

Para a análise dos flavonóis as amostras foram dissolvidas na fase móvel, filtradas com filtro Dismic-13JP (0.50 µm, Advantec, Toyo Roshi Kaisha, Ltda., Japan), injetadas diretamente na coluna do HPLC (100µL) e eluídas com um gradiente constituído por uma solução aquosa de ácido acético (HOAc) a 2,5 % (Solução A) e acetonitrila (ACN) (Solução B), a uma vazão de 0,5 mL/min. Iniciou-se a eluição com 90% da Solução A e 10% da Solução B, modificando-se as concentrações das soluções de acordo com os valores indicados na Tabela 2.2 (Alcalde-Eon et al., 2004).

Tabela 2.2 – Condições utilizadas na obtenção do perfil cromatográfico dos flavonóis

Tempo (min.)	% Solução A	% Solução B	Vazão (mL/min.)	Pressão Máxima (Bar)
0	90	10	0,5	400
50	70	30	0,5	400
55	50	50	0,5	400
60	50	50	0,5	400
65	90	10	0,5	400
70	90	10	0,5	400

A saída da célula de fluxo do detector de diodos foi conectada diretamente ao espectrômetro de massas (Finnigan LCQ, San José, CA, USA), equipado com uma fonte de ionização a pressão atmosférica do tipo electrospray (AP-ESI).

Para as antocianinas as análises foram realizadas em modo positivo, usando uma voltagem de ionização de 4,5 KV. A temperatura do capilar foi de 195°C. Utilizou-se o nitrogênio como gás de arraste e auxiliar, com vazões de 1,2 e 0,6 L/min, respectivamente. Os espectros foram registrados entre 155 e 1500 m/z (relação massa/carga). O aparelho foi programado para realizar uma série de três varreduras consecutivas:

1. Full MS,
2. MS2 do íon majoritário no full MS e
3. MS3 do íon majoritário no MS2.

A energia de colisão normalizada foi de 45%, usando hélio como gás de colisão.

Para os flavonóis as análises foram realizadas em modo negativo, usando uma voltagem de ionização de 2,5 KV. A temperatura do capilar foi de 175 °C. Utilizou-se o nitrogênio como gás de arraste e auxiliar, com vazões de 1,2 e 0,6 L/min, respectivamente. Os espectros foram registrados entre 230 e 1500 m/z. O aparelho foi programado para realizar uma série de três varreduras consecutivas, conforme descrito anteriormente (Alcalde-Eon et al., 2004).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Teor de compostos fenólicos totais

A análise do teor de compostos fenólicos totais foi realizada espectrofotometricamente de acordo com o método de Folin-Ciocalteu, utilizando ácido gálico como padrão. A Figura 2.13 ilustra a curva analítica de ácido gálico obtida com a finalidade de determinar o teor de fenólicos totais no extrato da polpa da *T. catappa*.

Os compostos fenólicos são capazes de atuarem como agentes redutores e junto com outros compostos antioxidantes presentes na dieta têm a capacidade de proteger o organismo contra o estresse oxidativo e doenças associadas. A partir de vários estudos que têm sido realizados, verificou-se que os compostos fenólicos apresentam ação antiinflamatória, antitrombogênica, antitumorais, antivirais e antiosteoporótica. Além de prevenir doenças degenerativas como aquelas de origem cardiovascular.

O teor de compostos fenólicos totais encontrados no extrato etanólico da polpa dos frutos da *T. catappa* foi de $2319,0 \pm 249,0$ mg/100g em equivalentes de ácido gálico. Este resultado é muito superior aos resultados obtidos em frutos tropicais (Kuskoski, et al., 2006) considerados como boas fontes dessas substâncias (Tabela 2.3). Esse resultado indica que a polpa desse fruto tem potencialidade para prevenir doenças oriundas do estresse oxidativo entre outras, como destacado anteriormente.

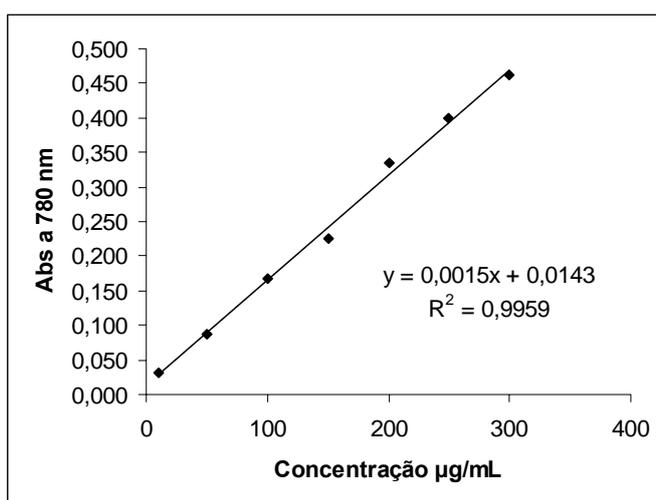


Figura 2.13 – Curva analítica de ácido gálico

Tabela 2.3 – Teor de compostos fenólicos totais em frutos tropicais expressos em mg de ácido gálico/100g de frutos (extratos do jambolão e de polpas congeladas comercializadas, reconstituídas)

Fruta	Compostos Fenólicos Totais
Jambolão EtOH	229,6 ± 13,6
Jambolão MetOH	194,7 ± 3,5
Polpa de amora	118,9 ± 2,1
Polpa de uva	117,1 ± 0,6
Polpa de açaí	136,8 ± 0,4
Polpa de morango	132,1 ± 3,8
Polpa de acerola	580,1 ± 4,6
Polpa de abacaxi	21,7 ± 4,5
Polpa de manga	544,9 ± 7,3
Polpa de graviola	84,3 ± 5,8
Polpa de cupuaçu	20,5 ± 3,0
Polpa de maracujá	20,0 ± 2,6
Polpa de goiaba	83,0 ± 1,3

Valores expressos em média ± desvio-padrão.
(Fonte: Kuskoski et al., 2006)

O estudo realizado por Da Silva (2003) mostra a diferença entre os teores de polifenóis totais das frações (casca, polpa e semente) das uvas Riesling Itálico e Cabernet Sauvignon (Tabela 2.4). Os altos teores encontrados para a casca, aproximadamente 10 vezes maior que para a polpa, pode explicar o alto valor obtido no presente trabalho para o extrato etanólico dos frutos da *T. catappa*, uma vez que o mesmo foi obtido a partir da polpa juntamente com a casca.

Tabela 2.4 – Teores de polifenóis totais das frações das uvas expressos em mg de ácido gálico/100 g da fração em base seca

Frações e vinhos		Polifenóis totais (mg/100g)
Riesling Itálico	Casca	1458,71 ± 116,20
	Polpa	168,62 ± 2,91
	Semente	5097,59 ± 79,08
Cabernet Sauvignon	Casca	2670,39 ± 336,92
	Polpa	216,62 ± 3,64
	Semente	5120,22 ± 41,65

Os teores de polifenóis estão expressos em média ± desvio-padrão. (Fonte: Da Silva, 2003)

4.2. Perfil cromatográfico das amostras

A identificação de todos compostos feitos neste trabalho foi realizada em colaboração com a Faculdade de Farmácia da Universidad de Salamanca, Espanha, no Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, sob coordenação do professor Julián C. Rivas-González e com a participação ativa do senhor José Joaquín Pérez Alonso, que realizou todas as análises e fez a interpretação dos espectros de massas, usando como referência uma base de dados criada no próprio Departamento, a partir da identificação de compostos fenólicos analisados em vários anos de trabalhos realizados pelo grupo (Pallauf et al., 2008; Silva et al., 2007; González-Paramás et al., 2006).

Os cromatogramas de todas as amostras analisadas foram semelhantes para cada procedimento realizado e as interpretações dos espectros de massas de alguns picos característicos detectados nos mesmos ajudaram a confirmar a presença dos seguintes compostos nas amostras:

(i) Com relação às antocianinas foram detectados principalmente os seguintes compostos: 3-Glucosídeo da Delfinidina, 3-Glucosídeo da Cianidina, 3-Glucosídeo da Pelargonidina, 3-Glucosídeo da Peonidina e 3-Glucosídeo da Malvidina (Figura 2.7), comumente encontrados em frutos e vegetais e um derivado da Vitisina. Observa-se no cromatograma representado abaixo (Figura 2.14), a presença de outros picos que ainda não foram identificados, entretanto análises dos espectros de massas correspondentes estão sendo feitas para caracterizar outros compostos.

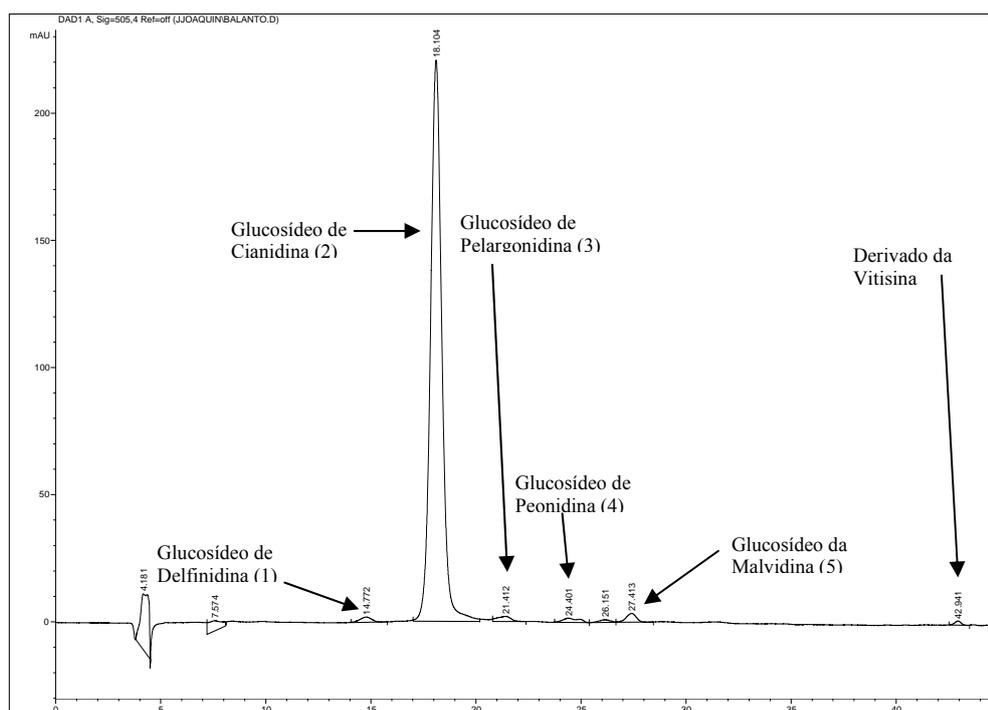


Figura 2.14 – Cromatograma das principais antocianinas detectadas

(ii) Com relação aos flavonóis foram detectados principalmente os seguintes compostos: glucosídeo da Miricetina; glucosídeo da Isoharmnetina, rutinosídeo da quercetina (Figura 2.15).

Flavonóis	R	R1	R2	R3
Glucosídeo da miricetina	açúcar	OH	OH	OH
Glucosídeo da isoharmnetina	açúcar	OCH ₃	OH	H
Rutinosídeo da quercetina	açúcar	OH	OH	H

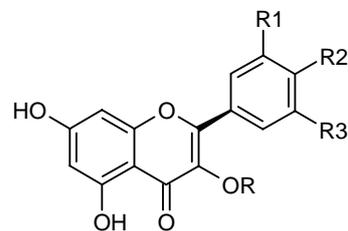


Figura 2.15 – Flavonóis detectados no extrato etanólico da polpa

(iii) Observou-se também a presença do Ácido Elágico e de Elagitaninos (Figura 2.9).

No cromatograma representado na Figura 2.15 aparecem outros picos que ainda não foram identificados e que também estão sendo analisados.

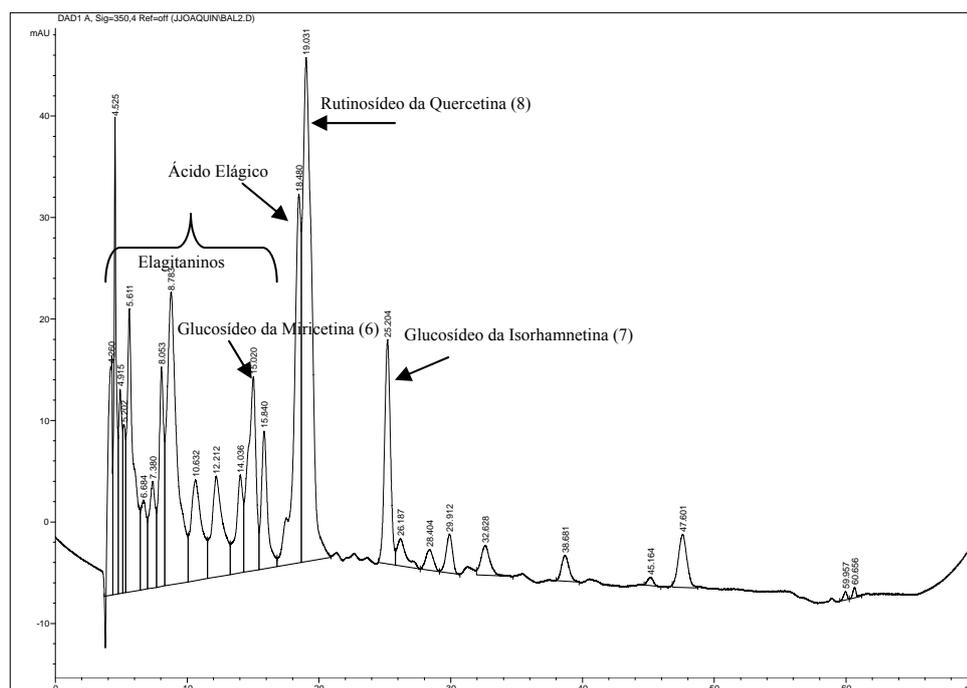


Figura 2.16 – Cromatograma dos principais flavonóis detectados

Os perfis cromatográficos obtidos a partir do extrato etanólico da polpa dos frutos da *T. catappa* indicaram a presença de compostos fenólicos do grupo dos flavonóides (antocianinas e flavonóis), ácidos fenólicos e taninos.

5. CONCLUSÃO

Considerando os efeitos benéficos que os compostos fenólicos exercem sobre a saúde humana, os resultados obtidos no presente trabalho indicam que a *T. catappa* pode atuar como uma boa fonte natural desses compostos.

Como essa espécie não é explorada para fins alimentícios, a divulgação dos resultados destacados é muito importante para a valorização de seus frutos como uma alternativa alimentar de baixo custo.

É também de grande importância identificar outros compostos fenólicos além dos descritos, diante da capacidade de atuarem como antioxidantes naturais e da contribuição que podem dar à saúde humana.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCALDE-EON, C.; SAAVEDRA, G.; PASCUAL-TERESA, S.; RIVAS-GONZALO, J. C. Liquid chromatography–mass spectrometry identification of anthocyanins of isla oca (*Oxalis tuberosa*, Mol.) tubers. *J. of Chromatogr. A*. v. 1054, p. 211–215, 2004.

ANGELO, P. M.; JORGE N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v.66, n. 1, p. 232-240, 2007.

AOKI, T.; AKASHI, T.; AYABE, S-I. Flavonoids of leguminous plants: structure, biological activity and biosynthesis. *J. Plant Res.*, v. 113, p. 475-488, 2000.

DA SILVA, P. C. F. **Propriedades antioxidantes *in vitro* de uva branca e de uva tinta e de seus respectivos vinhos elaborados.**2003, 138p. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – UFV, Viçosa – MG.

FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. 3 ed., New York, NY: Marcel Dekker, 1996, 1069p.

FRANCIS, F. J. Anthocyanins and betalains: composition and applications. *Cereal Foods World*, v. 45, p. 208-213, 2000.

FRESNO, A. M. V. **Farmacognosia General**. Madrid: Editorial Síntesis, S. A., 1999 Cap. 13, p. 191-208.

GONZÁLEZ-PARAMÁS, A. M.; SILVA, F. L.; MARTÍN-LÓPEZ, P.; MACZ-POP, G.; GONZÁLEZ-MANZANO, S.; ALCALDE-EON, C.; PÉREZ-ALONSO, J. J.; . ESCRIBANO-BAILÓN, M. T.; RIVAS-GONZALO, J. C.; SANTOS-BUELGA, C. Flavanol–anthocyanin condensed pigments in plant extracts. *Food Chem*. v. 94 p. 428–436, 2006.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, v. 55, p. 481-504, 2000.

KUSKOSKI, E., ASUERO, A.G., MORAES, M.T., FETT, R., Frutos Tropicais Silvestres e Polpas de Frutas Congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas, *Ciência Rural*, v.36, n.4, p. 1283-1287, 2006.

MALACRIDA, C. R., MOTTA, S. B. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. *CEPPA*, v. 24, n. 1, p. 59-82, 2006

MALIEN-AUBERT, C.; DANGLES, O. AMIOT, M. J. Color stability of commercial anthocyanin based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra and intermolecular copigmentation, *J. Agric. Food Chem.*, v. 49, p. 170-176, 2001.

MARTÍNEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Arch. Latinoam. de Nutr.*, v. 50, p. 5-18, 2000.

MILLIC, B. L.; STOJANOVIC, S. Lucerne tannins: III. Metabolic fate of lucerne tannins in mice. *J. of the Sci. of Food and Agric.*, v. 3, p. 1163-1167, 1972.

NACZK M, SHAHIDI F. Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogr A*, v.1054, n. ½, p. 95-11, 2004.

NARANJO, R. D. DI P. **Estúdio de la funcionalidad del pólen apícola: caracterización y actividad de los antocianos y otros flavonoides.** 2006, 163p. Tese (Depto. Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Facultad de Farmacia) – Universidad de Salamanca, Salamanca, Espanha.

PALLAUF, K.; RIVAS-GONZALO, J. C.; DEL CASTILLO, M. D.; CANO, M. P.; PASCUAL-TERESA S. Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. *J. of Food Comp. and Anal.*, v. 21, p. 273–281, 2008.

PELEG, H.; GACON, K.; SCHLICH, P.; NOBLE, A. C. Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimmers and trimers. *J. Sc. Food Agric.*, v. 79, p. 1123-1128, 1999.

REED, J. D. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *J. of Animal Sci.*, v. 73, p. 1516–1528, 1995.

RIBEIRO, S. M. R. **Caracterização e avaliação do potencial antioxidante de mangas (*Mangifera indica* L.) cultivadas no estado de Minas Gerais.** 2006, 149p. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola) – UFV, Viçosa – MG.

SILVA, F. L.; ESCRIBANO-BAILÓN, M. T.; PÉREZ-ALONSO, J. J.; RIVAS-GONZALO, J. C.; SANTOS-BUELGA, C. Anthocyanin pigments in strawberry. *LWT*, v. 40, p. 374–382, 2007.

SIMPSON, J. A. **Antioxidant properties of peanut plant leaves and roots and contribution of specific phenolic compounds to antioxidant capacity.** 2006, 80 p. Thesis (Master of Science in Food Science) – North Carolina State University, Raleigh – North Carolina, USA.

SOUSA, C. M. de M.; SILVA, H. R. e; VIEIRA JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, L. S. da, ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D., BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. de M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quím. Nova*, v. 30, n. 02, p. 351-355, 2007.

TEISSEDRE, P. L.; FRANKEL, E. N.; WATERHOUSE, A. L.; PELEG, H.; GERMAN, J. B. Inhibition of in vitro human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grapes and wines. *J. of the Sci. of Food and Agric.*, v. 70, p. 55–63, 1996.

USENIK, V.; FABCIC, J.; STAMPAR, F. Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chem.*, v. 107, p. 185-192, 2008.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DO EXTRATO ETANÓLICO DA POLPA DA *Terminalia catappa* Linn

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Oxidação e saúde

A oxidação é essencial para a obtenção de energia para o desenvolvimento dos processos biológicos em organismos vivos. No entanto, radicais livres e outras espécies reativas de oxigênio, que são continuamente produzidas nesses processos vitais, resulta em morte celular e danos em tecidos (Halliwell e Gutteridge, 1999 citado por Chyau et al., 2002). Os seres humanos e outros seres aeróbios só podem tolerar o oxigênio porque, ao mesmo tempo em que foram desenvolvendo cadeias de transporte de elétrons e outros sistemas enzimáticos para usá-lo, defesas antioxidantes para proteger contra os efeitos tóxicos do O₂ evoluíram em paralelo (Aruoma et al., 1991).

O oxigênio está presente na atmosfera como um birradical triplete estável (³O₂). Uma vez inalado, ele sofre um processo gradual de redução até ser metabolizado em água. Neste processo, uma pequena quantidade de intermediários reativos, como o radical superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$), radical hidroxil ($\bullet\text{OH}$) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) são formados. Esses radicais livres e espécies reativas, coletivamente denominadas espécies reativas de oxigênio, podem facilmente iniciar a peroxidação dos lipídios componentes das membranas celulares, resultando na acumulação de peróxidos de lipídios. Os produtos dessa oxidação e outros de oxidações secundárias são altamente reativos; eles reagem com substratos biológicos como proteínas, aminas e ácidos desoxirribonucléico (DNA). Estes processos resultam no desenvolvimento de algumas doenças degenerativas como aterosclerose, diabetes e cirrose, e podem ter uma contribuição significativa para o envelhecimento humano e o risco do câncer (Halliwell e Gutteridge, 1999 citado por Chyau et al., 2002; Sato et al., 1996).

Sistemas biológicos ou químicos geradores de $\bullet\text{O}_2^-$ podem danificar muitas biomoléculas. É geralmente aceito que grande parte da toxicidade do $\bullet\text{O}_2^-$ e do H₂O₂ nos organismos vivos é devido à conversão de ambos em $\bullet\text{OH}$ e em complexos iônicos reativos de oxigênio-radical-metal. A formação de $\bullet\text{OH}$ é catalisada por metais de transição. Os íons de titânio, cobre, ferro, cobalto e níquel são catalisadores

potenciais da formação desses radicais. Esta capacidade catalítica dos íons metálicos sugere que a disponibilidade de íons de ferro e cobre livres no corpo humano deve ser cuidadosamente controlada (Aruoma et al., 1991).

Radicais livres de importância em organismos vivos incluem hidroxil ($\bullet\text{OH}$), superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$), óxido nítrico (NO) e peróxil ($\text{ROO}\bullet$). Peróxido de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e ozônio (O_3) não são radicais livres, mas podem facilmente conduzir a reações com radicais livres em organismos vivos (Aruoma et al., 1991).

A manutenção da homeostase do estado redox celular é feita por meio de mecanismos que agem controlando a produção dos radicais livres, a sua eliminação ou desativação e reparando os danos oxidativos. Existem dois mecanismos antioxidantes: o enzimático e o não-enzimático ; ambos agem cooperativa e sinergisticamente para manter o equilíbrio dos radicais livres no organismo (Ribeiro, 2006). Porém, a formação de espécies reativas de oxigênio além da capacidade de antioxidantes para removê-los leva à condição de "estresse oxidativo", podendo danificar células por uma variedade de complexos mecanismos interrelacionados (Aruoma et al., 1991).

Além da produção fisiológica dos radicais livres de oxigênio e de nitrogênio, o organismo humano está sujeito à ação de xenobióticos (fármacos, poluentes e contaminantes químicos), os quais podem aumentar a produção de radicais livres durante a sua biotransformação e, conseqüentemente, favorecer a instalação do estresse oxidativo nos tecidos (Gonzalez, 2005).

1.2 Antioxidantes naturalmente presentes em alimentos

Os compostos antioxidantes presentes em alimentos desempenham um papel importante como um fator de proteção da saúde. Grãos inteiros, frutas e legumes são fontes primárias de antioxidantes de ocorrência natural. Antioxidantes alimentares de origem vegetal como ácido ascórbico (vitamina C), tocoferóis (vitamina E), carotenóides, e diversos compostos fenólicos têm sido reconhecidos como tendo potencial de reduzir risco de doenças. A maioria dos compostos antioxidantes numa dieta típica é derivada de fontes vegetais e pertencem a várias classes de compostos com uma grande variedade de propriedades físicas e químicas (Prakash, 2001).

Além disso, na área de nutrição, íons como selênio, cobre, zinco, ferro e manganês são freqüentemente incluídos no grupo de nutrientes antioxidantes, por serem constituintes de enzimas envolvidas na proteção contra o estresse oxidativo (Simpson, 2006).

1.3 Mecanismo da oxidação de lipídios

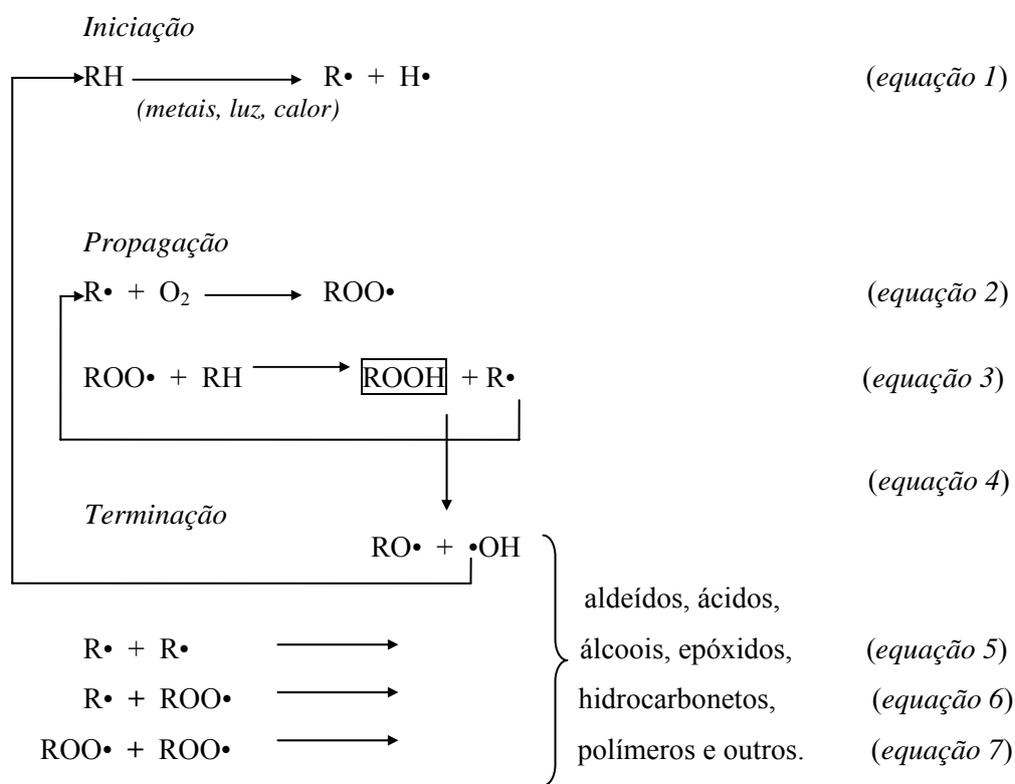
A oxidação de lipídios é uma das maiores causas de deterioração em alimentos, sendo de grande interesse econômico para a indústria por levar ao desenvolvimento de vários sabores e odores chamados de ranço (rancidez oxidativa) em óleos comestíveis e no conteúdo lipídico de alimentos. É geralmente aceito que a auto-oxidação, que é a reação com o oxigênio molecular via mecanismo auto-catalítico, é a principal reação envolvida na deterioração oxidativa de lipídios. Essa reação pode ainda diminuir a qualidade nutricional de um alimento e produzir compostos potencialmente tóxicos (Fennema, 1996). Além disso, conforme exposto anteriormente, a oxidação de lipídios em organismos vivos desempenha um importante papel na saúde. Portanto, as etapas dessa reação serão apresentadas de modo a ilustrar o mecanismo da auto-oxidação.

A auto-oxidação de lipídios ocorre por típicos mecanismos via radicais livres e pode ser representada por um esquema simplificado de três etapas. O mecanismo é iniciado pela remoção de hidrogênio de um ácido graxo (RH), com a formação de um radical alquil ($R\bullet$) e de radical hidrogênio ($H\bullet$). Uma vez que a reação entre os ácidos graxos e o oxigênio atmosférico é termodinamicamente difícil, a produção dos primeiros radicais livres necessários para dar início à etapa de propagação deve ser catalisada. Assim, o início da oxidação pode ocorrer pela decomposição de um hidroperóxido, pela catálise por íons metálicos ou pela exposição à luz ou ao calor (*equação 1*) (Araújo, 2004; Fennema, 1996; Simpson, 2006).

Depois da iniciação, a reação em cadeia se propaga pela retirada de átomos de hidrogênio de outros ácidos graxos insaturados, formando novos radicais alquil. Os radicais alquil formados, que são altamente reativos, reagem com o oxigênio atmosférico (O_2) produzindo radicais peroxil ($ROO\bullet$) (*equação 2*), que por sua vez retiram átomos de hidrogênio de outros ácidos graxos para produzir hidroperóxidos ($ROOH$) e novos radicais alquil (*equação 3*). Assim, a seqüência de reações se repete (Araújo, 2004; Fennema, 1996; Simpson, 2006).

Os hidroperóxidos são relativamente instáveis e se decompõem produzindo uma grande variedade de compostos. Estes produtos podem sofrer posterior oxidação e decomposição, contribuindo deste modo com grande quantidade e variedade de radicais livres. A primeira etapa da decomposição do hidroperóxido é a cisão homolítica da ligação oxigênio-oxigênio dando origem a um radical alcóxil ($RO\bullet$) e um radical hidroxil ($\bullet OH$) (*equação 4*) (Fennema, 2006). Assim que a concentração de radicais livres aumenta, eles começam a reagir entre si para formar dímeros de ácidos graxos livres, aldeídos, álcoois, cetonas, ésteres, epóxidos, hidrocarbonetos e produtos de condensação, que causam cheiro e sabor característicos chamados de ranço e

alteram a cor e a textura, caracterizando a etapa da terminação (*equações 5, 6 e 7*). (Araújo, 2004; Fennema, 1996; Simpson, 2006).



1.4 Antioxidantes como aditivos

Antioxidantes são substâncias que podem retardar o início, ou diminuir a velocidade da oxidação de materiais auto-oxidáveis. Muitos compostos naturais e sintéticos, têm sido descritos por possuírem propriedades antioxidantes. A sua utilização em alimentos, no entanto, é limitada a determinados requisitos, principalmente em relação à sua segurança. Os principais antioxidantes solúveis em lipídios usados em alimentos são fenóis mono ou poli-hidroxilados com vários substituintes no anel aromático. Na figura 3.1 estão representadas as estruturas químicas dos antioxidantes fenólicos permitidos pela legislação brasileira para alguns tipos de alimentos (ANVISA, 2008). Para uma máxima eficiência, antioxidantes primários são geralmente usados em combinação com outros antioxidantes fenólicos ou com vários agentes sequestrantes de metais (Fennema, 1996).

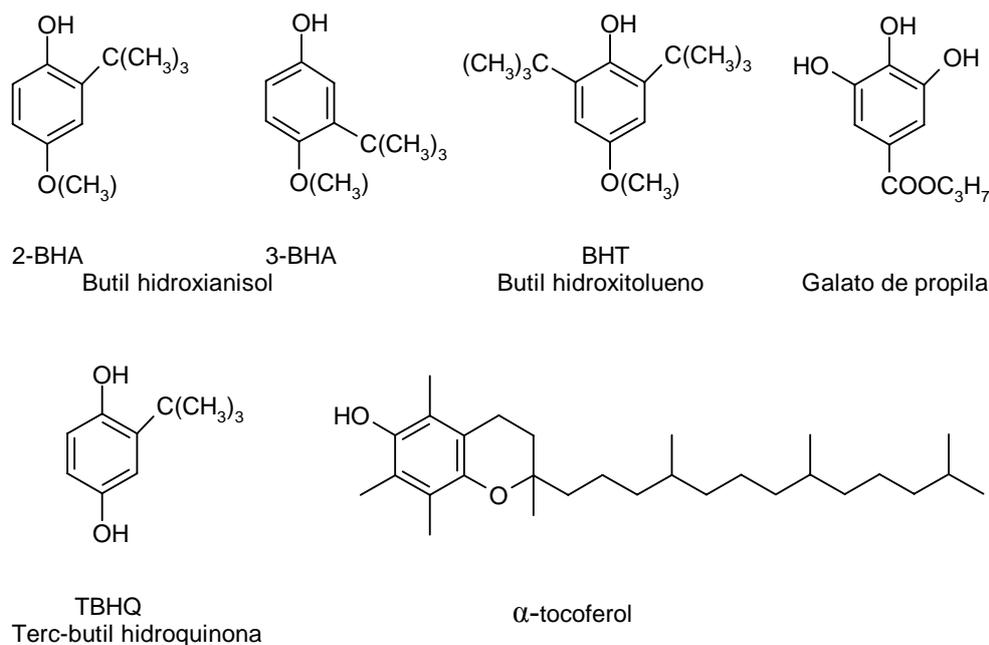


Figura 3.1 – Principais antioxidantes usados em alimentos (Fonte: Fennema, 1996).

Na ciência de alimentos, os antioxidantes têm um amplo espectro de atuação, no qual se incluem componentes que previnem rancidez em óleos, assim como os antioxidantes da dieta. Estes últimos compreendem “substâncias presentes em alimentos que diminuem consideravelmente os efeitos adversos de espécies reativas, como as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, no funcionamento fisiológico normal em humanos” (definido pelo Institut of Medicine, EUA citado por Huang et al., 2005).

Enquanto a auto-oxidação em uma matéria inanimada ocorre por reações radiculares em cadeia, a oxidação em sistemas biológicos é mediada principalmente por enzimas catalisadoras de reações de oxirredução. Não obstante, a auto-oxidação não enzimática de lipídios via reação radicalar em cadeia ainda poderá ocorrer e levar ao estresse oxidativo. Conseqüentemente, os antioxidantes biológicos incluem antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Os antioxidantes da dieta, por sua vez, incluem, geralmente, estes últimos em larga escala, ou seja, os inibidores da reação radicalar em cadeia, os quelantes de metais, os inibidores de enzimas oxidativas e os cofatores de enzimas antioxidantes (Huang et al., 2005).

A partir do mecanismo da auto-oxidação apresentado anteriormente, torna-se claro que uma substância retarda a auto-oxidação se ela inibe a formação de radicais livres na etapa de iniciação da reação (antioxidantes preventivos) ou se ela interrompe a propagação da cadeia de radicais livres (antioxidantes de sacrifício). A etapa de iniciação pode ser retardada pelo uso de decompositores de peróxido, agentes

quelantes de metais ou inibidores de oxigênio singlete. O ácido cítrico, o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), e polifosfatos são exemplos de antioxidantes preventivos que complexam íons metálicos (Fennema, 1996; Huang et al., 2005; Simpson, 2006).

A maioria dos estudos está focada no uso de aceptores de radicais livres, uma vez que sistemas alimentares são complexos e é muito difícil eliminar traços de peróxidos e metais iniciadores. Logo, apesar da diferença no mecanismo de atuação, os inibidores da reação radicalar em cadeia é que normalmente são considerados como antioxidantes e também os mais extensivamente estudados (Fennema, 1996; Huang et al., 2005; Simpson, 2006).

Os antioxidantes (AH) inibem a reação em cadeia agindo como doadores de hidrogênio ou aceptores de radicais livres, reagindo primeiramente com radicais peroxil e não com radicais alquil (*equação 8*). O radical livre intermediário do antioxidante (A•) forma produtos estáveis de reação com um ROO• ou é formado um complexo entre o radical ROO• e o inibidor, seguido pela reação do complexo com outro ROO• para formação de produtos estáveis. Portanto, uma molécula do inibidor (AH) elimina dois radicais livres e, assim, a reação pode ser considerada como ocorrendo em dois estágios (Fennema, 1996; Huang et al., 2005).



Um bom inibidor da auto-oxidação reage mais rapidamente com os radicais peroxil (*equação 8*), do que estes com os lipídios na etapa da propagação (*equação 3*) (Huang et al., 2005). A eficiência de um antioxidante está relacionada a muitos fatores, incluindo energia de ativação, constantes de velocidade, potencial de redução, reatividade do antioxidante e solubilidade. Para as duas reações competidoras apresentadas anteriormente, ou seja, a reação de inibição e a propagação da cadeia, que são exotérmicas, a energia de ativação aumenta com o aumento da energia de dissociação das ligações A-H e R-H. Desta forma, a eficiência do antioxidante aumenta com a diminuição da força da ligação A-H. No entanto, o radical livre resultante do antioxidante não deve iniciar a formação de novos radicais livres ou ser objeto de uma oxidação rápida por uma reação em cadeia. Neste aspecto os antioxidantes fenólicos ocupam uma posição favorecida. Eles são excelentes doadores de hidrogênio ou elétron e, além disso, o radical intermediário formado é relativamente estável devido ao efeito de deslocalização da ressonância e à ausência de posições favoráveis ao ataque pelo oxigênio molecular (Fennema, 1996).

1.5 Análises da capacidade antioxidante *in vitro*

Devido à complexidade da composição dos alimentos, separar cada composto antioxidante e estudá-lo individualmente é oneroso e ineficiente, não obstante às possíveis interações sinérgicas entre os compostos antioxidantes em uma mistura alimentar. Por isso, ter um método conveniente para a rápida quantificação da eficácia antioxidante na prevenção de doenças é de grande interesse para os pesquisadores (Huang et al., 2005).

Não é fácil se chegar a uma avaliação da capacidade antioxidante total através de uma única reação química, assim, pode ser necessário avaliar um extrato em vários sistemas modelos usando técnicas analíticas diferentes para tirar uma conclusão válida a respeito da sua eficiência antioxidante. Além disso, a atividade antioxidante de compostos fenólicos de plantas difere muito de acordo com as propriedades físicas e químicas do sistema modelo no qual são avaliados (Wettasinghe e Shahidi, 1999).

Baseado nas reações químicas envolvidas, a maioria dos ensaios da capacidade antioxidante pode ser de maneira geral dividida em duas categorias: aqueles baseados em reações de transferência do átomo hidrogênio (TAH) e os que são baseados em reações de transferência de um elétron (TE). As análises baseadas na transferência de elétron envolvem uma reação redox em que o oxidante atua como um indicador do ponto final da reação. A maioria das análises baseadas na transferência de hidrogênio monitora velocidades de reações competitivas e a quantificação é obtida a partir das curvas cinéticas. Esses métodos são compostos geralmente de um gerador sintético de radical livre, um sistema modelo oxidável e um antioxidante. Ambos os tipos de análises destinam-se a medir a captura de radical (ou oxidante), ao invés da capacidade antioxidante preventiva de uma amostra (Huang et al., 2005).

O primeiro método descrito abaixo se baseia em uma reação de transferência do átomo de hidrogênio, enquanto o segundo, em uma reação transferência de elétrons.

(i) Método da co-oxidação do β -caroteno e ácido linoléico

Este método foi desenvolvido por Marco (1968) e posteriormente modificado por Miller (1971). Este método avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoléico. O método está fundamentado em mediadas espectrofotométricas da descoloração (oxidação) do β -caroteno, induzida pelos produtos de degradação oxidativa do ácido linoléico (Marco, 1968; Miller 1971).

Durante o ensaio, a reação de oxidação do ácido graxo linoléico ocorre a 50°C e é promovida pela adição de O₂ ao meio, o que resulta na produção de radicais livres. A descoloração (oxidação) do β -caroteno, que possui cor vermelha, é induzida pelos

produtos da degradação oxidativa do ácido linoléico. Além desses reagentes, a mistura contém água e Tween 40 (polioxietileno-sorbitol monopalmitato), um agente surfactante que atua promovendo a formação da emulsão aquosa, facilitando a dispersão do gás (O₂) e a posterior dissolução da solução do antioxidante polar ou do solvente correspondente (amostra controle, sem o antioxidante). O progresso da auto-oxidação é monitorado por medidas espectrofotométricas a 470 nm realizadas ao longo do tempo e a eficiência do antioxidante é determinada pelo seu efeito na diminuição da velocidade de descoloração do β-caroteno (Duarte, 2006; Marco, 1968; Miller, 1971 e Preté, 2006). Portanto, o método avalia a capacidade de uma amostra ou composto de inibir a oxidação de um substrato lipídico (Duarte, 2006).

Segundo Marco (1968), como o objetivo do método era avaliar e classificar os antioxidantes, era desejado um tempo de reação razoavelmente longo, uma vez que um tempo mais extenso acentuaria as diferenças entre antioxidantes bons e ruins. No entanto, o procedimento deveria ser suficientemente rápido para completar uma série de comparações. Miller (1971) sugeriu um período de monitoramento de 1 a 3 horas de reação, até que o caroteno tenha sido descolorido.

(ii) Capacidade de “seqüestro” de radicais livres DPPH•

Este método baseia-se no descoloramento de uma solução composta por radicais estáveis 2,2-difenil-1-picrilidrazil (DPPH•) de cor violeta, quando da adição de substâncias que podem ceder um átomo de hidrogênio (Huang et al., 2005). A estrutura do radical estável DPPH• é mostrada na figura 3.2. Sua solução alcoólica apresenta máximo de absorção em 517 nm. A cor muda de violeta para amarelo quando o radical é reduzido. O progresso da reação é, portanto, monitorado a partir decréscimo na absorbância da mistura reativa (Aruoma et al., 1997; Huang et al., 2005; Prakash, 2001; Sánchez-Moreno et al., 1998).

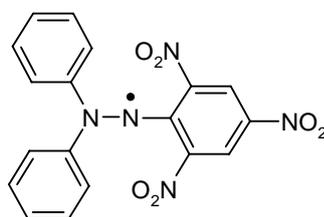


Figura 3.2 – Radical livre 2,2-difenil-1-picrilidrazil (DPPH•)
(Fonte: Huang et al., 2005)

Esse método possui a vantagem de ser rápido e simples, o que o torna facilmente reprodutível (Prakash, 2001).

Radicais livres como ROO•, RO• e DPPH•, reagem com compostos fenólicos (ArOH) através de dois mecanismos diferentes: (i) abstração direta de um átomo de hidrogênio do fenol pelo radical livre X• (reações de transferência de um átomo de hidrogênio) e (ii) processo de transferência de elétron do ArOH ou do seu ânion fenóxido (ArO⁻) ao X• (reações de transferência de elétrons) (Figura 3.3). A contribuição de um ou outro depende da natureza do solvente e/ou dos potenciais redox das espécies envolvidas (Foti et al., 2004).

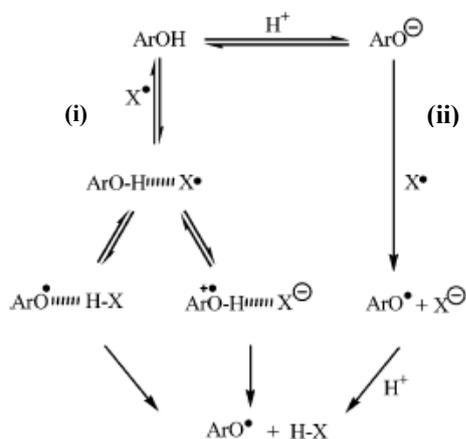


Figura 3.3 – Mecanismos de reação entre radicais livres e fenóis (ArOH): (i) reações de transferência de um átomo de hidrogênio e (ii) reações de transferência de elétrons. (Fonte: Foti et al., 2004).

O radical DPPH é largamente utilizado para avaliar a atividade antioxidante de compostos sintéticos e naturais usando-se metanol ou etanol como solvente. Os solventes exercem uma forte influência na velocidade dessas reações. Uma vez que a maioria das moléculas ArOH estão formando ligações de hidrogênio com os solventes polares, essas espécies não reagem pelo mecanismo de transferência de um átomo de hidrogênio. Assim, a velocidade da reação é dependente da força dessa ligação de hidrogênio, da basicidade do solvente e acidez do ArOH. A velocidade desta reação pode ser drasticamente aumentada ou diminuída pela presença de base e ácido, respectivamente, no meio (Foti et al., 2004).

Em solventes apolares a constante de velocidade da reação entre ArOH e ROO• é aproximadamente igual à da reação com o DPPH•, porém em solventes polares pode ser “anormalmente” alta. Especialmente em álcoois essa reação pode não ser representativa da taxa de abstração do átomo de H do ArOH por radicais livres. Uma vez que, geralmente, radicais peróxido ROO• reagem com compostos fenólicos por meio de um mecanismo que envolve a abstração de um átomo de hidrogênio, essa atividade antioxidante não pode ser extrapolada de sua reatividade com DPPH• (Foti et al., 2004).

Com base na análise da cinética da reação entre alguns fenóis e o DPPH• Foti e colaboradores concluíram que a etapa determinante da velocidade consiste em um rápido processo de transferência de elétron dos ânions fenóxidos para o radical DPPH•. A abstração do átomo de hidrogênio do composto fenólico neutro por esse radical livre se torna uma etapa secundária, uma vez que ocorre muito lentamente nesses solventes. Estes dois solventes alcoólicos têm constantes dielétricas relativamente altas e assim suportam bem a ionização de ácidos de Bronsted e o mecanismo de transferência de elétron (Foti et al., 2004).

Esses autores mostraram que apesar da presença do grupo ácido carboxílico em fenóis derivados do ácido cinâmico, pequenas quantidades de ânions fenóxidos, mas cineticamente significantes, são responsáveis pela velocidade das reações com o DPPH, cujas velocidades decrescem com o aumento das concentrações desses compostos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial antioxidante do extrato etanólico da polpa da amêndoa tropical a partir de frutos coletados na cidade de Itapetinga – BA.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a atividade antioxidante *in vitro* do extrato etanólico da polpa em diferentes concentrações, usando o sistema β -caroteno / ácido linoléico.

- Avaliar a capacidade de seqüestro de radicais livres do extrato em diferentes concentrações, usando o radical estável DPPH.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada pelo monitoramento da co-oxidação do β -caroteno e do ácido linoléico.

Inicialmente, 2 mg de β -caroteno foram dissolvidos em 20 mL de clorofórmio. Para o preparo da emulsão, 3 mL dessa solução foram adicionados em balões de fundo redondo (250 mL) contendo 40 mg de ácido linoléico e 400 mg de Tween 40. Após a remoção do clorofórmio em evaporador rotativo a 50°C, adicionou-se 100mL de água destilada, previamente aerada, por uma hora, tendo-se o cuidado de adicionar a água lentamente, sendo que os 10 mL iniciais foram adicionados gota a gota, sob agitação vigorosa até a formação de uma emulsão.

Para a análise espectrofotométrica, adicionou-se em cada tubo de ensaio 40 μ L da solução antioxidante (extrato ou padrão BHA) a ser avaliada ou do solvente correspondente como controle e 3 mL da emulsão descrita anteriormente. As soluções antioxidantes utilizadas foram o extrato da polpa dissolvidos em etanol 70% em concentrações variando de 1 a 50 mg/mL e o padrão BHA nas mesmas concentrações em etanol. As absorvâncias foram monitoradas a 470 nm em espectrofotômetro (Shimadzu Mod UV-1240-mini) imediatamente após a adição da emulsão e em intervalos de 15 min durante 120 min, tendo-se o cuidado de manter os tubos em banho de água a 50°C. As leituras foram feitas contra um branco contendo a emulsão sem a adição do β -caroteno. Todas as análises foram realizadas em triplicata (Emmons e Peterson, 1999; Hammerschmidt e Pratt, 1978; Marco, 1968; Miller, 1971).

Os resultados foram expressos como porcentagem de inibição da oxidação (%I), que foi calculada com base nos dados da taxa de degradação da amostra contendo o antioxidante (D_a) e da taxa de degradação do controle (D_c), após os 120 min de oxidação, através das *equações 9 e 10*. Onde abs_0 é a absorvância no tempo zero e abs_{120} é a absorvância após 120 minutos de oxidação. (Emmons e Peterson, 1999):

$$D = \ln(abs_0 / abs_{120}) \quad (9)$$

$$\%I = \frac{D_c - D_a}{D_c} \times 100 \quad (10)$$

3.2 Seqüestro de radicais livres 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH)

Para a análise do seqüestro de radicais livres DPPH, primeiramente preparou-se uma solução do extrato bruto em etanol 70% com concentração de 1 mg/mL. A partir desta solução foram feitas diluições nas concentrações de 500, 250, 125, 50, 25, 10 e 5 µg/mL. Foram utilizadas como padrões soluções de BHA em etanol P.A. nas mesmas concentrações (Mensor et al., 2001).

Para este ensaio, 4 mL de cada solução do extrato ou do padrão foram misturados com 1 mL de solução metanólica 0,2 mM do radical DPPH. A mistura foi agitada vigorosamente e mantida por 30 min no escuro à temperatura ambiente. Após este período de reação, as leituras das absorvâncias foram realizadas em 517 nm (Shimada et al., 1992). A amostra controle foi preparada com 4 mL do solvente correspondente e 1 mL da solução de DPPH, sem adição do antioxidante. Para cada amostra de extrato (5 – 500 µg/mL) foi feito um branco com 4 mL de solução de extrato e 1 mL de metanol (Mensor et al., 2001). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

A porcentagem de seqüestro de radicais livres (% SRL) foi calculada através da *equação 11*, correlacionando-se a absorvância de cada amostra ou do padrão (abs_a) com a absorvância da solução controle ao final da reação (abs_c) (Duarte-Almeida et al., 2006).

$$\%SRL = \frac{abs_c - abs_a}{abs_c} \times 100 \quad (11)$$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Inibição da oxidação

Na Figura 3.4 estão apresentados os resultados da avaliação da atividade antioxidante, pelo sistema β -caroteno/ácido linoléico, em função da variação da concentração de antioxidantes (extrato ou BHA). Os resultados são expressos em porcentagem de inibição da oxidação relativa ao controle (%I). O extrato etanólico da polpa da *Terminalia catappa* apresentou uma ótima atividade antioxidante ($93,0 \pm 5,3$ %) a uma concentração de 10 mg/mL. Já o antioxidante padrão utilizado (BHA) apresentou uma atividade de $94,3 \pm 10,7$ % a uma concentração de 1 mg/mL.

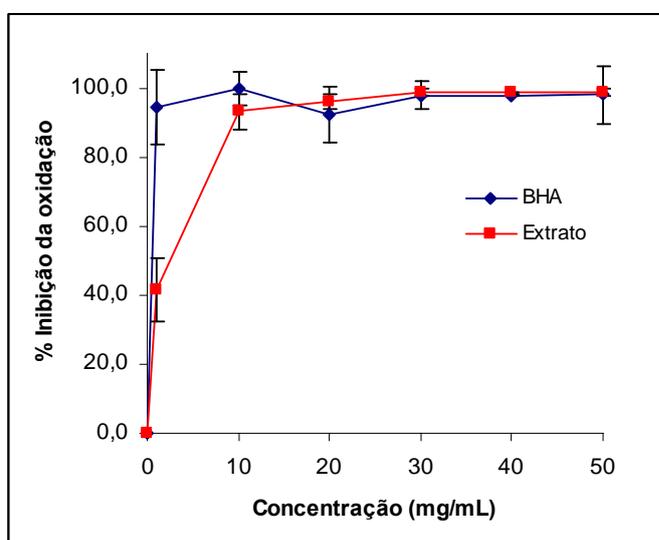


Figura 3.4 - Atividade antioxidante do extrato e do BHA em diferentes concentrações. Cada valor é expresso como média \pm desvio padrão ($n = 3$).

A Figura 3.5 ilustra o decaimento da absorbância a 470 nm com o tempo de reação, para as diferentes concentrações do extrato e para o controle.

No estudo feito por Duarte-Almeida et al. (2006) foram testadas soluções padrões dos antioxidantes sintéticos BHA e BHT, por serem amplamente utilizados na indústria alimentícia. Foram utilizados também alguns antioxidantes naturalmente presentes em frutas e vegetais, como a quercetina, o ácido gálico, o ácido ascórbico, entre outros. Nesse estudo, os antioxidantes sintéticos apresentaram %I bem acima dos antioxidantes naturais, enquanto que, das substâncias naturais, a quercetina apresentou a maior %I. Segundo esses autores isso ocorre devido a quercetina ser um flavonol com cinco hidroxilas fenólicas reativas, sendo que duas destas estão ligadas ao anel que possui maior atividade redutora, apresentando estabilidade por ressonância. Os autores também destacaram que a rutina possui uma estrutura semelhante à da

quercetina, mas com uma substituição glicosídica em uma das hidroxilas e apresenta uma menor atividade, demonstrando a sensibilidade do método frente a pequenas alterações na estrutura da molécula. Ainda nesse trabalho, o ácido ascórbico no sistema β -caroteno/ácido linoléico apresentou atividade pró-oxidante, representada pela porcentagem de inibição negativa.

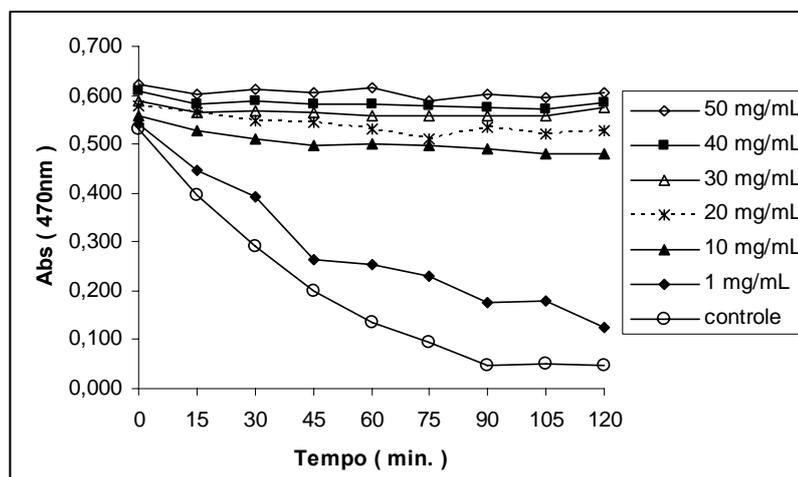


Figura 3.5 - Descoramento do β -caroteno na presença de diferentes concentrações de extrato e na ausência (controle).

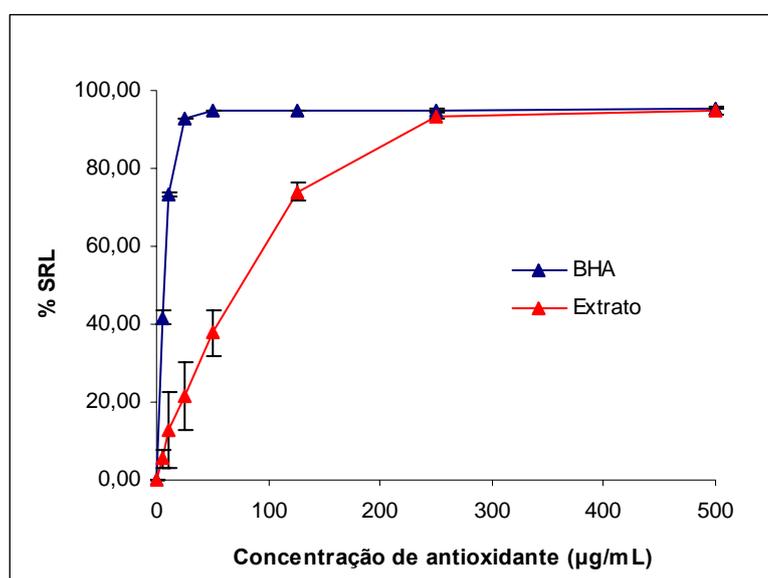
Os dados quantitativos para % I são muito variáveis devido a diferenças nos métodos de extração e análises disponíveis na literatura, não havendo equivalência entre os mesmos, como também foi observado por Emmons e Peterson (1999). Aliadas às diferenças analíticas, existem diferentes formas matemáticas de expressar a atividade antioxidante, o que dificulta a comparação dos dados obtidos aos dados de outros trabalhos (Duarte-Almeida et al., 2006; Emmons e Peterson, 1999; Hammerschmidt e Pratt, 1978; Jardini e Marcini Filho, 2007; Velioglu et al., 1998). Logo, as comparações quantitativas são feitas entre os dados de amostras submetidas às mesmas condições de análises que um padrão antioxidante.

O padrão utilizado neste trabalho foi o BHA, por ser um antioxidante sintético permitido pela legislação brasileira, largamente utilizado na indústria e que apresenta uma alta eficiência antioxidante, como confirmado por Duarte-Almeida et. al. (2006).

4.2 Seqüestro de radicais livres DPPH - % SRL

Conforme abordado anteriormente, este método se baseia na transferência de elétrons de um composto antioxidante para o radical livre DPPH•. Desta forma, o método avalia o poder redutor do antioxidante.

Na Figura 3.6 estão apresentados os resultados da avaliação da capacidade redutora de radicais livres DPPH em função da variação da concentração de antioxidantes (extrato ou BHA). O extrato etanólico da polpa da *Terminalia catappa* apresentou um ótimo poder redutor ($93,5 \pm 0,8$ %) a uma concentração de $250 \mu\text{g/mL}$. Já o antioxidante padrão utilizado (BHA) apresentou $92,6 \pm 0,0$ % SRL e $94,9 \pm 0,2$ % SRL, nas concentrações de 25 e $50 \mu\text{g/mL}$ respectivamente.



Cada valor é expresso como média \pm desvio padrão ($n = 3$).

Figura 3.6 – Porcentagem de seqüestro de radicais livres DPPH (% SRL) das soluções do extrato etanólico da polpa da *T. catappa* e do BHA, em diferentes concentrações.

Chyau et al. (2002) observaram valores ótimos de 92,5 a 95,7 % SRL dos extratos metanólicos das folhas verdes, amarelas e vermelhas da *T. catappa* em concentrações inferiores a $0,1 \text{ mg/mL}$. Já em Chyau et al. 2006, os extratos aquosos das folhas verdes, amarelas e vermelhas apresentaram atividades SRL DPPH de 76%, 92,4 % e 65,5%, respectivamente, em concentrações de 50 mg/mL . Eles observaram também que as atividades SRL da vitamina E e do BHA foram de 95,2 % e 95,5 %, respectivamente, a $0,1 \text{ mg/mL}$. O resultado obtido no presente trabalho ($94,9$ % SRL) para a solução padrão BHA entre $0,05$ e $0,125 \text{ mg/mL}$ de concentração está bem próximo daqueles resultados.

Em estudo realizado por Duarte-Almeida et al. (2006), a quercetina e o ácido clorogênico apresentaram maior porcentagem de seqüestro de radicais livres em comparação aos padrões sintéticos BHA e BHT, sendo que este último apresentou o menor valor. O ácido ascórbico apresentou uma atividade um pouco menor que o BHA.

Os dados quantitativos para %SRL DPPH são muito variáveis e difíceis de comparar devido a diferenças nos métodos de análises disponíveis na literatura, não havendo equivalência entre os mesmos (Duarte-Almeida et al., 2006; Ekanayake1 et al., 2004; Jayaprakasha et al., 2007; Melo et al., 2006; Oszmianski et al., 2007; Rahim et al., 2008; Roesler, 2007).

5. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que o extrato etanólico da polpa apresenta um bom potencial antioxidante, apresentando uma % I similar à do BHA, porém a uma concentração 10 vezes maior. Esta grande diferença é aceitável, uma vez que se trata de um extrato natural. O uso de aditivos sintéticos é mais restrito na legislação brasileira, quando comparado a substâncias encontradas naturalmente em alimentos ou a extratos naturais, sendo que em alguns casos estes são permitidos em quantidade suficiente para obter-se o efeito tecnológico necessário (“*quantum satis*”), sem a determinação de um limite máximo (ANVISA, 2008). A restrição ao uso de alguns antioxidantes, como o BHA e BHT está relacionada à sua carcinogenicidade.

Quanto à análise utilizando-se os radicais DPPH, pode-se concluir que o extrato etanólico da polpa apresentou uma excelente capacidade redutora, comparável à do BHA em uma concentração 5 vezes maior que o mesmo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA - Agência de Vigilância Sanitária - <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/legis/especifica/aditivos.htm>, acesso em junho 2008.

ARAÚJO, J.M.A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3 ed., Viçosa, MG: Editora UFV, 2004, 478p.

ARUOMA, O. I.; HALLIWELL, B.; WILLIAMSON, G. L. *In vitro* methods for characterizing potential prooxidant and antioxidant actions of nonnutritive substance in plant foods. Em: ARUOMA, O. I; CUPPETT, S. L. (Eds.). **Antioxidant methodology *In vivo* and *In vitro* concepts**. AOCS Press, 1997. cap. 10, p.173-204.

ARUOMA, O. I.; KAUR, H.; HALLIWELL, B. Oxygen free radicals and human diseases. *The J. of the Royal Soc. for the Promot. of Health*, v.111, n. 5, p.172-177, 1991.

CHYAU, C.-C.; KO, P.-T.; MAU, J.-L. Antioxidant properties of aqueous extracts from *Terminalia catappa* leaves. *LWT*, v. 39, p. 1099–1108, 2006.

CHYAU, C.-C.; KO, P.-T.; MAU, J.-L. Antioxidant properties of solvent extracts from *Terminalia catappa* leaves. *Food Chem.*, v. 78, p. 483–488, 2002.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J. dos; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH•. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

EKANAYAKE, P.; LEE, Y. D.; LEE, J. Antioxidant activity of flesh and skin of *Eptatretus burgeri* (Hag Fish) and *Enedrias nebulosus* (White Spotted Eel). *Food Sci. and Technol. Intern.l.*, v. 10, p.171-177, 2004.

EMMONS, C. L.; PETERSON, D. M. Antioxidant activity and phenolic contents of oat groats and hulls. *Cereal Chem.*, v. 76, n. 6, p. 902-906, 1999.

FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. 3 ed., New York, NY: Marcel Dekker, 1996, 1069p.

FOTI, M. C.; DAQUINO, C.; GERACI, C. Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH• radical in alcoholic solutions. *J. Org. Chem.*, v. 69, n. 7, p. 2309–2314, 2004.

GONZALEZ, F. J. Role of cytochromes P450 in chemical toxicity and oxidative stress: studies with CYP2E1 *Mutation Res./Fund. and Mol. Mech. of Mut.*, v. 569, p. 101-110, 2005.

HALLIWELL, B., e GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 3 ed. Nova York, Oxford: Oxford University Press, 1999 citado por Chyau et al., 2002.

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

- HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.*, v. 53, p. 1841-1856, 2005.
- JARDINI, F. A.; MANCINI FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum*, L.). *Rev. Bras. de Ciênc. Farm.. Brazilian J. of Pharm. Sci.*, v. 43, n. 1, 2007.
- JAYAPRAKASHA, G. K.; NEGI, P. S.; JENA, B. S.; RAO, L. J. M. Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts. *J. of Food Comp. and Anal.*, v. 20, p.330–336, 2007.
- MARCO, G. J. A rapid method for evaluation of antioxidants. *J. of the Am. Oil Chemists' Soc.*, v. 45, n. 9, p. 594-598, 1968.
- MARINOVA, E. M.; YANISHLIEVA, N.; KOSTOVA, I. N. Antioxidative action of ethanolic extract and some hydroxycoumarins of *Fraxinus ornus* bark. *Food Chem.*, v. 51, p. 125-132, 1994.
- MELO, E. de A.; MACIEL, M. I. S., LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A. C. da S.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 26, n.3, p. 639-644, 2006.
- MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G. ; REIS, A. S.; SANTOS, T. C. dos; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Res.*, v. 15, p. 127-130, 2001.
- MILLER, H. E. A simplified method for the evaluation of antioxidants. *J. of the Am. Oil Chemists' Soc.*, v. 48, n.2, p. 91, 1971.
- OSZMIANSKI, J.; WOJDYLO, A.; LAMER-ZARAWSKA, E.; SWIADER, K. Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. *Food Chem.*, v. 100, p.579–583, 2007.
- PRAKASH, A. Antioxidant activity. *Analytical Progress Press Medallion Lab.* v. 19, n. 2, 2001, disponível em www.medallionlabs.com, acesso em maio 2008.
- PRETÉ, P. S. C. **Solubilização de membranas eritrocitárias: análise quantitativa do efeito hemolítico induzido por surfatantes.** Campinas, SP: UNICAMP, 2006, 111p.
- RAHIM, A. A.; ROCCA, E.; STEINMETZ, J.; KASSIM, M. J.; IBRAHIM, M. S.; OSMAN, H. Antioxidant activities of mangrove *Rhizophora apiculata* bark extracts. *Food Chem.*, v. 107, p. 200–207, 2008.
- RIBEIRO, S. M. R. **Caracterização e avaliação do potencial antioxidante de mangas (*Mangifera indica* L.) cultivadas no estado de Minas Gerais.** 2006. 149 p. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola) – UFV, Viçosa – MG.
- ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 27, n. 1, p.53-60, 2007.
- SÁNCHEZ-MORENO, C., LARRAURI, J. A., SAURA-CALIXTO, F. A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *J. of the Sci. of Food and Agric.*, v. 76, p. 270-276, 1998.

SATO, M; RAMARATHNAM, N; SUZUKI, Y; OHKUBO, T. Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *J. of Agric. and Food Chem.*, v.44, p.37-41, 1996.

SHIMADA, K.; FUJIKAWA, K.; YAHARA, K.; NAKAMURA, T. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J. of Agric. and Food Chem.*, v. 40, p. 945-948, 1992.

SIMPSON, J. A. **Antioxidant properties of peanut plant leaves and roots and contribution of specific phenolic compounds to antioxidant capacity.** 2006, 80 p. Thesis (Degree of Master of Science in Food Science) - North Carolina State University, Raleigh, North Carolina, USA.

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

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

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

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Grande parte da população brasileira apresenta vários problemas de má nutrição, destacando-se carências de vitaminas e minerais, pois as principais refeições são deficientes destes nutrientes. Os resultados obtidos, no presente trabalho, indicaram que a *T. catappa* destacou-se por ser uma excelente fonte de lipídios, proteínas, minerais e fibras, podendo ser utilizada em dietas que visem à suplementação alimentar. Portanto, incentivar o seu consumo pode ajudar a aumentar o valor nutritivo da dieta das populações carentes. Em razão da falta de informações, as famílias de baixo poder aquisitivo não desfrutam dessa fonte natural de nutrientes.

Os frutos da *T. catappa* apresentaram em sua composição várias substâncias que têm potencialidade para atuarem como agentes antioxidantes no organismo humano, como os compostos fenólicos e os minerais cobre, zinco, selênio e manganês que são constituintes de algumas enzimas relacionadas aos mecanismos antioxidantes.

Em função da complexidade da composição dos alimentos, em geral, diferentes substâncias podem atuar sinergisticamente, por meio de diferentes mecanismos, como espécies antioxidantes. A avaliação da capacidade antioxidante de uma espécie, portanto, exige a utilização de técnicas analíticas diversas. Neste sentido, no presente trabalho, foi possível avaliar que o extrato etanólico da polpa da espécie *T. catappa* apresenta um elevado potencial nutritivo e antioxidante.

PERSPECTIVAS

1. Avaliação da capacidade antioxidante de extratos das sementes.
2. Condução de experimentos *in vivo* por meio de ensaios para o controle do desenvolvimento de processos degenerativos e demais propriedades funcionais atribuídas aos compostos com propriedades antioxidantes.
3. Utilização de extratos dos frutos como aditivos antioxidantes naturais em substituição aos antioxidantes sintéticos.
4. Determinação do potencial de inibição do crescimento de microrganismos que promovam a deterioração dos alimentos e afetam a saúde.
5. Avaliação da qualidade do óleo extraído da castanha.
6. Determinação do perfil de ácidos graxos presente no óleo.
7. Elaboração de produtos com maior valor agregado a partir da polpa e das castanhas, como castanhas torradas e salgadas, barra de cereais, suco e alimentos funcionais.
8. Estudo da pós-colheita desses frutos, das variações genética e de cultivo, possibilitando plantações de tipos mais adequados para cada fim.