

MIRIAM REJANE BONILLA LEMOS

**CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DOS COMPOSTOS BIOATIVOS EM
AMÊNDOAS DE BARU (*Dipteryx alata* Vog.), SUBMETIDAS A PROCESSO
DE TORREFAÇÃO.**

**Brasília
2012**

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS DA SAÚDE

MIRIAM REJANE BONILLA LEMOS

CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DOS COMPOSTOS BIOATIVOS EM AMÊNDOAS DE BARU (*Dipteryx alata* Vog.), SUBMETIDAS A PROCESSO DE TORREFAÇÃO.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Ciências da Saúde-FS, da Universidade de Brasília-UnB, como requisito parcial para a obtenção do título de doutor em Ciências da Saúde.

Orientador(a): Prof^ª Dra. Egle Machado de Almeida Siqueira
(UnB)

Co-Orientador: Prof. Dr. Rui Carlos. Zambiasi
(UFPel)

Brasília
2012

Lemos, Miriam Rejane Bonilla

Caracterização e estabilidade dos compostos bioativos em amêndoas de baru (*Dipteryx alata* Vog.), submetidas a processo de torrefação/ Miriam Rejane Bonilla Lemos/Tese de doutorado/Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília-UnB.

Orientadores:

Profª Drª Egle Machado de Almeida Siqueira (UnB)

Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi (UFPel)

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde/Área de concentração:
Saúde Coletiva

Brasília, 2012

1. Compostos bioativos
2. Potencial antioxidante
3. Frutos do Cerrado
4. Estabilidade térmica

MIRIAM REJANE BONILLA LEMOS

CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DOS COMPOSTOS BIOATIVOS EM AMÊNDOAS DE BARU (*Dipteryx alata* Vog.), SUBMETIDAS A PROCESSO DE TORREFAÇÃO.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Ciências da Saúde-FS, da Universidade de Brasília-UnB, como requisito parcial para a obtenção do título de doutor em Ciências da Saúde.

Aprovada em 12 de julho de 2012.

A banca examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

Professora Doutora Egle Machado de Almeida Siqueira

Universidade de Brasília - (UnB)

(Presidente)

Professor Doutor Rui Carlos Zambiasi

Universidade Federal de Pelotas - (UFPel)

(Examinador)

Professora Doutora Andréa Fernandes Arruda

Universidade Federal de Goiás - (UFG)

(Examinadora)

Professor Doutor Jean Kleber de Abreu Mattos

Universidade de Brasília - (UnB)

(Examinador)

Professor Doutor Ernandes Rodrigues de Alencar

Universidade de Brasília - (UnB)

(Examinador)

Professor Doutor Luiz Antônio Borgo

Universidade de Brasília - (UnB)

(Suplente)

Aos meus pais Irineo e Maria de Lourdes
Ao meu irmão Silvio
(*in memoriam*),
Minha eterna gratidão.

Aos meus irmãos, irmã e avó.
Base familiar, laços indissolúveis que nos acompanharão sempre.

Aos meus filhos Eric César e Gino Luigi,
Razão de tudo!

Dedico este trabalho...

Trem da Vida

Isso mesmo, a vida não passa de uma viagem de trem, cheia de embarques e desembarques alguns acidentes, surpresas agradáveis em alguns embarques e grandes tristezas em outros...

Quando nascemos, entramos nesse trem e nos deparamos com algumas pessoas que, julgamos, estarão sempre nessa viagem conosco: nossos pais.

Infelizmente, isso não é verdade. Em alguma estação eles descerão e nos deixarão órfãos de seu carinho, amizade e companhia insubstituível...

Mas isso não impede que, durante a viagem, pessoas interessantes e que virão a ser especiais para nós, embarquem.

Chegam nossos irmãos, amigos, amores e filhos maravilhosos. Muitas pessoas tomam esse trem, apenas a passeio, outros encontrarão nessa viagem somente tristezas, ainda outros circularão pelo trem, prontos a ajudar a quem precisa. Muitos descem e deixam saudades eternas, outros tantos passam por ele de uma forma que, quando desocupam seu assento, ninguém nem sequer percebe. Curioso é constatar que alguns passageiros, que nos são tão caros, acomodam-se em vagões diferentes dos nossos; portanto, somos obrigados a fazer esse trajeto separados deles, o que não impede, é claro, que durante a viagem, atravessemos com grande dificuldade nosso vagão e cheguemos até eles, só que, infelizmente, jamais poderemos sentar ao seu lado, pois já terá alguém ocupando aquele lugar. Não importa, é assim a viagem, cheia de atropelos, sonhos, fantasias, esperas, despedidas, porém, jamais retornos.

Façamos essa viagem, então, da melhor maneira possível, tentando nos relacionar bem com todos os passageiros, procurando, em cada um deles, o que tiverem de melhor, lembrando, sempre, que, em algum momento do trajeto, eles poderão fraquejar e, provavelmente, precisaremos entender isso, porque nós também fraquejaremos muitas vezes e, com certeza, haverá alguém que nos entenderá.

O grande mistério, afinal, é que jamais saberemos em qual parada desceremos muito menos nossos companheiros, nem mesmo aquele que está sentado ao nosso lado. Eu fico pensando, se, quando descer desse trem, sentirei saudades... Acredito que sim! Separar-me de alguns amigos que fiz nele, será no mínimo, doloroso...

Deixar meus filhos continuarem a viagem sozinhos, com certeza será muito triste, mas me agarro na esperança que, em algum momento, estarei na estação principal e terei a grande emoção de vê-los chegar com uma bagagem que não tinham quando embarcaram... E o que vai me deixar feliz, será pensar que eu colaborei para que esta bagagem tenha crescido e se tornado valiosa.

Amigos, sorridentes, façamos com que a nossa estada nesse trem seja tranquila. Que tenha valido à pena. E que, quando chegar a hora de desembarcarmos, o nosso lugar vazio traga saudades e boas recordações para aqueles que prosseguirem.

(Autor desconhecido)

“Gracias a la vida.....”

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me conceder tantas graças e oportunidades, por me dar condições em todos os sentidos e de prosseguir dia após dia, por me ouvir nos momentos em que a esperança parecia se esgotar, por me fazer chegar até aqui com o sentimento de missão cumprida e por acolher a todos, em sua imensa bondade.

À família, pelo respeito e fortalecimento deste sonho, amenizando minhas longas ausências do lar, principalmente na pessoa de minha irmã Mara, pelo constante incentivo e apoio incondicional ao longo desta jornada, sendo mãe de meus filhos, zelando pela saúde e bem estar enquanto estive em Brasília.

Aos meus amados filhos Eric e Gino, pelo imenso carinho, lição de vida e de Fé, compreensão e orações. Ao Gino, pela força; ao Eric, pela perseverança; a ambos, pela coragem. São vocês, a razão maior de tudo o que faço.

À Professora, Doutora Egle Machado de Almeida Siqueira, pela excelente orientação, dedicação e competência, sempre presentes. Obrigada pela disponibilidade e confiança no meu trabalho. Agradeço também pela amizade, estímulo, carinho, compreensão e que, sabedora dos problemas de saúde em membro familiar, não mediu esforços e propiciou apoio constante para a elaboração do presente trabalho, acreditando sempre em minha capacidade de superação.

Ao Professor Doutor Rui Carlos Zambiasi, pela valiosa orientação, tanto na condução dos experimentos como também junto à versão escrita desta tese e artigos elaborados. Agradeço pelo incentivo, paciência, amizade e disponibilidade contínua em ajudar, esclarecer e aprofundar meus conhecimentos na área escolhida, além da colaboração e experiência repassada para a completa realização do presente trabalho.

À Universidade de Brasília pela excelência de seu competente corpo docente, pelos conhecimentos adquiridos oportunizando o crescimento profissional e pessoal. Agradeço também a concessão de moradia na Colina - Campus Darcy Ribeiro, durante a realização do curso de doutoramento em Ciências da Saúde/FS/UnB - Distrito Federal.

À Universidade Federal de Pelotas, pela oportunidade de poder realizar as determinações e estudos nos laboratórios de cromatografia do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial (DCTA) e análises de alimentos, no Departamento de Ciência de Alimentos (DCA).

À família Alberich Pastore principalmente a amiga Neusa, pela ajuda espiritual, emocional e por ter acreditado nesta vitória, lembrando sempre que o caminho já estava traçado, bastava ousar, confiar e seguir em frente.

À Adriana Fustinoni, irmã de coração, colega de trabalho e de aflições. Agradeço as palavras de ânimo, conforto, otimismo, pela força de suas orações e, sobretudo pela amizade e ajuda valiosa numa época em que muitos dos assuntos tratados neste estudo ainda necessitavam de muito desgaste na sua finalização. Sua boa vontade tornou minha vida, naquela época, menos árdua.

Aos professores, funcionários e colegas do Departamento de Biologia Celular, Instituto de Ciências Biológicas-UnB, em especial Adriana, Lívia e Azadeh, por todos os bons momentos que passamos e que, perto ou longe, estarão sempre torcendo pela minha vitória.

À professora Doutora Sandra F. Arruda, do Departamento de Nutrição, Instituto de Ciências da Saúde UnB, pelas preciosas sugestões e colaboração recebidas, neste trabalho e nos artigos elaborados.

Ao Professor Doutor Luiz Antônio Borgo, do Laboratório de Análises de Alimentos da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – UnB, pelo acolhimento em seu espaço e importante colaboração para a realização das análises em frutos do Cerrado e Msc Marcio Mendonça pelo apoio recebido.

A todos os professores, funcionários e amigos dos cursos de Medicina, Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília-UnB, pelo agradável convívio e troca de experiência profissional.

À amiga Maria Zenaide Santos, pela ajuda espiritual, orações, palavras de Fé e esperança.

Ao Professor Doutor Ernandes Rodrigues de Alencar, pela atenção, amizade e valiosa colaboração nos estudos em frutos pós-colheita.

À Ana Catarina Lima e Wellington S. de Souza, pela lealdade, amizade, apoio moral e alegria contagiante. Agradeço pelo imenso carinho e desvelo de seus cuidados, diminuindo o estresse nos momentos mais difíceis desta jornada.

Às grandes amigas e manas mineiras radicadas em Brasília, Zirlei Mattos, Zirlene e seus familiares, pela hospitalidade e apoio incondicional durante a fase de adaptação no Distrito Federal-DF, as quais se tornaram minha segunda família, ajudando a superar os momentos difíceis de maior ansiedade e tristeza por estar longe de casa e dos filhos.

Ao Professor Doutor Valdecir Carlos Ferri, do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Pelotas – UFPel, pela confiança no meu potencial. Agradeço pelas palavras de otimismo, ensinamentos e conselhos, que permitiram um crescimento ímpar na conquista de mais esta etapa.

À Professora Doutora Leonor Almeida de Souza Soares, minha eterna gratidão pelo incentivo, impulsionando-me a este doutoramento, à maturidade profissional que ele proporciona, sem jamais perder o carisma e a humildade.

À amiga e colega do laboratório de cromatografia DCTA – UFPel, Andressa Jacques, pelo apoio técnico em cromatografia e sugestões de estruturação desta pesquisa.

À Doutora Roberta Manica, pela amizade e expressiva colaboração na parte estatística deste trabalho.

Ao arquiteto Gustavo M. que preparou a programação visual de alguns trabalhos apresentados em Congressos onde o Baru esteve presente. Um ser humano incrível e que dá asas aos meus sonhos. Agradeço sua paciência, carinho e por me fazer acreditar a cada segundo de que podemos ver perfeitamente com o coração; onde “o essencial é invisível aos olhos”. Sei que sou eternamente responsável por aquilo que cativo.

Aos colegas e estagiários do laboratório de Cromatografia do DCTA-UFPel, em especial Andressa, Vanessa, Fabiana, Ana Paula, Francine, Sharlise, Rose, Fernanda, pela agradável convivência e acolhimento, passando de colegas de laboratório a grandes amigas, sendo fundamentais para realização deste trabalho.

Agradecimento especial à Josiane K. Rutz e Glenise Voss, pelo apoio laboratorial, na condução deste experimento.

Ao convívio salutar com todos os colegas e amigos moradores na Colina da Universidade de Brasília - UnB, em especial ao Marcelo, Raimunda, Marlene, Rubens e amigos Fausta, Luciane, Silvânia Ferreira, Paula, Silvania Rocha, Fábio Mineiro, Juan argentino, Fabrício goiano, Cecília peruana e Danielle Teodoro, pela companhia em todos os momentos, inclusive naqueles mais difíceis de serem vencidos longe de casa e da família.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES, pelo apoio e suporte financeiro, através da bolsa de doutorado.

A todos aqueles que direta ou indiretamente se envolveram na realização deste trabalho.

A você, por prestigiar este trabalho com o seu interesse e leitura.

RESUMO

O Consumo de vegetais tem sido associado à prevenção de doenças crônicas relacionadas ao estresse oxidativo. A presença de compostos bioativos, muitos dos quais apresentam ação antioxidante, parecem estar associados neste efeito protetor. O Brasil possui uma das maiores biodiversidades do mundo, com biomas característicos e potencial medicinal ainda desconhecido, constituindo-se em patrimônios genético, científico, tecnológico, econômico e cultural a serem investigados, para sua devida exploração e preservação. A amêndoa do baru (*Dipteryx alata* Vog.), fruto nativo do Cerrado brasileiro, apresenta alto teor de taninos e fitatos, compostos com reconhecida ação antioxidantes. Estudos recentes demonstram que o consumo diário de amêndoa do baru [*Dipteryx alata* Vog.] reduz o estresse oxidativo induzido em ratos. O objetivo do presente estudo foi identificar os compostos bioativos e a atividade antioxidante na amêndoa do baru, além de investigar o efeito do processo de torrefação nos níveis destes compostos e na ação antioxidante da amêndoa. As amêndoas obtidas no comércio local de Brasília-DF, provenientes de três regiões do Cerrado (MT, MG e GO), foram previamente selecionadas e distribuídas aleatoriamente, em dois grupos distintos: amêndoa crua com película e amêndoa crua sem película. Parte das amêndoas destes dois grupos foi acondicionada em embalagens de polietileno transparente e armazenadas a -80°C. O restante das amêndoas, com e sem películas, foi submetida à torrefação. A torrefação foi realizada em estufa sem circulação de ar a 150°C/45 minutos. As amêndoas cruas e torradas foram trituradas e analisadas em triplicata. O total de compostos fenólicos foi quantificado espectrofotometricamente utilizando o reagente Folin Ciocalteu. Os compostos fenólicos individuais e tocoferóis foram avaliados por cromatografia líquida (HPLC). Os ácidos graxos foram determinados por cromatografia gasosa. A atividade antioxidante foi determinada utilizando-se o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). Aproximadamente 50% do conteúdo fenólico e 90% da atividade antioxidante (DPPH) estavam presentes na película das amêndoas de baru. Oito compostos fenólicos foram identificados em concentrações que variaram entre 67,7 e 224,0 mg/100g. O ácido gálico foi o composto predominante, seguido da catequina, ácido ferúlico, epicatequina, ácido p-cumárico, ácido elágico, ácido cafeico e ácido hidroxibenzoico na composição das amostras de amêndoas. O processo de torrefação reduziu o teor de compostos fenólicos totais ($p > 0,05$), mas não o conteúdo do ácido gálico. Observou-se uma redução em cerca de 50% da atividade antiradicalar nas amêndoas com película, sugerindo que o ácido gálico apesar de predominante, pode não ser o bioativo responsável pela atividade antioxidante das amêndoas de baru. O teor de antocianinas foi de 0,6 mg/100 g em amêndoa crua com película e de 1,2 mg/100g nas demais amostras. O teor de tocoferóis variou de 2,0 a 2,7 mg/100 g em amêndoa torrada com película e na amêndoa crua sem película. Os ácidos oleico (C18:1), linoleico (C18:2), linolênico (C18:3), eláidico (C20:1) e tetracosenóico (C24:1), foram os principais ácidos graxos insaturados, representando cerca de 81% dos ácidos graxos das amêndoas e dentre estes, os ácidos oleico e linoleico foram os majoritários. O tratamento térmico utilizado para a torrefação das amêndoas de baru com e sem película, não ocasionou alteração significativa na composição dos ácidos graxos das amêndoas de baru. Conclui-se que embora o processo de torrefação reduza a atividade antioxidante, a amêndoa do baru torrada mantém propriedades nutricionais e antioxidante.

Palavras-chave: Potencial antioxidante; Compostos bioativos; Frutos do Cerrado; Tocoferóis; Ácidos graxos.

ABSTRACT

The vegetable consumption has been associated with prevention of chronic diseases related to oxidative stress. The bioactive compound, many with antioxidant activity, appears to be responsible for the protective effect against physiological disturbances. Brazil has one of the greatest biodiversity in the world, with characteristic biomes and medicinal potential still unknown, constituting a genetic heritage, scientific, technological, economic and cultural development to be investigated for its proper operation and maintenance. The baru nuts (*Dipteryx alata* Vog.), native fruit of the Brazilian Cerrado, has a high content of tannins and phytates compounds with known antioxidant activity. Recent studies show that a daily consumption of baru nuts [*Dipteryx alata* Vog.] reduces the oxidative stress induced in rats. The objective of the present study was to identify the bioactive compounds and antioxidant activity in baru nuts and also to investigate the effect of the roasting process in the levels of the bioactive compounds and antioxidant activity of the baru nuts. The baru nuts obtained in the local market of Brasília-DF, from three regions of the Cerrado (MT, MG and GO) were previously selected and distributed it randomly into two groups: raw baru nuts with peels and raw baru nuts without peel. Part of the baru nuts of these two groups were packed in plastic bags and stored at -80 °C. Another part was roasted. The roasting process was carried out in an oven without air circulation at 150°C/45 minutes. The raw almonds and toast were crushed and analyzed in triplicate. The total phenolic compounds were analyzed spectrophotometrically using the Folin Ciocalteu reagent. The individual phenolic compounds and tocopherols were analyzed by liquid chromatography (HPLC) and the fatty acids composition was carried out by gas chromatography. The antioxidant activity was determined using the radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Approximately 50% of the total phenolic content and antioxidant activity of 90% (DPPH) were found in the external peel of the baru nut. Eight phenolic compounds were identified in concentrations ranging between 67.7 and 224.0 mg/100g. The galic acid was predominant, followed by catechin, ferulic acid, epicatechin, p-coumaric acid, ellagic acid, caffeic acid and hydroxybenzoic acid in the baru nuts. The roasting process reduced the concentration of phenolic compounds ($p > 0.05$) but not the content of gallic acid. There was a reduction of about 50% of the antiradicalar activity in the nut with peels, suggesting that the gallic acid, although predominant, can not be responsible for antioxidant activity baru nuts. The anthocyanin content was 0.6 mg/100 g in raw nuts with peels and 1.2 mg/100 g in other samples. The content of tocopherols ranged from 2.0 to 2.7 mg/100 g in the roasted nuts with peels and in the peeled raw nuts. The oleic acid (C18:1), linoleic (C18:2), linolenic (C18:3), elaidic (C20:1) and tetracosanoic (C24:1) were the main unsaturated fatty acids, representing about 81% of fatty acids of the nuts and of these, oleic and linoleic acids were the major ones. The heat treatment used for roasting baru nuts with and without peels did not cause significant changes in fatty acid composition of almond Baru. We conclude that although the roasting process reduces the antioxidant activity, the roasted baru nut maintains nutritional and antioxidant properties.

Keywords: Antioxidant activity; bioactive compounds; Fruits of the Cerrado; tocopherols, fatty acids.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 –	Diagrama da Interação entre agentes epidemiológicos.....	2 8
FIGURA 2 –	Contraste do modelo comportamental entre o homem do passado (ativo) e o atual (sedentário).....	3 4
FIGURA 3 –	Desenvolvimento da placa de ateroma.....	3 9
FIGURA 4 –	Diferenças estruturais entre as células normais(A); células tumorais benignas(A) e as células malignas (câncer) (B).....	4 1
FIGURA 5 –	Diagrama sobre os fatores endógenos e exógenos de formação das espécies reativas.....	4 8
FIGURA 6 –	Fluxograma da Classificação dos Fitoquímicos.....	5 4
FIGURA 7 –	Estrutura química dos ácidos hidroxibenzóicos.....	5 6
FIGURA 8 –	Estrutura química dos ácidos cinâmicos (a) ácido caféico; (b) ácido p-cumárico; (c) ácido ferúlico.....	5 6
FIGURA 9 –	Estrutura química genérica dos flavonóides com núcleo flavano.....	5 7
FIGURA 10 –	Estrutura genérica das antocianinas.....	5 9
FIGURA 11 –	Estrutura química dos taninos.....	6 0
FIGURA 12 –	Estruturas de taninos hidrolisáveis.....	6 1
FIGURA 13 –	Fórmulas estruturais (a) um flavanóide genérico, (b)- flavan-3-ol e (c)-procianidina (tanino condensado).....	6 3
FIGURA 14 –	Monômeros de Taninos Condensados (+) - catequina; (b) (-) -epicatequina).....	6 3
FIGURA 15 –	Mecanismo de ação antioxidativa dos tocoferóis.....	6 5
FIGURA 16 –	Estrutura química dos tocoferóis (A) e tocotrienóis (B).....	6 6
FIGURA 17 –	Mapa dos biomas brasileiros.....	6 8
FIGURA 18 –	Fitofisionomia do bioma Cerrado.....	7 0
FIGURA 19 –	Mapa evidenciando a destruição do Cerrado.....	7 1
FIGURA 20 –	Baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.).....	7 3
FIGURA 21 –	A árvore do baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.) (barueiro).....	7 5
FIGURA 22 –	Floração do baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.).....	7 6
FIGURA 23 –	O fruto do baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.).....	7 6

FIGURA 24 –	Fruto e Amêndoa do baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.).....	7 7
FIGURA 25 -	Procedimento Experimental com Amêndoas do baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.).....	8 3
FIGURA 26 –	Cromatograma típico de compostos fenólicos em amêndoas de baru (torrado e sem película), obtido em sistema de HPLC (Shimadzu) com uma coluna de fase reversa e detector de UV (280 nm). Fase móvel: gradiente de ácido acético em água (1:99 v/v) e metanol com fluxo 0,9 mL / min. (1)- ácido gálico; (2)- catequina; (3)- ácido p-hidroxibenzoico; (4) - ácido cafeico; (5)-epicatequina; (6)- ácido p-cumárico; (7)-ácido ferúlico ; (8) ácido elágico.....	1 0 3
FIGURA 27 –	Cromatograma típico de tocoferóis no óleo de amêndoas de baru (<i>Dipteryx alata</i> vog). HPLC com coluna em fase reversa e detector de fluorescência, 290 nm de excitação e 330 nm de emissão; (1)- ($\beta+\gamma$)-tocoferol; (2)- α -tocoferol. Gradiente com acetonitrila: metanol: isopropanol, 50:40:10 v/v/v, com fluxo de 1,0mL/min.....	1 0 7

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 –	Composição físico-química da amêndoa de baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.) antes e após o tratamento térmico.....	9 2
TABELA 2 –	Conteúdo de fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante (AA) em amêndoas do baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.), com e sem película, cruas e torradas.....	9 8
TABELA 3 –	Conteúdo de compostos fenólicos individualizados em amêndoas do baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.), com e sem película, cruas e torradas.....	1 0 4
TABELA 4 –	Conteúdo de tocoferóis da amêndoa do baru com película sem película, antes e após tratamento térmico.....	1 0 8
TABELA 5 –	Perfil de ácidos graxos (%) de óleo extraídos de amêndoas de baru, com e sem película, submetidas ou não ao tratamento térmico.....	1 1 1

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 –	Distribuição da fitofisionomia do Cerrado.....	7 0
-------------	------------------------------------------------	-----

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 –	Programa do gradiente de eluição utilizado na separação de compostos fenólicos em amêndoas de baru, em sistema HPLC.....	87
QUADRO 2 –	Programa do gradiente de eluição dos solventes na separação de Tocoferóis em amêndoas de baru.....	89

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AA	Atividade Antioxidante
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AVC	Acidente vascular cerebral
CAT	Catalase
CLAE	Cromatografia Liquida de Alta Eficiência
DCV	Doenças Cardiovasculares
DCD	Doenças crônico-degenerativas
DCNT	Doenças Crônicas não Transmissíveis
DM	Diabetes <i>Mellitus</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucleico (ADN)
DC	Doenças Coronarianas
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ERO's	Espécies Reativas de Oxigênio
FAO	Food and Agriculture Organization
FT	Fenolicos Totais
GAE	Equivalente de Acido Galico
GPx	Glutathione Peroxidase
GR	Glutathione reductase
HDL	High Density Lipoprotein
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IAM	Infarto Agudo do Miocardio
139	Instituto Brasileiro de Geografia e Pesquisa
IMC	Índice de Massa Corporal

IN NATURA	Estado natural de um produto
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDL _{ox}	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
LOO [•]	Radical peroxil
LPO	Lipoperoxidação
MDA	Malondialdeído
OH [•]	Radical Hidroxil
OMS	Organização Mundial de Saúde
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity
RL	Radical Livre
UFPEL	Universidade Federal de Pelotas
UnB	Universidade de Brasília
VCT	Valor Calórico Total
WHO	World Health Organization

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
ω -3	Ômega três (ácido linolênico)
ω -6	Ômega seis (ácido linoleico)
ω -9	Ômega nove (ácido oleico)
%	Porcentagem
Cu	Cobre
dL	Decilitro
g	Gramma
KCL	Kilocaloria
Kg	Kilograma
m	Metro
μ g	Micrograma
μ L	Microlitro
Mn	Manganês
mg	Miligrama
mL	Mililitro
nm	Nanômetro
Se	Selênio
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	24
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	27
2.1 Epidemiologia das doenças crônico-degenerativas.....	27
2.1.1 Transição epidemiológica.....	29
2.1.1.1 Período Paleontológico.....	29
2.1.1.2 Período Neolítico.....	30
2.1.1.3 A Revolução industrial.....	32
2.1.1.4 A contemporaneidade epidemiológica.....	32
2.2 Estresse oxidativo como agente causador de doenças crônicas.....	36
2.2.1 Obesidade.....	37
2.2.2 Aterosclerose, hipertensão e processos cardiovasculares.....	38
2.2.3 Diabetes <i>Mellitus</i>	40
2.2.4 Câncer.....	41
2.2.5 Afecções do Sistema Respiratório.....	43
2.2.6 Envelhecimento precoce	43
2.2.7 Exercícios físicos intensos.....	45
2.3 Radicais livres.....	46
2.3.1 Espécies Reativas de Oxigênio - (ERO's)	46
2.3.1.1 Radical superóxido (O_2^-).....	48
2.3.1.2 Radical hidroxil (OH^\cdot).....	48
2.3.1.3 Peróxido de hidrogênio (H_2O_2)	49
2.3.2 Ações danosas das ERO's sobre os sistemas biológicos.....	49
2.4 Estresse Oxidativo	51
2.5 Defesas antioxidantes.....	52
2.5.1 Sistemas de defesa enzimáticos.....	53
2.5.2 Sistemas de defesa não enzimáticos.....	53
2.5.2.1 Fitoquímicos.....	53

2.5.2.1.1 Compostos fenólicos.....	55
2.5.2.1.2.Tocoferóis.....	64
2.6 Biomás.....	67
2.6.1 O Cerrado	68
2.7 O baru.....	73
2.7.1 Considerações gerais sobre o baru (<i>Dypteryx alata</i> Vog.).....	74
2.7.2 O fruto do baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.)	76
2.7.3 A amêndoa do baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.)	77
2.7.4 Utilização do baru e seus subprodutos.....	78
2.7.5 Fatores antinutricionais.....	79
2.8 O Processo de Torrefação.....	80
3 OBJETIVOS	82
3.1 Objetivo geral.....	82
3.2 Objetivos específicos.....	82
4 MATERIAIS E MÉTODOS	83
4.1 Materiais.....	83
4.1.1 Amostragem e preparo das amostras.....	83
4.1.2 Reagentes.....	84
4.2 Métodos.....	85
4.2.1 Determinações analíticas.....	85
4.2.2 Determinação da atividade antioxidante (DPPH).....	85
4.2.3 Determinação de compostos Bioativos.....	86
4.2.3.1 Determinação de compostos fenólicos totais.....	86
4.2.3.2 Identificação e quantificação de compostos fenólicos.....	86
4.2.3.3 Determinação de antocianinas totais.....	88
4.2.3.4 Determinação de tocoferóis.....	88
4.2.4 Perfil de ácidos Graxos.....	89
4.3 Análise estatística.....	90

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	91
5.1 Análises físico-químicas.....	91
5.2 Compostos bioativos e atividade antioxidante.....	97
5.2.1 Conteúdo de fenólicos e atividade DPPH.....	97
5.2.2 Conteúdo de tocoferóis.....	107
5.3 Perfil de ácidos graxos.....	110
6 CONCLUSÕES	115
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119
APÊNDICES	140
APÊNDICE A - Amêndoa do baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.).....	141
APÊNDICE B-Procedimento experimental com amêndoas do baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.).....	142
APÊNDICE C - Artigo científico: The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of Baru nuts [<i>Dipteryx alata</i> Vog.] , de autoria de Miriam Rejane Bonilla Lemos et al, com o seguinte DOI: 10.1016/j.foodres 2012.05.027.....	143
ANEXOS	144

1 INTRODUÇÃO

No contexto da atualidade o estresse oxidativo pode estar envolvido na etiologia de diversas doenças crônicas, episódios genéticos, metabólicos e neurodegenerativos, como os processos cardiovasculares, diabetes, câncer, Alzheimer, entre outras. Atua também na aceleração do envelhecimento e na apoptose celular (1).

No entanto sabe-se que o consumo de frutas e hortaliças tem apresentado uma correlação positiva reduzindo as possibilidades de desenvolvimento de patologias (2). O potencial benéfico dos vegetais tem sido atribuído à presença de compostos bioativos com ação antioxidante, os quais atuam como sequestrantes de RL (radicais livres) ou quelantes dos metais catalisadores das reações de produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's) (3, 4, 5).

Segundo Tijburg et al (6), as propriedades destes compostos são importantes na prevenção e proteção de órgãos e tecidos contra as ações do estresse oxidativo, conferindo-lhes um interesse cada vez maior por parte de pesquisadores em elucidar a ação antioxidante, o que justifica o presente estudo.

O Cerrado é um dos maiores biomas da América do Sul, evidenciando-se em quase todos os estados brasileiros, onde abriga uma biodiversidade ainda pouco conhecida (7). Este patrimônio genético pode desaparecer devido à implantação de áreas agrícolas, a devastação e o desenvolvimento insustentável. Os frutos nativos do cerrado possuem atrativos sensoriais como cor, sabor, aroma e alto valor nutricional, porém pouco investigados quanto ao seu potencial nutricional (8, 9) e antioxidante.

O baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.), árvore da família *leguminosae*, nativa da savana brasileira, atinge cerca de 30 m de altura e 70 cm de diâmetro, florescendo de novembro a maio e produzindo frutos de julho a outubro. Os

frutos do baru são do tipo drupa, ovoides, levemente achatados e de coloração marrom, com uma única semente ou amêndoa (10, 11).

A polpa deste fruto pode ser consumida *in natura* ou na forma de doces, já a amêndoa deve ser consumida torrada, pois, a presença de inibidores de proteases, fatores antinutricionais em sua constituição química, interferem na absorção de nutrientes pelo organismo, mas que podem ser inativados pelo calor (12, 13). A amêndoa de baru (*Dipteryx alata* Vog.) destaca-se por apresentar rica composição em micro e macro nutrientes, teores de taninos, ácido fítico, tocoferóis e perfil de ácidos graxos com predominância de 80% de ácidos graxos insaturados (ácidos graxos, oleico e linoleico).

Um estudo recente com ensaios *in vivo*, (14), demonstrando a redução do estresse oxidativo induzido pelo ferro, em ratos suplementados com amêndoas de baru, mediada pelos compostos antioxidantes presentes nestas amêndoas, aliado ao reconhecido potencial nutricional já descrito, foram fatores determinantes para inferir um provável potencial antioxidante a elementos até então ainda desconhecidos nessas amêndoas. Aliado a isto, não existem relatos na literatura a respeito do perfil de compostos fenólicos individualizados contidos no baru (*Dipteryx alata* Vog.).

Desse contexto originou-se a hipótese da presença de compostos bioativos a serem identificados conjuntamente com a atividade antioxidante em amêndoas de baru, e que, quando submetidos ao processo de torrefação, mantém o potencial nutricional e medicinal.

Assim, este trabalho objetivou caracterizar os compostos bioativos e capacidade antioxidante em amêndoas de baru (*Dipteryx alata* Vog.) e sua estabilidade frente ao estresse térmico quando submetidas ao processo de torrefação.

Esta tese foi estruturada da seguinte forma: Introdução, Revisão Bibliográfica, Objetivos, Materiais e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusão, Bibliografia, Anexos e Apêndice. As referidas etapas seguem normas delineadas em um plano de pesquisa e inseridas no artigo científico:

The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of Baru nuts [*Dipteryx alata* Vog.], de autoria de Miriam Rejane Bonilla Lemos, Egle Machado de Almeida Siqueira, Sandra Fernandes Arruda e Rui Carlos Zambiasi, submetido e aceito à publicação na revista Food Research International-Elsevier, com o seguinte DOI: 10.1016/j.foodres.2012.05.027 (APÊNDICE C).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 EPIDEMIOLOGIA DAS DOENÇAS CRÔNICO-DEGENERATIVAS

A história da humanidade, desde os primórdios, ilustra a relação entre o estilo de vida, a alimentação e a capacidade de adaptação das espécies humana e animal, às diversidades, capazes de produzir o equilíbrio entre o meio interno (células) e o meio externo (ambiente). E isto se evidencia pelo próprio estudo da epidemiologia, em saúde coletiva, como fator de entendimento e desencadeamento das enfermidades (15).

Dessa forma, é possível compreender como o processo de mudança na incidência ou na prevalência de doenças, bem como nas principais causas de morte, foram afetadas em função das adversidades que ocorreram ao longo do tempo. Vale destacar que a isso, somam-se os períodos percorridos pela humanidade e a transição epidemiológica vivida até os dias atuais.

A epidemiologia estuda o processo saúde-doença em coletividades humanas, analisando a distribuição e os fatores determinantes das enfermidades, danos à saúde e eventos associados à saúde coletiva, propondo medidas específicas de prevenção, controle, ou erradicação de doenças e fornecendo indicadores que sirvam de suporte ao planejamento, administração e avaliação das ações de saúde (15).

A partir da interação entre os agentes epidemiológicos é que se evidencia o processo de enfermidades individual ou coletivo.

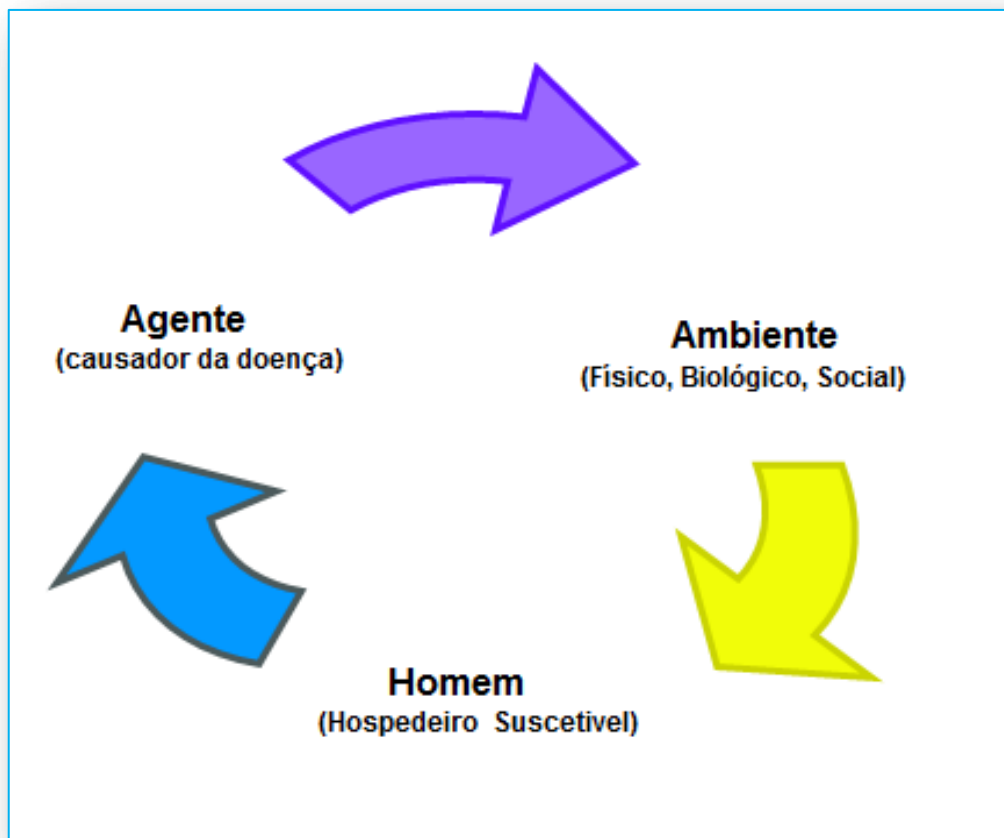


Figura 1 – Diagrama da Interação entre agentes epidemiológicos (15)

Existem fatores evolutivos que são decisivos para o completo entendimento dos fenômenos que demarcaram a ocorrência de doenças crônicas não transmissíveis e sua íntima relação com os radicais livres (RL). O conhecimento da história evolutiva e sociocultural do *Homo sapiens*, e as transições de enfermidades pelo qual este passou ao longo de sua existência, são aspectos importantes para que possa ser compreendida a origem das DCD (doenças crônico-degenerativas) na sociedade contemporânea.

Além disso, é fundamental o entendimento da forma como ocorreram as mudanças e interações entre os agentes epidemiológicos ao longo da história evolutiva do homem, a ação do metabolismo oxidativo celular e seu efeito no organismo, enquanto agentes desencadeantes de patologias. Esses elementos permitem que sejam identificados os fatores predisponentes às doenças (fatores estressores) e seus fatores preventivos (fatores antioxidantes) no

estudo com compostos bioativos em alimentos, como instrumentos de pesquisa (16).

Desse modo, torna-se interessante o conhecimento da forma como o homem, desde os primórdios da humanidade, reage às mudanças naturais consequentes da evolução social, psicológica e pessoal e suas implicações no desenvolvimento de doenças crônicas, para melhor compreender os desencadeantes de patologias que persistem na sociedade contemporânea.

2.1.1 Transição Epidemiológica

2.1.1.1 Período Paleontológico

Período compreendido entre 500.000 a.C. e 1.000 a.C. Caracterizou-se pelos primeiros contatos da espécie humana com fenômenos então desconhecidos e seriam na verdade, reações estressoras, frente ao estilo de vida (oxidantes) e alimentação (antioxidantes).

As tribos de hominídeos, naquela época, eram nômades caçadores (homens) e as catadoras (mulheres), que apresentavam baixa expectativa de vida, por estarem numa época em que não havia garantias de obtenção de alimentos energéticos e nutritivos, já que isso era estritamente dependente da natureza, levando-os a períodos com abundância de alimentos e outros de total escassez, gerando a fome e os elementos favoráveis ao estresse oxidativo (16,17).

O homem daquele período, por ser nômade, não cultivava e nem produzia o seu próprio alimento. A atividade física, por serem caçadores, não refletia hábitos sedentários, sendo que o gasto energético e as infecções por micro-organismos eram variáveis, dependendo da abundância ou da escassez do alimento. A dieta naquele período, quando abundante, se baseava em carnes magras, peixes, mariscos, vegetais (incluindo frutos, raízes e sementes) e ovos; porém, o homem ainda não tinha conhecimento de grãos e nem

cereais. O preparo de alimentos era dito rudimentar ou até mesmo cru, o que favorecia a ingestão de compostos dietéticos *in natura* (17).

Esse tipo de alimentação à base de vegetais e de todas as partes das plantas, portanto rica em compostos bioativos, justifica a imunidade natural às doenças mais agressivas, as quais não acometiam os indivíduos daquele período. As doenças em homens e mulheres se resumiam a processos parasitários e bacterianos, não sendo registrados casos de enfermidades virais ou causadoras de alta mortalidade.

A alternância das condições de obtenção de alimentos, nas oscilações nos estoques de energia e na atividade física, inferiu mudanças na expectativa de vida e vulnerabilidade às doenças (18).

Sob o ponto de vista fisiológico, estes elementos foram marcantes para pressupor que houve uma seleção natural determinada pelos genes envolvidos na regulação do metabolismo oxidativo. Isto porque os extensos períodos de fome e o grande gasto energético para garantir a sobrevivência só poderiam ser suportados por indivíduos que conseguissem armazenar o máximo de quantidade de energia e gastá-la modo comido (18, 19, 17).

Assim, o genoma humano teria sido selecionado a favor de um ambiente com oscilações entre estoque de energia e intenso gasto energético, gerando conjuntos genéticos humanos que garantissem menor gasto metabólico corporal, sendo positivamente selecionados.

2.1.1.2 Período Neolítico

Período pós-paleontolítico, em que ocorreu a chamada Revolução Agrícola, foi caracterizada pelo domínio do homem sobre a produção de alimentos e o estabelecimento da vida sedentária em detrimento da nômade. O desenvolvimento da produção primária de alimentos determinou mudanças no padrão das enfermidades, até então desconhecidas pelos hominídeos que outrora habitavam a terra (18).

O estilo de vida sedentário e a produção agrícola levaram de forma abrupta, ao acúmulo de alimento excedente, oposto ao que ocorreu no período anterior, impulsionando mudanças importantes na sociedade humana (16) Houve um rápido aumento da população e da densidade demográfica; estabeleceu-se o sedentarismo; o homem passou a investir na domesticação de animais (favorecendo as zoonoses); extensiva quebra do equilíbrio ecológico (ocupação de territórios para monoculturas e inserção de espécies exóticas), além do então surgimento de desigualdades sociais, fatores também desconhecidos no período anterior. Isso tudo proporcionou aos indivíduos um maior risco de contrair enfermidades, tornando-os susceptíveis às tão temidas doenças infecto contagiosas (18, 19, 20).

O sedentarismo e a acomodação aumentaram a chance de infecções parasitárias (20), devido à proximidade entre os recursos hídricos e os descartes e dejetos humanos e de animais domesticados, que criaram, em conjunto, um ambiente favorável a vetores de doenças (21).

A agricultura de subsistência aumentou as deficiências nutricionais, que tiveram grandes implicações na saúde das populações, pois houve a diminuição na variedade dos alimentos disponíveis aos indivíduos, em função da alta densidade demográfica e redução do acesso ao alimento e seus nutrientes, resultando na vulnerabilidade a doenças infecciosas (17).

A dieta, incluindo ingestão energética e gasto energético, se refletiu nas mudanças ocorridas ao longo dos últimos 10.000 anos, a partir da inserção de novos hábitos alimentares e com isso o homem passou a ingerir alimentos com nutrientes advindos de dietas ricas em gorduras trans, vitaminas, fibras, cereais e leguminosas, havendo também alteração no seu modo de preparo destes (17). A glicose tornou-se mais biodisponível, assim, o organismo também alterou o padrão de ingestão glicêmica e de densidade energética, quando em comparação com o período Paleolítico (16, 17).

Apesar disso, os indivíduos superaram as adversidades, mantendo o padrão reprodutivo e de sobrevivência, alcançando gradativamente um

aumento na expectativa de vida, ao mesmo tempo em que ocorria um desequilíbrio do seu metabolismo energético, predispondo ao surgimento de DCNT (Doenças Crônicas não Transmissíveis) nas populações (18, 20).

Este período deixou a herança do diabetes e seu conjunto de agravantes como obesidade, genética e processos cardiovasculares, passando a ser reconhecido como uma das causas de mortalidade na população, já nesta época. A transição da mudança de um cenário de instabilidade dietética para uma abundância de alimentos ricos em energia e com menor necessidade de gasto energético, certamente determinou um importante impacto metabólico e estressor (22, 23).

2.1.1.3 A Revolução Industrial

De acordo com Hogan (21), foi com a revolução industrial ocorrida a partir do ano 1750, que surgiram inúmeras cidades e a maioria delas sem nenhum planejamento, que culminou em diversos problemas ambientais, refletindo-se na área da saúde, presentes até os dias atuais. Houve uma menor incidência de doenças e como consequência a diminuição na mortalidade infantil e nas taxas de fecundidade (controle da natalidade). Fatores considerados determinantes para a ocorrência do fenômeno de envelhecimento da população (aumento da expectativa de vida) e com isto, determinando modificações no perfil epidemiológico pela alta incidência e prevalência de doenças características de indivíduos com idade avançada (16).

Este período, que é recente, também está ligado ao desenvolvimento científico e tecnológico, permitindo melhorias nas taxas de sobrevivência da população humana, no controle e prevenção das doenças infectocontagiosas.

2.1.1.4 A Contemporaneidade Epidemiológica

A modernização e o grau de urbanização decorrentes da industrialização evidenciaram significativas mudanças epidemiológicas nas populações. Dentre

elas, distinguem-se alterações dos hábitos alimentares e modificações do estilo de vida, com o significativo aumento da prevalência de doenças crônicas (16).

O consumo de alimentos ricos em carboidratos simples, de fácil absorção, gorduras saturadas, sal e potássio, dentre outros, foram introduzidos na dieta em detrimento de fibras, vitaminas e compostos bioativos com potencial antioxidante favorecendo a maior incidência de câncer e cardiopatias (17).

Marcado por fatos importantes, esse período se caracterizou pelo ressurgimento de doenças infecciosas consideradas ainda mais agressivas do que àquelas até então conhecidas. Muitas das quais, resistentes a antibióticos (resistência bacteriana ocasionada pelas mutações) com alto potencial epidemiológico e pandêmico com riscos de evolução globalizada de uma população fragilizada em suas defesas imunológicas, determinada por constante estresse ao qual são diariamente submetidos por fatores endógenos e exógenos aceleradores das espécies reativas de oxidação (16, 23).

No entanto, o avanço da ciência não foi suficiente para evitar que enfermidades como febre hemorrágica, infecção por hantavírus e vírus da imunodeficiência humana (AIDS/SIDA), pneumonias atípicas e as doenças crônicas, evoluíssem.

O homem deste período ainda tenta uma adaptação para vencer as adversidades e a manutenção da espécie, embora esteja, como nunca antes, mais susceptível à ação de espécies reativas e estressoras. O homem da atualidade alterou de forma marcante, o equilíbrio entre o seu estilo de vida e o meio ambiente (18, 20, 21).

O modelo comportamental da atualidade está demonstrado na figura 2, que expressa o contraste entre o homem do passado, com atividade constante, e o sedentário, do presente, com menos horas de sono, estresse contínuo, dieta hipercalórica (de rápida absorção intestinal e pouco diversificada), tabagismo, álcool, drogas e medicamentos de forma indiscriminada, aliados às

constantes agressões ao meio ambiente, causando um desequilíbrio entre o meio interno (celular) e o externo (ambiente), favorecendo a uma exacerbação das espécies reativas e do estresse (16, 17).

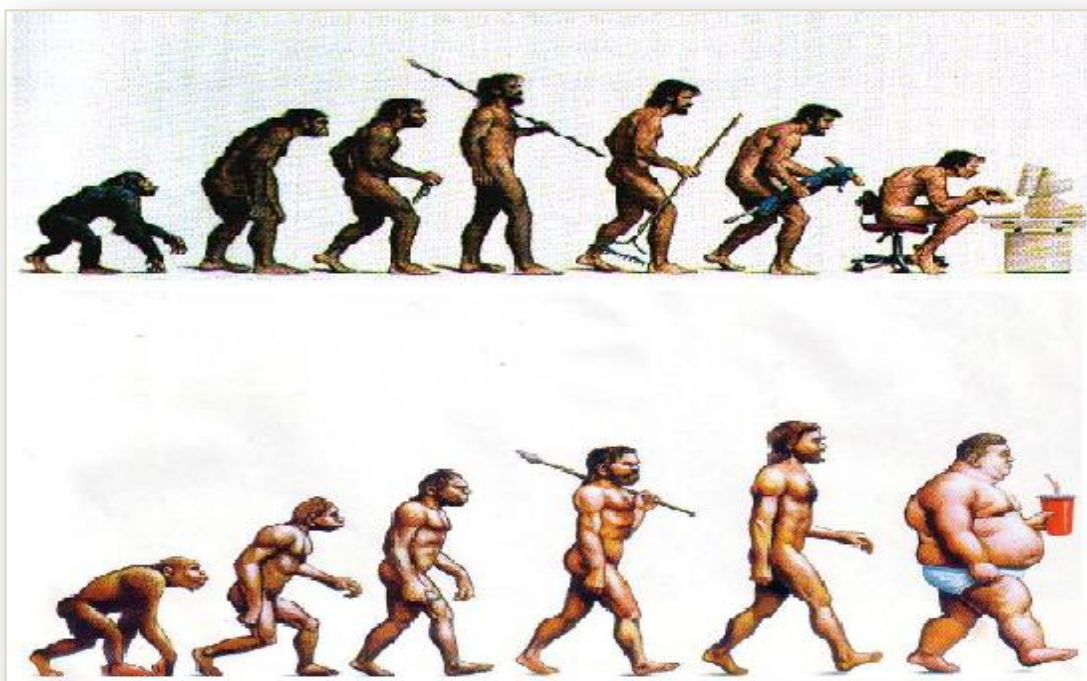


Figura 2- Contraste do modelo comportamental entre o homem do passado (ativo) e o atual (sedentário) (16)

A luta do homem pela sobrevivência e sua constante busca pelo alimento é histórica. O homem, desde então, sempre utilizou plantas e alimentos, como fonte de agentes profiláticos para prevenção e tratamento de doenças em humanos e animais (24).

A compreensão do papel dos alimentos na manutenção da saúde e cura de doenças tem suas origens nas culturas antigas e seus documentos, como as escrituras chinesas, a ayurveda indiana (medicina indiana milenar) e a grega, com os conhecimentos de Hipócrates, que contextualizou a relação entre o uso apropriado dos alimentos para a saúde e seus benefícios terapêuticos (25, 24, 26).

De acordo com Hipócrates (434-460 a. C), considerado o pai da medicina: *“As doenças originam-se da natureza e por ela poderiam ser curadas, quando se estabelece um equilíbrio entre meio ambiente, alimentos ingeridos e o espírito”*.

Desde então, as buscas por substâncias capazes de controlar a ação de elementos estressantes ao organismo tem sido constante. Dizia Hipócrates: *“Faça do seu alimento o seu medicamento”*.

Hipócrates já evidenciava a estreita relação entre os alimentos e sua capacidade no controle e prevenção de doenças, ora constatado no homem dos primórdios. Vale lembrar que no período Paleontológico, os indivíduos eram saudáveis e se alimentavam basicamente de raízes, plantas, sementes e nutrientes *in natura* (16, 17).

Frutas e hortaliças têm sido reconhecidas como fontes naturais de vitaminas, minerais e fibras, como alimentos de importante valor nutricional, sinônimo de uma dieta saudável (2).

É crescente o interesse dos profissionais da área da nutrição e saúde, inadequadas favorecem às doenças crônico-degenerativas, as quais têm aumentado significativamente nos países ocidentais (27).

Evidências epidemiológicas demonstram que o consumo regular de vegetais está associado à redução da mortalidade e morbidade por este tipo de patologias e seus sintomas como a obesidade, hipertensão, demência, osteoporose, depressão, debilidade e baixa imunidade. A associação positiva entre dietas ricas em frutas e vegetais e a redução do risco de doenças cardiovasculares e certas formas de câncer está diretamente relacionada ao conteúdo de seus compostos bioativos (28, 4).

A utilização de extratos de plantas como agentes com atividade antioxidante já é uma realidade e com os avanços nas pesquisas, poderão

contribuir ainda mais no controle e fisiopatologia das doenças crônico-degenerativas (29, 30).

Portanto, a atividade de prevenção ao estresse oxidativo pode ser entendida como uma preocupação que acompanha a própria evolução do homem, sendo observada de longa data.

2.2 ESTRESSE OXIDATIVO COMO AGENTE CAUSADOR DE DOENÇAS CRÔNICAS

Segundo a OMS (Organização Mundial da Saúde-1948) (35) saúde é *"um estado de completo bem-estar físico, mental e social e não apenas a ausência da afecção ou doença"*. Este estado se caracteriza pelo processo de equilíbrio ou homeostase: (*homeo* = igual; *stasis* = ficar parado), uma condição na qual o meio interno do corpo permanece dentro de certos limites fisiológicos. O meio interno refere-se ao fluido entre as células, chamado de líquido intersticial (intercelular).

Para Guyton (36):

"Um dos objetivos principais de qualquer texto de fisiologia médica é explicar e enfatizar a eficácia e a beleza dos mecanismos homeostáticos do corpo, bem como discutir seu funcionamento anormal na doença".

As evidências científicas sugerem que a quebra da homeostase pelo metabolismo oxidativo provavelmente ocorreu quando os humanos deixaram de ser nômades, tornando-se sedentários e, conseqüentemente, alterando o seu hábito alimentar (37). Quando o princípio da homeostase é interrompido, se estabelece o estresse, o qual é caracterizado por qualquer estímulo capaz de criar um desequilíbrio no meio interno do organismo, seja por fenômenos químicos, físicos ou biológicos (38).

O fato é que existem evidências de que as ERO's (Espécies Reativas de Oxigênio) possam estar envolvidas na etiologia de mais de 50

tipos de doenças degenerativas, entre as quais, o câncer, diabetes, Alzheimer, osteoporose, mal de Parkinson, aterosclerose, processos inflamatórios crônicos, cardiopatias e artrite reumatoide, que se destacam com maior taxa de incidência e prevalência no cenário mundial (37, 38, 39).

Estudos comprovam que o estresse oxidativo está relacionado como fator desencadeante ou predisponente das patologias do século 21, como o envelhecimento precoce, degeneração muscular decorrente de atividade física intensa, ansiedade, obesidade e infarto agudo do miocárdio (16, 39) e que são responsáveis pelos altos índices de morbidade e da mortalidade da população mundial.

As doenças crônico-degenerativas são responsáveis por 59% das mortes no mundo (35). A projeção para 2020 é que estas acometam mais de três quartos de todas as mortes no mundo, e que 71% das mortes por doenças isquêmicas do coração, 75% de mortes por acidente vascular cerebral e 70% de mortes por diabetes, ocorrerão em países em desenvolvimento (16, 31).

Estes estudos levam-nos a concordar que o estresse oxidativo está relacionado às elevadas taxas de morbidade e mortalidade mundiais.

2.2.1 Obesidade

Considerada uma epidemia mundial, a obesidade se caracteriza pelo acúmulo excessivo de gordura corpórea em um nível que acarreta prejuízos a saúde dos indivíduos, elevando os riscos de outras doenças como diabetes *mellitus*, dislipidemias, doenças cardiovasculares (DCV), hipertensão arterial e alguns tipos de câncer e demais doenças crônicas não transmissíveis DCNT (32).

De acordo com a (OMS) (35), o Índice de Massa Corporal (IMC) é utilizado como um fator indicativo de sobrepeso e obesidade em humanos, sendo definido como a razão entre o peso (quilogramas) e o quadrado da altura (metros) do indivíduo. Desta forma, o excesso de peso está associado com o

aumento da morbidade e mortalidade dos indivíduos de uma população (33). Estudos indicam que este risco aumenta progressivamente de acordo com o ganho de peso. Em indivíduos com IMC de 30 a 35 kg/m², a expectativa de vida é reduzida em 2 a 4 anos e um IMC acima de 25 kg/m² contribui com cerca de 60% do diabetes, 21% das cardiopatias isquêmicas e entre 8% e 42% de certos tipos de câncer (34, 33, 40).

Esses fatores predisõem a ocorrência de inúmeros danos metabólicos ligados ao estresse oxidativo (40), os quais envolvem um conjunto de sintomas ligados ao aumento de espécies reativas que levam à quebra do equilíbrio do mecanismo antioxidante, resultando em graves implicações na saúde do indivíduo. Devido a esses fatores, a obesidade não é estudada isoladamente e sim associada à etiologia de outras doenças crônicas, sendo um agente agravante no Diabetes, Aterosclerose, Hipertensão e demais processos cardiovasculares (41).

2.2.2 Aterosclerose, Hipertensão e Processos Cardiovasculares

Entre as cardiopatias que mais acometem a população mundial, a doença arterial coronariana é a que possui maior taxa de incidência e prevalência, cujas principais manifestações clínicas são a angina *pectoris* e o infarto agudo do miocárdio (IAM), que podem levar à morte (42).

As afecções do sistema cardiocirculatório são agravadas por determinados fatores predisponentes de aterosclerose, dentre eles o excesso de radicais livres, a elevação das partículas de lipoproteína de baixa densidade (LDL) no plasma e a presença de LDL oxidada (LDLox) no interior da célula endotelial são os responsáveis pelo comprometimento do endotélio vascular (43, 44).

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica, de origem multifatorial, onde ocorre uma resposta à agressão endotelial (afeta a parede ou camada íntima das artérias de médio e grosso calibre), levando à formação de placas de gordura (depósito de lipídios), comprometendo e dificultando o

fluxo de sangue nessas artérias (45). O início da lesão ocorre a partir de uma modificação oxidativa nas lipoproteínas circulatórias por RL; particularmente são as Lipoproteínas de Baixa Densidade (*Low Density Lipoprotein*-LDL), que estão relacionadas com o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas, a partir da oxidação de ácidos graxos poli-insaturados. Seguindo o processo de oxidação, a lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDL-ox) estimula a migração de monócitos circulantes (células do sangue) para o espaço subendotelial ocasionando lesões na parede dos vasos (lesão na célula endotelial). A LDL-ox é então capturada por macrófagos (especializadas em fagocitose), que se transformam em células espumosas carregadas de colesterol. Esse processo histológico prematuro leva ao desenvolvimento de placas ateroscleróticas, de acordo com a ilustração da figura 3 (45; 44; 46).

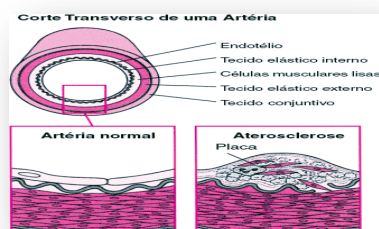


Figura 3 - Desenvolvimento da placa de ateroma (45)

A oxidação estimula a penetração de colesterol nos macrófagos, que se convertem em células espumosas, contribuindo para a formação da placa de ateroma. No decorrer do tempo, ocorre a formação de um espessamento irregular (placa) (figura 3) no revestimento interno da artéria. (45, 62, 44).

É uma patologia que afeta as artérias do cérebro, coração, rins e de outros órgãos vitais, podendo provocar, entre outros eventos, a isquemia cerebral transitória, predispondo ao acidente vascular cerebral (AVC). Quando as placas de ateromas atingem as artérias que suprem o coração (artérias coronárias), poderá provocar angina do peito, infarto agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca e morte (45, 44).

Apesar dos importantes avanços da medicina, o infarto do miocárdio e o acidente vascular cerebral, ainda são responsáveis por mais mortes que todas

as demais causas combinadas e de acordo com (47), as projeções para o ano 2020, são de que as cardiopatias permaneçam como causa principal de mortalidade e incapacitação da população mundial. Sedentarismo, maus hábitos alimentares, estresse contínuo dos indivíduos, tabagismo, obesidade, diabetes, a hipertensão, níveis elevados de colesterol e predisposição genética (45, 42) estão entre os fatores predisponentes mais comuns dos processos cardiovasculares.

2.2.3 Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM) compreende um grupo heterogêneo de distúrbios crônicos do metabolismo, devido à deficiência absoluta ou relativa de insulina. Quando presente por períodos prolongados, o diabetes é complicado pelo desenvolvimento de doença dos pequenos vasos (microangiopatia), envolvendo particularmente retina e glomérulo renal, além de neuropatia e aterosclerose acelerada (48, 59).

As Células- β pancreáticas, contidas nas *Ilhotas de Langerhans* (estrutura do pâncreas endócrino, que abriga as células α e β , produtoras de glucagon e insulina, respectivamente, regulando a glicose metabólica), estão relacionadas à sensibilidade para estresse oxidativo, fator que pode contribuir para o mau funcionamento característico da célula produtora de insulina do pâncreas no diabetes (50).

Dados da literatura sugerem que hiperglicemia aguda pode aumentar a produção de radicais livres implicados no processo do diabetes, que ocorre devido à injúria oxidativa de várias biomoléculas e alguma condição inflamatória inevitável, levando a um aumento na carga oxidativa, provocada pela liberação de espécies reativas de oxigênio (ERO's) e pelos macrófagos ativados (como parte do sistema de defesa) no decorrer da doença (51).

Dados da literatura comprovam que o diabetes é um dos distúrbios crônicos do metabolismo, também relacionadas ao estresse oxidativo.

2.2.4 Câncer

Em seus estudos, Ames Shigenaga & Hagen (52), consideram que diariamente possam ocorrer inúmeras lesões oxidativas no DNA de uma única célula. Assim sendo, o estresse oxidativo seria capaz de ocasionar instabilidade genômica, resultando em alterações celulares, como mutações genéticas, com efeitos deletérios ao organismo (53).

O câncer pode estar associado a mutações nos genes da célula que, a partir de uma instabilidade inicial, ocasiona mudanças na estrutura celular com multiplicidade na divisão celular anormal, com estabelecimento de células atípicas, que podem ser visualizadas na figura 4-A (54, 55, 43).

Um tumor benigno refere-se ao conjunto de massa celular localizada e não sistêmica que se multiplicam vagarosamente (figura 4-A) as quais se assemelham ao tecido que lhe deu origem. Este tipo de tumoração, raramente constitui-se em risco de vida ao paciente.

As características que diferenciam os diversos tipos de câncer entre si são, a velocidade de multiplicação das células e a capacidade de invadir tecidos e órgãos vizinhos ou distantes, ou de formação de metástases (54, 56). A Figura 4 mostra um conjunto celular e as diferenças entre os tipos de células tumorais em relação ao conjunto celular sadio (normal), conforme segue:

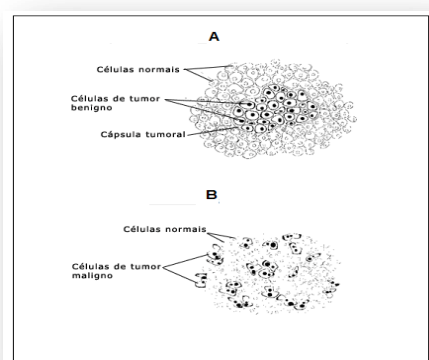


Figura 4 – Diferenças estruturais entre as células normais (A); células tumorais benignas (A) e as células malignas (câncer) (B) (45)

O termo “câncer” compreende um conjunto de mitoses celulares que têm em comum o crescimento celular desordenado e que invadem os tecidos e órgãos (tumor maligno) (fig.4-B), podendo espalhar-se para outras regiões do corpo, promovendo as metástases. Essas células dividem-se rapidamente e tendem a ser muito agressivas e invasivas (invadem o tecido adjacente), determinando a formação de tumores (acúmulo de células cancerosas) ou neoplasias malignas (45).

A carcinogênese se estabelece através de três etapas distintas sendo elas a iniciação, a promoção e a progressão. Na primeira etapa ou iniciação é um processo irreversível que envolve eventos intracelulares que resultam em mutação genética. Nessa etapa, carcinógenos ambientais, como poluentes, radiações, fumaça do cigarro, substâncias químicas induzem uma ou mais mutações, que resultam na ativação de oncogenes e na inativação de genes supressores tumorais.

Além disso, agentes intracelulares, como espécies reativas de oxigênio, que são decorrentes do metabolismo oxidativo normal, e alterações em enzimas metabolizadoras de fases iniciais, passam a produzir moléculas reativas capazes de induzir danos genotóxicos (55).

A segunda etapa, assim definida como promoção, é um processo mais lento, que se caracteriza pela desregulação de vias de sinalização que normalmente controlam a proliferação celular e a apoptose. Finalizando este processo, a etapa de progressão, se caracteriza pelo acúmulo de alterações genéticas, angiogênese e, em consequência, a ação metastática ou metástase celular (54).

A inflamação crônica é um processo também gerado por radicais livres e que pode levar ao estabelecimento do câncer no organismo, atuando como um dos fatores predisponentes desta enfermidade. Rudolf Virchow, o pai da patologia, em 1863, já havia estabelecido uma forte relação entre inflamação e carcinogênese a partir da presença de leucócitos em tecidos neoplásicos (58).

Posteriormente, a associação entre inflamação e câncer passou a ser dividida em duas vias: a via extrínseca, impulsionada por condições inflamatórias ou infecciosas, causadas pelo estresse oxidativo e que aumentam o risco de câncer; e a via intrínseca, impulsionada por alterações genéticas que causam inflamação e neoplasia (55, 58).

Assim, observam os autores, a estreita relação entre o estresse oxidativo e os fatores que podem desencadear o câncer.

2.2.5 Afecções do Sistema Respiratório

Patologias do sistema respiratório como enfisema, displasia bronco pulmonar, asma e distúrbios em fumantes também estão associados às espécies reativas de oxigênio, as quais agem através da ativação dos neutrófilos, que são células de defesa (outro tipo de leucócitos do sangue) (59). Após a chegada dos neutrófilos no interstício pulmonar, a ativação celular gera radical superóxido que lesa diretamente a membrana das células intersticiais e do endotélio, ocorrendo assim uma lesão tissular progressiva, já que o neutrófilo ativado também libera enzimas proteolíticas que degradam a elastina do arcabouço pulmonar (60, 59).

2.2.6 Envelhecimento Precoce

O processo de envelhecimento possui duas teorias fundamentais. A primeira postula a programação genética e cronológica para a gradual mudança no fenótipo, chamado de envelhecimento intrínseco (envelhecimento gradual propriamente dito). Enquanto que a segunda, assume a exposição repetitiva quanto às influências danosas, como as radiações solares, levando ao envelhecimento extrínseco (envelhecimento precoce) (62, 39).

Harman (61), em sua teoria dos radicais de oxigênio, propunha que o mecanismo do envelhecimento poderia ser secundário ao estresse oxidativo, o que levaria a reações de oxidação lipídica, proteica e com o DNA, desencadeando alterações lentas e progressivas dos tecidos e do código

genético. Porém, ainda são escassas e pouco consistentes as afirmativas da ciência para evidenciar a completa elucidação do mecanismo que culminaria com a senilidade celular de forma abrupta resultando no envelhecimento precoce, o que é primeiramente constatado através da aparência cutânea externa (pele).

A pele é a estrutura corpórea mais externa e naturalmente mais exposta a inúmeros agentes químicos, físicos e microbiológicos, muitos dos quais induzem à formação de espécies reativas que são fundamentais em diversos processos fisiopatológicos e bioquímicos, mantendo a sobrevivência e a homeostase celular, havendo um equilíbrio entre a sua formação e remoção (38).

Porém, quando ocorrem alterações acentuadas no equilíbrio, um estado pró-oxidante será gerado e se estabelecerá o estresse oxidativo, exigindo uma rápida resposta celular para evitar os efeitos deletérios e consequente perda da função dos constituintes celulares e teciduais. Essa situação pode levar a um conjunto de alterações estruturais, entre elas a perda de colágeno e a flacidez do tecido cutâneo (45, 38, 62). Vários fatores podem iniciar ou contribuir para alterações no equilíbrio redox, sendo que muitos aceleram o processo intrínseco cutâneo antecipando o envelhecimento cronológico inerente a todos os órgãos.

Entre estes fatores, um dos mais importantes, até pelos efeitos cumulativos, seria a exposição solar, ocasionando, entre outras doenças, o câncer de pele. Os estudos dos últimos anos demonstram um comportamento heterogêneo do sistema de defesa antioxidante em relação ao envelhecimento (39).

As influências danosas à saúde apresentadas nos estudos acima revelam a importância de se prevenir o estresse oxidativo.

2.2.7 Exercícios Físicos Intensos

Atividade física regular tem sido recomendada com a finalidade de preservar a saúde e prevenir doenças. No entanto Nahas (63) apresenta evidências de que o exercício físico, principalmente os mais intensos, está associado tanto com danos musculares quanto à produção elevada de RL.

De acordo com Mastaloudis et al. (64), o exercício físico agudo, em função do incremento do consumo de oxigênio, promove o aumento da formação de RL, provocando alterações significativas nas estruturas e funções orgânicas do praticante.

Os exercícios aeróbios melhoram a capacidade funcional, aumentando a capacidade cardíaca, podendo prevenir e reduzir o risco de doenças cardiovasculares, enquanto que os exercícios de força melhoram a função muscular, reduzindo a frequência de quedas e predisposição à traumas. No entanto, a sua prática está relacionada à produção excessiva de espécies reativas de oxigênio que contribui para a formação de radicais livres, sendo prejudicial ao organismo, principalmente o exercício aeróbio (65, 63).

Durante o exercício, ocorre aumento do fluxo de oxigênio na mitocôndria, dos quais 2 a 5% não são parcialmente reduzidos, favorecendo a formação de espécies reativas como o ânion radical superóxido, o peróxido de hidrogênio e o radical hidroxil. A produção de RL durante o exercício físico estará ligada à exaustão quando os exercícios físicos aumentarem em torno de 10 a 20 vezes o consumo de oxigênio no corpo (65, 66, 38, 67).

A intensidade do bombeamento de oxigênio através dos tecidos desencadeia a liberação desses radicais. Também poderá ocorrer a produção de espécies reativas nos casos de isquemia de reperfusão, que está presente quando exercícios físicos intensos são praticados e o fluxo sanguíneo é desviado dos órgãos que não estão envolvidos diretamente na atividade física e desviado para os músculos em atividade a fim de suprir a demanda de trabalho. Assim, uma parte do corpo poderá passar por um déficit de oxigênio

(hipóxia), sendo que, ao término do exercício, o sangue retorna a esses órgãos que estiveram privados.

Todo este processo ocasiona a liberação de grandes quantidades radiculares (66, 38). Taxas metabólicas elevadas como resultados de exercício físico intenso podem elevar o consumo de oxigênio em até 20 vezes, em relação aos valores de quando o indivíduo encontra-se em repouso ou menor atividade física, o que favorece o estresse (65).

2.2.8 Doenças Cerebrovasculares

O cérebro é reconhecidamente susceptível ao dano oxidativo em função da alta utilização de oxigênio (atividade mitocondrial) e dos altos níveis de lipídios não saturados e metais de transição, como o ferro (68). Além disso, espécies reativas e peroxidação lipídica têm sido implicadas na patogênese de desordens neurológicas, incluindo trauma cerebral, isquemia e doenças neurodegenerativas. Hipóteses mais aceitas envolvem genética de grupo familiar e deficiência na atividade mitocondrial (69, 62).

De acordo com Ferreira & Matsubara (70) e Nohl (58), algumas doenças que são frequentes na velhice, como o mal de Parkinson, o acidente vascular cerebral, Alzheimer, catarata e demência senil, também são consequências do estresse oxidativo.

2.3 RADICAIS LIVRES

Os radicais Livres (RL) são produzidos continuamente nos processos metabólicos, atuando como mediadores na transferência de elétrons em várias reações bioquímicas, desempenhando funções relevantes no metabolismo. As principais fontes geradoras de radicais livres são as organelas citoplasmáticas que metabolizam o oxigênio, o nitrogênio e o cloro, com grande quantidade de metabólitos (71, 38, 70).

De acordo com Ferreira & Matsubara (70):

Radical livre (RL) refere-se ao átomo ou molécula altamente reativos, que contêm número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica, sendo este não emparelhamento de elétrons da última camada, que confere alta reatividade a esses átomos ou moléculas.

O termo, RL nem sempre é ideal para designar os agentes reativos patogênicos, pelo fato de que alguns deles não apresentam elétrons desemparelhados em sua última camada. Como em sua maioria, esses agentes estressores estão relacionados ao metabolismo do oxigênio, passam então a ser denominados de *espécies reativas de oxigênio* ERO's (71, 70).

O aparecimento da molécula de oxigênio na atmosfera e da vida aeróbia foi um marco na evolução dos seres vivos, não só proporcionando enormes benefícios (ativação de sistemas de defesa celular), mas também algumas desvantagens. O oxigênio molecular (O_2) obtido da atmosfera é vital para organismos aeróbios; contudo, espécies reativas formadas intracelularmente a partir do O_2 ameaçam a integridade celular por meio da oxidação de biomoléculas podendo comprometer processos biológicos importantes (65).

Como o oxigênio molecular já possui dois elétrons desemparelhados em sua última camada, ele é considerado um agente oxidante por receber elétrons de outras moléculas redutoras formando as espécies reativas (do inglês ROS: "*Reactive Oxygen Species*") que são altamente destrutivas, como os radicais superóxido (O_2^-), hidroxil (OH^\cdot), e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Normalmente, a redução completa do O_2 ocorre na mitocôndria, e a reatividade das ERO's é neutralizada com a entrada de elétrons (72, 70).

As espécies reativas podem ser geradas de forma endógena durante o metabolismo e alteração celular ou de forma exógena, como a exposição ao álcool, fumo, drogas, raios ultravioletas e estilo de vida (figura 5).

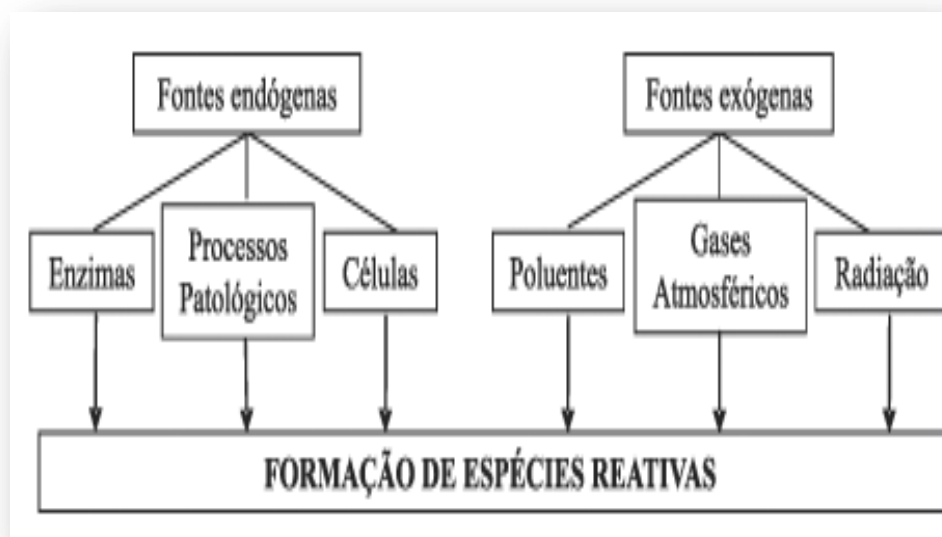


Figura 5 - Diagrama sobre os fatores endógenos e exógenos de formação das espécies reativas (73)

No entanto, a geração de RL nem sempre é prejudicial ao organismo, pelo contrário, é necessária em vários processos biológicos como sinalização celular, inflamações, contração muscular e sistema imune (74). Quando as células são agredidas por algum agente estressor (que também pode ser RL), são estimuladas a produzirem mais radicais, combatendo o agente agressor. Porém, o agravante seria quando os níveis totais gerados de RL tornam-se superiores à capacidade de defesa ocasionando assim, danos celulares significativos.

2.3.1 Espécies Reativas de Oxigênio (ERO'S)

2.3.1.1 Radical Superóxido (O_2^-)

Espécie radicalar pouco reativo, não possui a habilidade de penetrar em membranas lipídicas, agindo, portanto, apenas *in locus* (no compartimento onde foi produzido) (75). É formado a partir do oxigênio molecular pela adição de um elétron e sua formação ocorre espontaneamente, em especial na

membrana na cadeia respiratória. Também é produzido por flavoenzimas, lipoxigenases e ciclooxigenases, ocorrendo em praticamente todas as células, durante a ativação máxima de neutrófilos, monócitos, eosinófilos e macrófagos (células especializadas em defesa) (38, 70).

2.3.1.2 Radical Hidroxil (OH^\cdot)

É considerada a ERO mais reativa em sistemas biológicos podendo causar danos em qualquer molécula próxima ao local onde foi produzido, porque possui taxa de difusão limitada (70, 76). A combinação extremamente rápida do OH^\cdot com metais ou outros radicais no próprio sítio onde foi produzido confirma sua alta reatividade.

2.3.1.3 Peróxido De Hidrogênio (H_2O_2)

Embora não sendo um radical livre (devido a ausência de elétrons desemparelhados na última camada) o H_2O_2 é um metabólito do oxigênio extremamente deletério, porque, assim como o radical superóxido (O_2^\cdot), na presença de metais de transição como Ferro (Fe) e Cobre (Cu), são convertidos no radical hidroxil (OH^\cdot), que apresenta alta reatividade com o sistema celular (77, 38).

Por apresentar meia vida relativamente longa, é capaz de atravessar camadas lipídicas, favorecendo a interação com as membranas celulares, como é o caso do eritrócito (hemácias ou glóbulos vermelhos do sangue) e com proteínas ligadas ao ferro (Fe), resultando em complexos extremamente tóxicos para a célula, desencadeando lesões e patologias (75, 70, 78).

2.3.2 Ações danosas das ERO'S sobre os sistemas biológicos

Imprescindível à maioria dos organismos (exceto naqueles anaeróbicos), o oxigênio é um gás tóxico e mutagênico, responsável por diversas situações de severo estresse fisiológico em que todos os seres vivos estão inevitavelmente submetidos. O oxigênio, que é indispensável para a produção

de energia nas cadeias de transporte de elétrons, também pode levar à oxidações celulares danosas e por vezes letais (16, 75, 78), decorrentes da produção de espécies reativas altamente lesivas dos RL.

Os RL podem inativar proteínas (enzimas e membrana celular), ao oxidar seus grupos sulfidrilas (-SH) a pontes dissulfeto (-SS), resultando em alterações desde sua fragmentação, agregação e até mesmo a ativação ou inativação de certas enzimas, devido à reação dos radicais livres com aminoácidos constituintes da cadeia polipeptídica (76, 70, 78).

A reação de radicais livres com ácidos nucleicos gera mudanças em moléculas de DNA e acarretando certas aberrações cromossômicas (76). Se a espécie radicalar hidroxila for produzido próximo ao DNA e, a este DNA estiver fixado um metal, poderão ocorrer modificações de bases purínicas e pirimidínicas, levando à inativação ou mutação do DNA. Além destes efeitos indiretos, há a ação tóxica resultante de altas concentrações de íon superóxido e peróxido de hidrogênio na célula (79, 70, 78).

Um alvo clássico dos RL são os ácidos graxos poliinsaturados presentes nas membranas celulares e em lipoproteínas (lipoperoxidação). É uma reação em cadeia, representada pelas etapas de iniciação, propagação e terminação.

Na fase de iniciação, o radical RL remove hidrogênio do ácido graxo insaturado produzindo um radical de lipídeo (L^{\bullet}), que ao reagir com o oxigênio molecular forma o radical peroxila (LOO^{\bullet}). Na propagação, o LOO^{\bullet} retira hidrogênio de outro lipídeo, formando o hidroperóxido de lipídeo ($LOOH$) e L^{\bullet} e assim sucessivamente. O término da lipoperoxidação ocorre quando os radicais (L^{\bullet} e LOO^{\bullet}) produzidos nas etapas anteriores propagam-se até destruírem-se a si próprios. Como resultado da lipoperoxidação as membranas sofrem alterações na fluidez e na permeabilidade, resultando em perda na homeostase e morte celular (37, 38).

Durante a lipoperoxidação, o $LOOH$ pode sofrer degradação catalisada por metais de transição e produzir ainda mais radicais reativos que irão

continuar a reação em cadeia e, na presença de metais ou íons transitórios, como o ferro (Fe), produzem outros compostos reativos gerando hidrocarbonetos de cadeia curta (etano, pentano), aldeídos (malondialdeído) e outros produtos altamente citotóxicos. O malondialdeído (MDA) é um composto reativo que modifica moléculas biológicas, levando à uma resposta autoimune (80, 70, 76).

2.4 ESTRESSE OXIDATIVO

O Estresse Oxidativo é originado de processos reativos que se manifestam no indivíduo em forma de estresse emocional, químico, físico e infeccioso, alterando a estrutura celular e, por conseguinte, aumentando o risco de patologias se não forem controlados pelos compostos antioxidantes (81).

Em condições normais, as espécies reativas de oxigênio geradas são detoxificadas (depuradas, inativadas) por antioxidantes presentes no organismo, existindo um equilíbrio entre esses compostos. Porém, através de uma superprodução de espécies reativas de oxigênio (exacerbação) ou inadequada produção ou absorção das moléculas antioxidantes, esse equilíbrio será rompido ocorrendo o dano nos componentes vitais, como DNA, proteínas e lipídios, que levará a células a interações não específicas e a produção de uma série de eventos, estabelecendo-se a doença (81, 82, 70).

Desta forma, sempre que a superprodução das espécies reativas for excessiva e o sistema de defesa antioxidante, insuficiente, o equilíbrio rompido vai gerar o estresse oxidativo, apontado como o principal causador ou agravante de enfermidades (82).

Dentre os vários fatores que modulam este equilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, destaca-se a dieta. Efeitos positivos e supressores de espécies reativas têm sido atribuídos aos compostos bioativos contidos nos alimentos de origem vegetal. Os incontestáveis benefícios para a saúde associados ao consumo de frutas e hortaliças devem-se, em parte, à presença de antioxidantes nestes alimentos (83).

Estudos versam que, com o adequado consumo destes compostos, pode haver uma redução considerável do risco de inúmeras patologias que acometem a população mundial (81, 84, 82).

2.5 DEFESAS ANTIOXIDANTES

O excesso de radicais livres no organismo é combatido por antioxidantes produzidos pelo corpo ou absorvidos da dieta. A produção contínua de radicais livres durante os processos metabólicos levou as células a desenvolverem mecanismos de defesa que passaram a controlar os níveis de radicais livres, impedindo a indução de danos (16).

Essas defesas configuram a resposta da evolução à inevitável existência de radicais de oxigênio em condições de vida aeróbia. Os antioxidantes atuam em diferentes níveis na proteção dos organismos: o mecanismo primordial de defesa antiradicalar, é impedir a formação de RL, principalmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre. Além disso, são capazes de interceptar os RL gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poliinsaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular (85, 86).

O antioxidante pode ser denominado de *scavenger*, quando é capaz de neutralizar a ação dos RL, na fase de iniciação ou de propagação da LPO (Lipoperoxidação), transformando um RL em outro menos reativo, ou *quencher*, quando o composto antioxidante conseguir neutralizar completamente o RL pela absorção de toda a energia de excitação (85, 87).

Segundo Nordberg & Arnér (75), o sistema antioxidante celular pode ser dividido em enzimáticos e não enzimáticos.

2.5.1 Sistemas de Defesa Enzimáticos

As enzimas: Catalase, Glutathione peroxidase (GPX), Superóxido dismutase (SOD), Glutathione reductase (GR) e Glutathione-S-transferase (GST), fazem parte do sistema antioxidante endógeno, sendo produzidas pelo organismo para proteger contra os danos oxidativos causados pelas espécies reativas.

2.5.2 Sistemas de Defesa Não Enzimáticos

Os componentes celulares não estão totalmente protegidos por mecanismos endógenos, e é bem estabelecido que os antioxidantes obtidos dos alimentos sejam indispensáveis para a defesa apropriada contra oxidação e, portanto, passam a desempenhar importante papel na manutenção da saúde (70). O sistema de defesa não enzimático inclui, especialmente, os compostos antioxidantes de origem dietética destacando-se o ácido ascórbico (vitamina C), o α -tocoferol, β -caroteno e, em especial, os fitoquímicos, que tem em seus compostos, grupos com reconhecida ação contra as moléculas causadoras do estresse oxidativo (3, 87, 1).

Os vegetais, além de conter nutrientes essenciais e micronutrientes, contribuem com os compostos presentes nas folhas, frutos, películas, e sementes que, a partir de sua estrutura química, promovem uma ação variada no organismo (3). O perfil de compostos presentes em frutas e hortaliças depende do tipo, variedade e grau de maturação da planta, bem como das condições climáticas, manejo de solo e cultivo (87).

2.5.2.1 Fitoquímicos

O termo fitoquímico, refere-se a um grupo muito amplo de compostos, conforme ilustrado na figura 6, os quais são produzidos e se acumulam nas plantas. De acordo com Prior (88) muitos destes compostos possuem atividades biológicas potentes em mamíferos, embora alguns possam apresentar efeitos tóxicos quando ingeridos em altas doses.

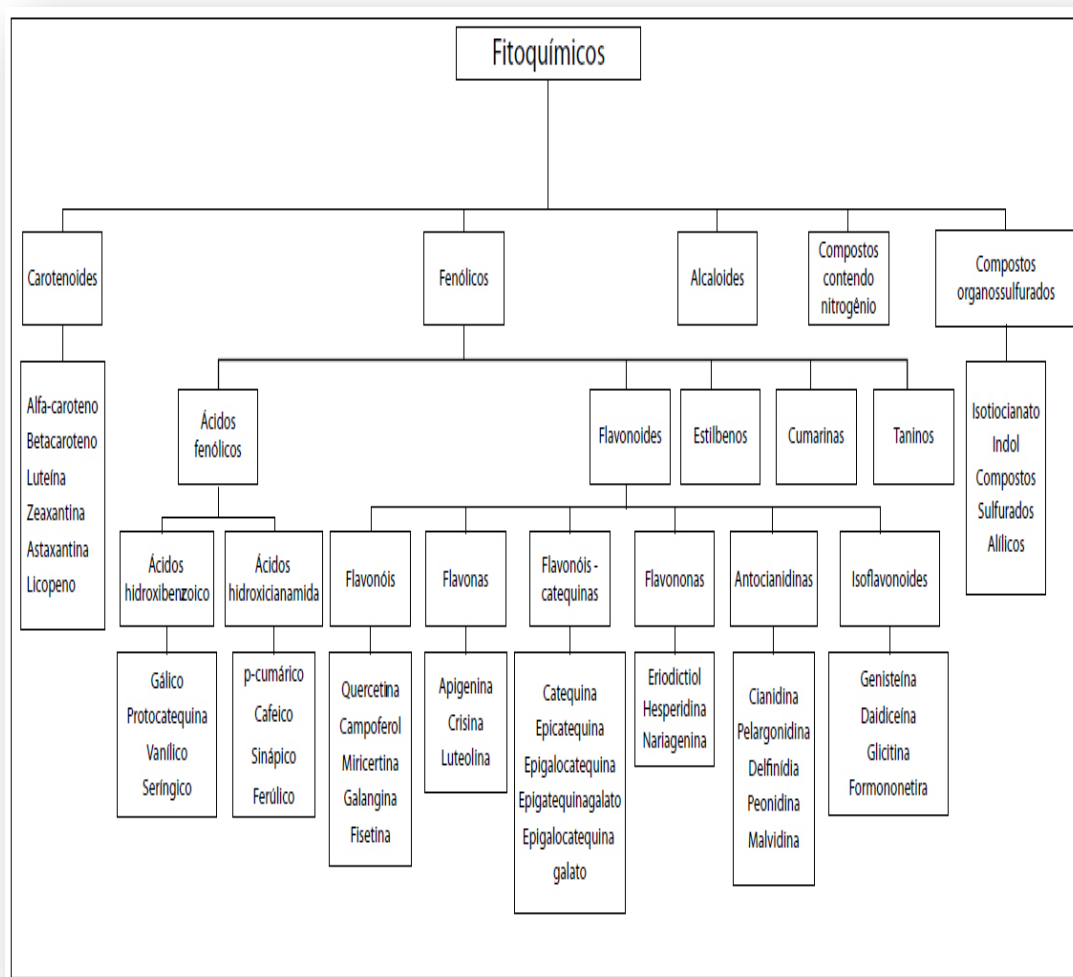


Figura 6 - Fluxograma da Classificação dos Fitoquímicos (89)

O interesse nos fitoquímicos advém de estudos epidemiológicos indicativos de que uma dieta rica em frutas e hortaliças, cereais integrais e leguminosas possam trazer benefícios à saúde, contribuindo como agentes preventivos de desenvolver determinadas doenças crônico-degenerativas (3, 4, 5, 87), o que é reforçado pela correlação positiva entre a atividade antioxidante total e seu conteúdo, constatada em ensaios experimentais (90, 91) nestes alimentos.

Estes antioxidantes exógenos são exclusivamente produzidos por plantas; distribuindo-se em grupos solúveis em água, vitamina C, e os lipossolúveis como as vitaminas A e vitamina E. Em geral os alimentos contêm antioxidantes naturais que podem seqüestrar radicais livres (89). Estudos têm indicado que substâncias fenólicas, tais como flavonóides e ácidos fenólicos, são consideravelmente mais potentes antioxidantes que a vitamina C e a vitamina E (3, 4, 92).

2.5.2.1.1 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são considerados os mais importantes entre os antioxidantes naturais pelo reconhecido potencial antiradicalar de seus diversos componentes (90; 93). Estão extensamente distribuídos na natureza e são produtos secundários de plantas, isto é, produtos que não apresentam uma função direta nas atividades bioquímicas primárias, responsáveis pelo crescimento, desenvolvimento e reprodução (89).

Estes compostos estão envolvidos na adaptação a condições de estresse ambiental e servem como mecanismos de defesa contra patógenos, parasitas e predadores, contribuindo também para a coloração das mesmas. Na dieta, exercem função antioxidante no organismo, protegendo contra os danos oxidativos (4). Entre estes, estão os ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, cumarinas e taninos. (90, 4, 89).

a) não-flavonóides

Os compostos fenólicos não-flavonóides correspondem:

- Aos ácidos hidroxibenzoicos aos compostos fenólicos mais simples, como:(p-hidroxibenzóico, protocatéico, vanílico, gálico e siríngico), demonstrados na figura 7:

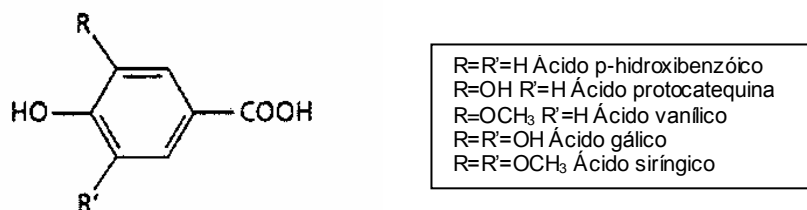


Figura 7 - Estrutura química dos derivados dos ácidos hidroxibenzóicos (90)

Que são encontrados comumente em uvas, morangos, nozes, cereais e sementes leguminosas. Atuam como potenciais agentes antioxidantes e estudos reportam sua ação preventiva em processos degenerativos cardiovasculares, além de atividade contra alguns componentes químicos mutagênicos (90). Estudos recentes demonstram uma marcante ação quimiopreventiva, antiviral e antibacteriana de alguns destes compostos (94).

➤ Aos ácidos cinâmicos, ou hidroxicianamida e seus derivados, compreendem uma estrutura química com cadeia lateral insaturada (C₆—C₃), com um anel aromático com uma cadeia carbônica constituída por três carbonos ligados ao anel (figura 8).

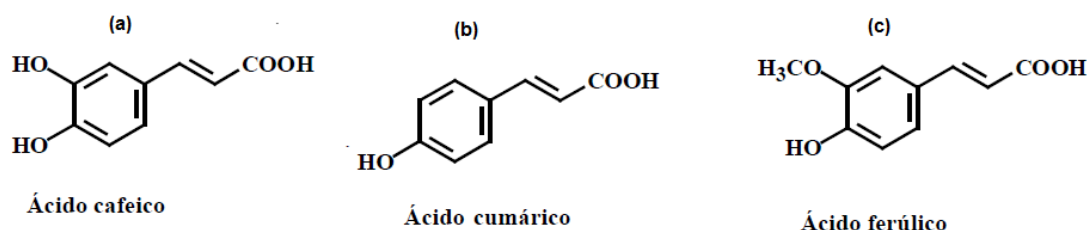


Figura 8 - Estrutura química dos ácidos cinâmicos (a) ácido cafeico; (b) ácido p-cumárico; (c) ácido ferúlico (95)

Neste grupo estão representados os ácidos cafeico, *p*-cumárico, ferúlico, os quais estão presentes nas plantas usualmente na forma esterificada, glicosilada ou ligada às proteínas (94).

Geralmente estão presentes em aveia, trigo, arroz, amendoim, maçã, tomate, milho, alcachofra, café, entre outros e apresentam a função de proteger

e evitar a oxidação destes vegetais, já que esses alimentos se oxidam rapidamente. Os ácidos fenólicos, caféico e ferúlico, demonstraram alto potencial inibitório contra células proliferativas de câncer de mama (94, 96, 99).

Azuma et al (97), relatam que os ácidos fenólicos, como o ácido ferúlico, caféico e galico, possuem efeitos inibitórios da carcinogênese no intestino grosso, fígado, língua e sistema nervoso.

b) flavonoides

Os compostos fenólicos apresentam distribuição bastante diversa nos vegetais, dependendo da classe, família e outros fatores interferentes (89). A estrutura química consiste de dois anéis aromáticos (anel A e B) unidos por três carbonos e um átomo de oxigênio C6-C3-C6 que formam um anel heterocíclico (anel C) oxigenado, denominado núcleo flavano (figura 9). As variações na substituição deste anel C resultam nas diferentes classes de flavonoides (95). Assim, estes compostos compartilham a mesma estrutura primária e, conseqüentemente, de algumas atividades biológicas, embora, devido a certas modificações estruturais, apresentem propriedades distintas (98).

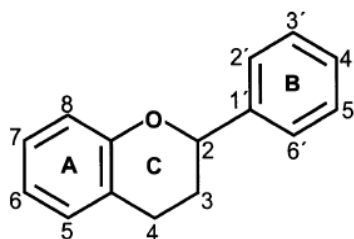


Figura 9 - Estrutura química genérica dos flavonoides com núcleo flavano (98)

Ensaio biológicos destacam os efeitos relacionados com a ingestão destes e sua atividade antioxidante, antimicrobiana e anticarcinogênica minimizando os danos oxidativos gerados por RL (100). Outros efeitos incluem as propriedades antialérgica, antitrombótica, cardioprotetiva, antiaterogênica e vasodilatadora (101). Há evidências de que compostos fenólicos encontrados

em vinho tinto, uvas e chás possam inibir a oxidação *in vitro* da LDL (lipoproteína de baixa densidade) (102).

Os flavonoides são encontrados em maior quantidade em uvas, vinho, alho, mirtilo, maçã, chá verde e chá preto. Nos últimos anos, estes compostos vêm sendo alvo de pesquisas, por participar, com outros compostos fenólicos, de atividade supressora e preventiva na etiologia de diversas patologias, com sua ação comprovada de inibidora da agregação plaquetária (102), hipoglicemiante, anti-histamínica, anti-hepatotóxica, antiulcerogênica, antiviral, anti-inflamatória e antimicrobiana (102, 103).

O efeito analgésico dos compostos fenólicos, em especial, dos flavonoides, tem sido mencionado. Há relatos de casos com alívio da ação dolorosa ocasionada por picadas de cobras e insetos, queimaduras ou cortes, a partir da utilização de extratos contendo flavonoides. O mecanismo provável seria a inibição das fosfolipases e ciclooxigenases (98, 104), o que levaria as prostaglandinas a diminuir a sensibilização de terminações nervosas nos tecidos periféricos, que são sítios comuns de dor e de inflamação.

As propriedades oncoprotetoras de antioxidantes endógenos têm sido documentadas em estudos epidemiológicos e estudos *in vitro* (105) e o aumento da resposta imune contra células tumorais, através da indução de interferons tem sido determinada pela ação dos compostos fenólicos (105, 106). Além disso, os flavonoides interferem nas vias reguladoras da célula, incluindo divisão celular, metabolismo, apoptose, transcrição e reparo de genes nas mutações, transmissão neuronal, inflamação, estresse oxidativo e resposta ao estresse (106).

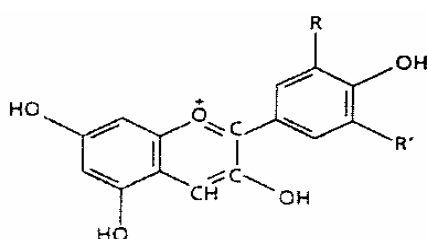
Em relação ao mecanismo anti-inflamatório, os flavonoides impedem a degradação do tecido conjuntivo por sua ação neutralizadora de RL. Alguns destes possuem ação sobre a hialuronidase, que é uma enzima envolvida no processo inflamatório e tem a capacidade de hidrolisar gliconas do tecido conjuntivo. A inibição destas, a partir da ação dos flavonoides, acontece porque

esses polifenóis se ligam ao sítio ativo da enzima, competindo com o substrato (107, 108).

Vários estudos têm relacionado o consumo de vegetais como semente de cacau, feijões, amêndoas, nozes, condimentos, frutas e bebidas, como o vinho tinto, o chá preto e o verde; as sementes como as de tamarindo, amendoim, canola, gergelim, linhaça e girassol, (4, 109) com ação contra espécies radicalares.

As frutas, principalmente as que apresentam a coloração vermelha ou azul, são descritas como as mais importantes fontes de compostos fenólicos em dietas alimentares. Essas cores são características das antocianinas (figura 10), que se encontram normalmente associadas a açúcares, formando antocianidinas (89), tendo como estrutura básica o cátion 2-fenilbenzopirílio, também denominado flavílio (110).

As antocianinas pertencem à classe dos flavonoides, sendo descritas como um dos mais importantes grupos de pigmentos, solúveis em água, contidos nos vegetais, similarmente as betaínas e os carotenoides (111, 89). A coloração característica de plantas que as contém, vai desde o rosa, laranja, púrpura, violeta e azul das pétalas de flores e de frutos dos vegetais superiores (90, 111, 89).



R=R'=H	Pelargonidina (vermelha)
R=OH R'=H	Cianidina (vermelha)
R=OCH ₃ R'=H	Peonidina (púrpura)
R=R'=OH	Delfinidina (violeta)
R=OCH ₃ R'=OH	Petunidina (violeta)

Figura 10 - Estrutura genérica das antocianinas (90)

Entre os efeitos específicos destes compostos, descritos na literatura, estão as ações antimicrobiana, antiinflamatória e vasodilatadora (90; 112; 113). Nas plantas, apresentam funções de defesa aos agentes externos como a luminosidade excessiva, temperatura e umidade e aos fatores internos, os

quais contribuem para a síntese e diferenças genéticas, de nutrientes e de hormônios (94).

Na dieta humana, encontram-se comumente nos vinhos tintos, em certas variedades de cereais e vegetais, dentre os quais o rabanete e a beterraba, e abundantes nas vermelhas de coloração intensa como mirtilo, morango, uva, jabuticaba e ameixa, entre outros (90).

c) taninos

São compostos polifenólicos, oriundos do metabolismo secundário, presentes na maioria das plantas. Sua concentração nos vegetais é dependente de fatores regionais, época de coleta, clima e solo (114, 115).

São encontrados vastamente na dieta e alguns efeitos indesejáveis tem-se atribuído a estes compostos, pela capacidade que possuem de se unir a proteínas inativando-as e a alguns minerais dietéticos essenciais, tornando-os indisponíveis ou parcialmente disponíveis para absorção (116). Apesar disso, esses polifenóis exercem importante efeito protetivo no desencadeamento de doenças degenerativas (90, 112, 89)

Os taninos são polímeros de alto peso molecular, agrupados de acordo com suas características estruturais e propriedades químicas, conforme demonstrado na figura 11.

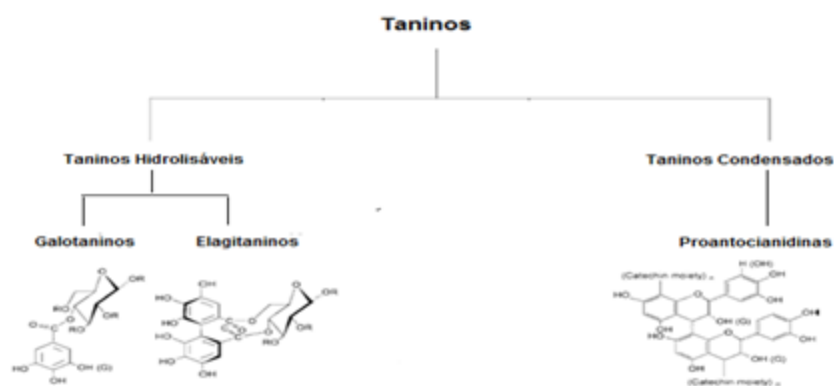


Figura 11 - Estrutura química dos Taninos (117)

Os taninos podem ser divididos em duas classes bem definidas: os taninos hidrolisáveis, que compreendem os polímeros de ácido elágico ou gálico, presentes em frutas, nozes, amêndoas, uvas, entre outros (118, 89, 119) e os taninos condensados, que compreendem os polímeros de catequinas, presentes em frutas, verduras, nozes, sementes e flores (90).

- Taninos hidrolisáveis

Os taninos hidrolisáveis se dividem em galotaninos, que produzem ácido gálico e em elagitaninos, que produzem ácido elágico (figura 12). Galotaninos são ésteres hidrolisáveis simples encontrados em abundância em folhas e frutos dos vegetais. Os elagitaninos estão presentes em muitas plantas utilizadas na forma de ervas medicinais, na alimentação e na fabricação de bebidas. Nas plantas, os taninos podem ser encontrados em raízes, flores, frutos, folhas, cascas e caule. Os taninos hidrolisáveis constituem o maior grupo de taninos conhecidos e podem ser encontrados em alimentos como avelã, nozes, romã, pêsego caqui, frutas vermelhas e vinho (90, 120). Formam-se a partir do metabolismo do ácido gálico os quais se unem com açúcares (principalmente a aglicana) (121, 114, 117).

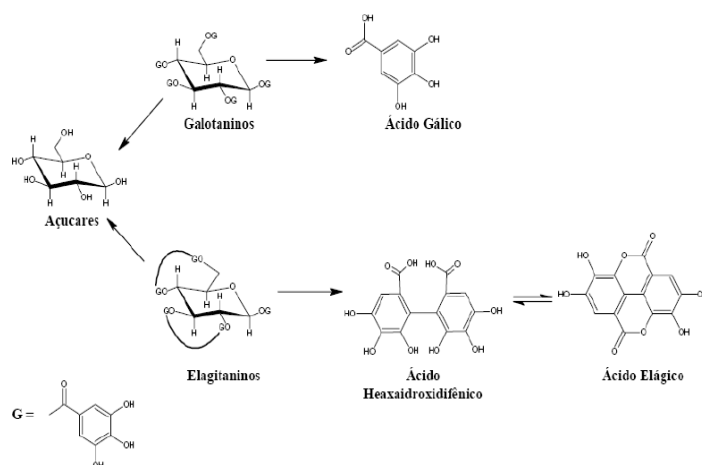


Figura 12 - Estruturas de Taninos Hidrolisáveis (114)

Esses compostos contribuem para o sabor adstringente em alimentos e bebidas, em especial em vinhos tintos, chás e frutas verdes. Protegem as plantas contra os herbívoros e doenças patogênicas (115).

O ácido elágico é um dímero de condensação do ácido gálico, e como fenol, possui algumas propriedades deste composto. Estudos com ácido elágico e elagitaninos demonstraram propriedades inibitórias contra a replicação do vírus HIV/AIDS e herpes humano (HPV) (122), além de importante participação, com o ácido gálico, como potentes protetores nos processos degenerativos cardiovasculares intensa atividade antimicrobiana e antimutagênica (120, 123, 124).

As plantas que contêm taninos são usadas como adstringentes do tubo digestivo e em escoriações cutâneas. No tratamento de queimaduras, as proteínas dos tecidos expostos são precipitadas e formam um revestimento protetor ligeiramente antisséptico, sob o qual pode ocorrer a regeneração dos tecidos (126).

Plantas ricas em taninos também são empregadas na medicina tradicional para o tratamento de diversas enfermidades, entre as quais: diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas gastrointestinais, problemas do sistema urinário e processos inflamatórios em geral (127, 123, 124).

- Taninos Condensados

Taninos condensados ou proantocianidinas (figura 13) são compostos que sob aquecimento em soluções alcoólicas (n-butanol) acidificadas (ácido clorídrico) se auto-oxidam produzindo pigmentos vermelhos de antocianidinas. Estão presentes em plantas, vegetais e seus derivados (90).

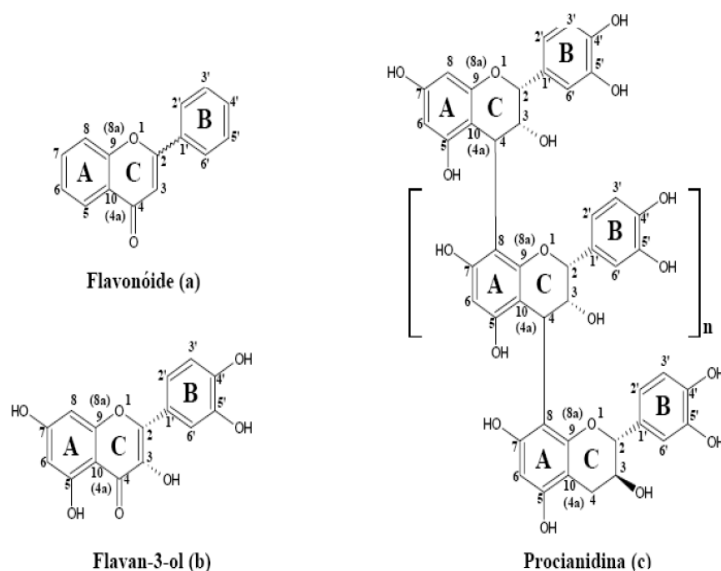


Figura 13- Fórmulas estruturais: (a) um flavanóide genérico; (b)-flavan-3-ol; (c)-procianidina (tanino condensado) (114)

Os Taninos são responsáveis pelo gosto amargo e adstringente, com importante função na constituição da cor, sabor e longevidade de bebidas e alimentos (90, 114, 125). Possuem uma estrutura química formada pela condensação de vários monômeros de unidades flavan-3-ols.

A (+)-catequina é um monômero que constitui os taninos condensados, ou proantocianidinas, assim como a (-)-epicatequina (figura 14).

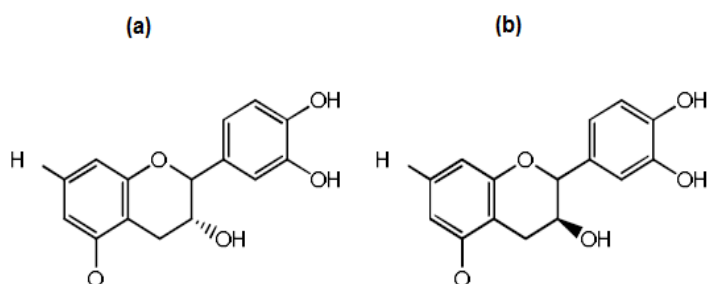


Figura 14 - Monômeros de Taninos Condensados: (a) (+) - catequina; (b) (-) - epicatequina) (114)

Suas principais fontes são as frutas e os vegetais, concentrando-se principalmente nas suas cascas, películas e seus derivados (112, 89, 128). Destaca-se na classe dos flavonóis, assim como a quercetina, também presente em uvas, vinho, alho, mirtilo, maçã, chá verde e chá preto, entre outros vegetais e seus derivados (90).

Nos últimos anos vêm sendo alvo de pesquisas, por apresentar ação antioxidante, participando com outros compostos fenólicos e flavonóis, como agente supressor e preventivo, em diversas patologias, com ação comprovada como inibidora da agregação plaquetária (123, 128), hipoglicemiante, antihistamínica, antihepatotóxica, antiulcerogênica, antimicrobiana, antiinflamatória e antiviral. Pesquisadores já relataram que este grupo de compostos pode também ter efeito anti-HIV quando ligado ao receptor CD4 (140, 122).

A (-)-epicatequina é reconhecida por ser um importante citoprotetor, tanto por ter uma atividade antioxidante intensa como também por prevenir apoptose celular, anticarcinogênese, por ajudar na manutenção das *gap junctions* entre células epiteliais (129), evitando ou prevenindo a evolução de lesões primárias para lesões malignas, no trato gastrointestinal (metástases). Ações cardioprotetoras também foram descritas na literatura (112, 123, 125).

A ação antiradicalar, agindo no sistema de defesa antioxidante ao organismo, também foi relatada e, de forma similar à catequina, pelo combate os radicais livres, com ação quelante de metais de transição tais como ferro e cobre, impedindo assim a formação de espécies reativas de oxigênio pela reação de *Fenton*. Além disso, estudos confirmam sua participação como inibidor da lipoperoxidação (130, 131).

2.5.2.1.2 Tocoferóis

De acordo com Freitas & Naves (132), a vitamina E faz parte do sistema de defesa antioxidante do organismo, desempenhando diversas ações, entre elas, a inibição da oxidação lipídica e a proteção contra o estresse oxidativo.

Também pode agir como substância protetora contra alguns tipos de patologias mais severas como no câncer de próstata e de esôfago, além de auxiliar na prevenção do envelhecimento precoce.

Tucker & Townsend (133), ainda ressaltam que a vitamina E possui importante ação como antioxidante lipofílico sendo, provavelmente, o mais importante inibidor da reação em cadeia da lipoperoxidação em organismos vivos, por suas ações contra a deterioração celular e regenerador do sistema imune.

É por meio da destruição das membranas celulares que os radicais livres são responsáveis por uma grande variedade de patologias. A vitamina E ajuda a defender as membranas celulares contra o estresse oxidativo, para a manutenção da homeostase (134). Desta forma, a ação antioxidante se deve principalmente à capacidade em doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres conforme ilustrado na figura 15 e com isso impedir a oxidação dos lipídeos.

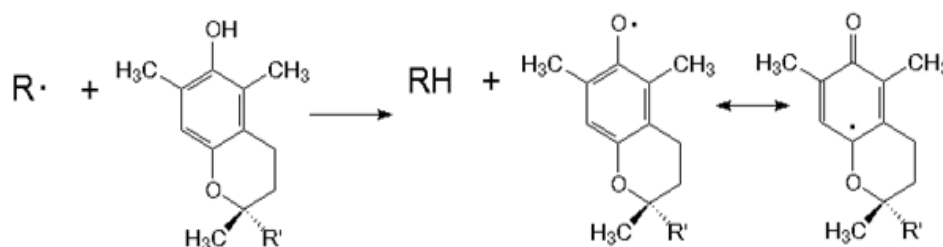


Figura 15- Mecanismo de ação antioxidativa dos tocoferóis (134)

A molécula da vitamina E está dividida em duas partes bem distintas: uma, pelo anel cromanol, com característica hidrofílica, e uma cadeia hidrofóbica, constituída de hidrocarbonetos, por meio da qual é ancorada na membrana lipídica. Em termos nutricionais, essa vitamina se refere a oito estruturas moleculares naturais de compostos que apresentam atividade antioxidante, sendo quatro tocoferóis e quatro tocotrienóis, onde as

denominações α , β , γ e δ dependem dos radicais ligados à sua estrutura base, de acordo com o ilustrado na figura 16 (134).

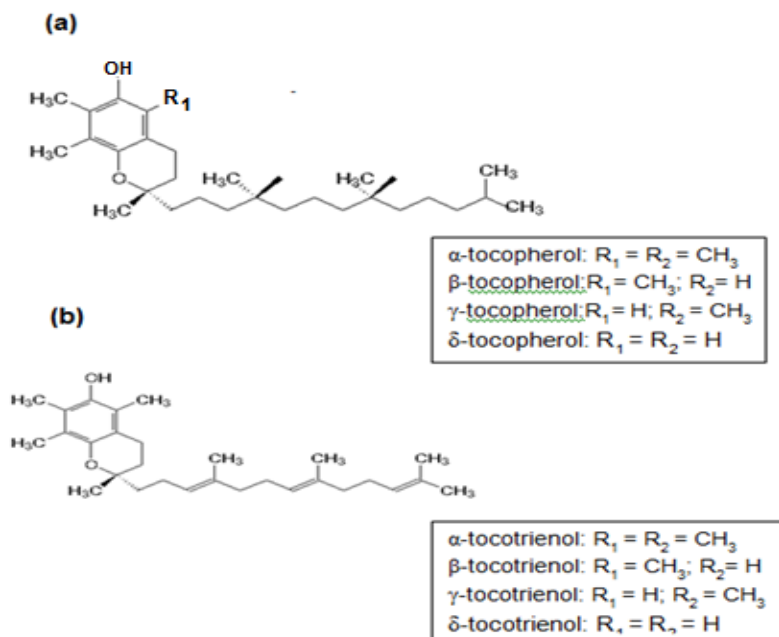


Figura 16 – Estrutura química dos tocoferóis (A) e tocotrienóis (B) (134)

De acordo com Frega, Mozzon & Bocci (135), compostos como os tocoferóis estão presentes em varias fontes de óleos vegetais e nas partes verdes das plantas, enquanto que os tocotrienóis podem ser encontrados em algumas sementes e cereais como no farelo de arroz, na cevada, no urucum e podem ainda, estar presentes no trigo, milho e em frutos oleaginosos como coco e em algumas espécies de palmeiras.

Segundo Thomas & Stocker (136), os tocoferóis apresentam potencial antioxidante diferenciados em sistemas biológicos, sendo que esta capacidade está vinculada à sua atividade biológica, inferindo ao α -tocoferol um melhor desempenho em relação aos demais componentes, seguido em atividade, pelo β , γ e δ - tocoferol.

O α -tocoferol é a forma mais abundante na natureza, e também a forma que apresenta maior atividade biológica; entretanto, por ser o mais termolábil, degrada-se rapidamente quando submetido a processos térmicos (134).

2.6 BIOMAS

A transição nutricional, decorrente da Revolução industrial nas últimas décadas foi um fator desencadeante para o aumento da ocorrência de patologias em uma população, visto que houve um maior consumo de alimentos industrializados, geralmente ricos em gordura, sódio e açúcares (16, 27, 135, 17).

Dessa forma, o baixo e inadequado consumo de frutas e hortaliças estão entre os principais fatores de risco para a aquisição de enfermidades, já que esses alimentos possuem composição rica em nutrientes capazes de evitar doenças e aumentar a expectativa de vida dos indivíduos (112).

De acordo com o IBGE (137)

Bioma é conceituado como um conjunto de vida (vegetal e animal) constituído pelo agrupamento de tipos de vegetação contíguos e identificáveis em escala regional, com condições geoclimáticas similares e história compartilhada de mudanças, o que resulta em uma diversidade biológica própria.

O Brasil possui uma flora diversificada, que é imensa, porém ainda inexplorada, constituindo-se em uma rica fonte de recursos naturais (137, 138, 139), com frutos nativos de características peculiares que apresentam propriedades terapêuticas e compostos ricos em nutrientes, trazendo, portanto, além de seus sabores exóticos, também a cura para as mais variadas doenças, compondo assim, a medicina alternativa (2).

Entretanto, o potencial existente, que é expressivo para a utilização devido à diversidade vegetal, também é desconhecido para a maioria dos indivíduos existindo o risco de que, quando conhecido, já tenham ocorrido perdas irreparáveis de materiais promissores, inclusive para a ciência e neste caso, um vasto material botânico (140, 138) que poderia conter substâncias detentoras de princípios ativos contra os inúmeros males da humanidade, entre os quais o câncer, mal de Parkinson, diabetes, transtornos cardiocirculatórios e suas conseqüências e até mesmo a AIDS, pois está acontecendo uma

degradação desenfreada na natureza, ocasionada pela característica predatória do homem (138).

Seis grandes biomas constituem a riqueza e diversidade brasileira: Amazônia; Mata Atlântica; Caatinga; Cerrado; Pantanal e Pampa (137) (figura 17) tornando o Brasil um País com a maior diversidade de flora e fauna do planeta. Essa enorme variedade de animais, plantas, micro-organismos e ecossistemas, muitos únicos em todo o mundo, deve-se, entre outros fatores, à extensão territorial e aos diversos climas do país (137).

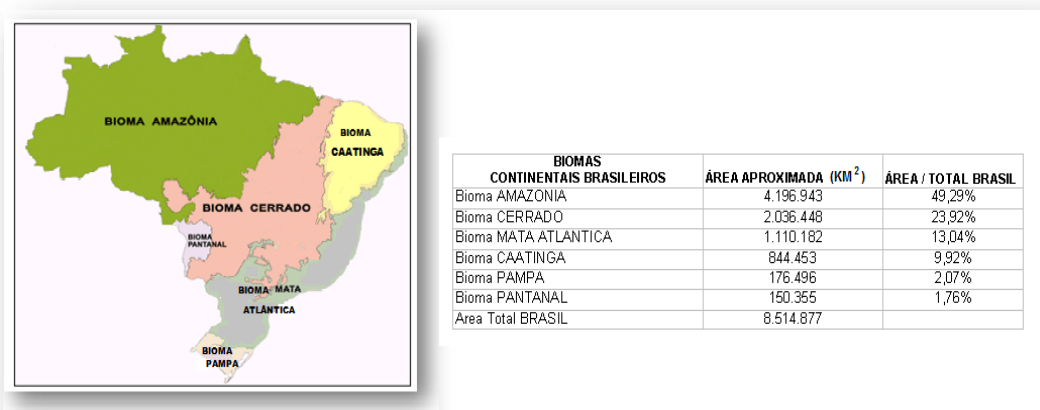


Figura 17 – Mapa dos biomas brasileiros (137)

Entre as diversidades fitofisionômicas existentes no Brasil, está o Cerrado, um dos maiores Biomas, sendo superado apenas pela Floresta Amazônica, ocupando 24% do território nacional, onde abriga a maior diversidade em savana do mundo, similar às savanas da Austrália e África; no entanto, com flora ainda mais expressiva (9, 139).

2.6.1 O Cerrado

Ocupando um amplo território no planalto central brasileiro, faz divisa ao norte com a Amazônia, com a Caatinga ao nordeste, ao sudeste com o pantanal e com a Mata Atlântica a leste. Possui uma área de 2.039.386km² de área equivalente a toda a Europa ocidental e estende-se por vários estados

brasileiros e Distrito Federal, entre eles: Minas Gerais, Goiás, Tocantins, Bahia, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Piauí (141).

O Cerrado evidencia-se em uma grande extensão territorial, posição geográfica beneficiada, condições climáticas e biodiversidade entre as espécies nativas (142). Localizado no Planalto Central e também em uma extensa área do Brasil, é nesse Bioma que se originam as três nascentes das principais bacias hidrográficas da nação: Amazônia, Paraná e São Francisco, portanto, possuindo uma localização extremamente estratégica, não apenas pela biodiversidade, mas também pela possibilidade de conservação de recursos hídricos naturais (143, 9, 144, 145).

A vegetação do Cerrado é típica, incluindo árvores e arbustos como o buriti, paineira, angico, jatobá, barueiro e ipê, que são especialmente resistentes ao clima seco, característico da região, que intercala períodos de chuva, de outubro a março, seguido por um período seco, que se estende de abril a setembro, com uma precipitação média anual de 1.500mm e temperaturas amenas ao longo do ano, oscilando entre 22 °C e 27 °C em média (146, 141, 7).

De acordo com Pires & Santos, (147) e apoiados pelos estudos de AB'Saber, (148), a distribuição espacial da diversidade das espécies pode ser remanescente de um processo histórico e dinâmico de contração e expansão das áreas de Cerrado e de florestas, que foi provocado por alterações climáticas ocorridas no passado. A biodiversidade do Cerrado é elevada, com uma vegetação que não se apresenta como um grupo fitosionômico homogêneo.

Ribeiro & Walter (149) comentam que, em função da densidade da vegetação, no Cerrado são descritas três formações, divididas em onze tipos fitofisionômicos gerais (Figura 18).

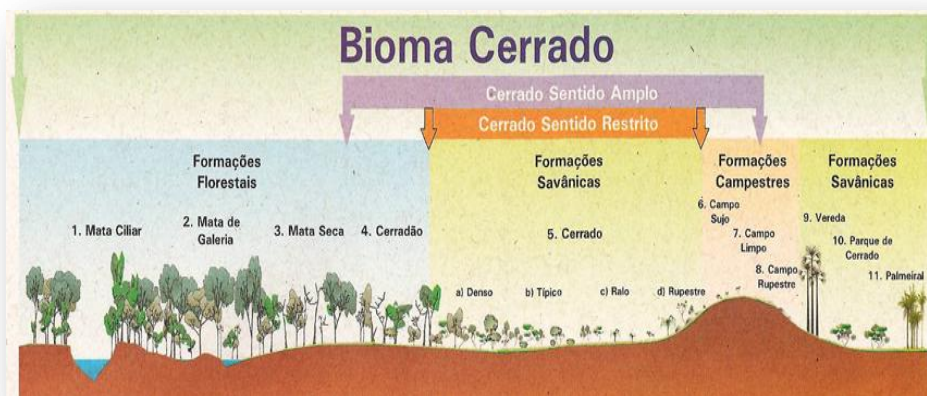


Figura 18 - Fitofisionomia do bioma Cerrado (149)

Apesar da imprecisão dos dados e da divergência entre os autores, acredita-se que existam aproximadamente 7000 espécies de plantas no Cerrado, mas esse número pode chegar a 10.000. O nível de endemismo nesse grupo é alto, chegando a 44 % (149). O grupo é comprovadamente de maior vastidão entre as plantas porque existe uma diversidade de ecossistemas que compartilham a paisagem (7) e muitas ainda servem como base para a alimentação humana e uso popular na medicação alternativa de algumas doenças, entre elas o pequi, o baru, a cagaita, o jatobá, a lobeira, a calunga, o barbatimão e uma infinidade de plantas usadas ancestralmente pelas populações regionais (7).

O conhecimento dessas comunidades associado ao uso e à aplicação das plantas medicinais desse Bioma se constitui em um patrimônio cultural de grande importância. Aproximadamente 35% das plantas do Cerrado são típicas da formação Cerrado sentido restrito; 30% de Matas de Galeria; 25% de áreas campestres e 10% ainda não estão classificadas, conforme ilustrado no gráfico abaixo, de Mendonça et al. (150).

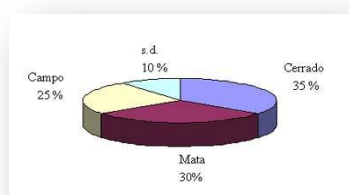


Gráfico 1 – Distribuição da fitofisionomia do Cerrado (150)

Apesar de toda esta riqueza, ao longo dos últimos anos, o Cerrado vem passando por devastações (7) e a degradação ambiental ameaça um acervo que é considerado um patrimônio genético de valor inestimável para as futuras gerações que, se atitudes não forem tomadas e efetivamente realizadas, estarão impedidas de contemplar toda essa riqueza que corre o risco de desaparecer da natureza antes mesmo que se tenha o conhecimento básico de sua biologia, figurando no cenário nacional como passíveis da ameaça de extinção ou em situação crítica (9, 151, 152).

Estimativas demonstram que os índices de devastação nesse bioma, reforçam as consequências danosas, resultando em conversão e fragmentação de espaços naturais. Cerca de 80% da área original vem sendo alterada de alguma forma, restando apenas 20% de área natural, (figura 19), sendo provável que até o ano de 2030, se medidas sustentáveis não forem tomadas, este bioma e toda a sua flora nativa, desaparecerá (9).

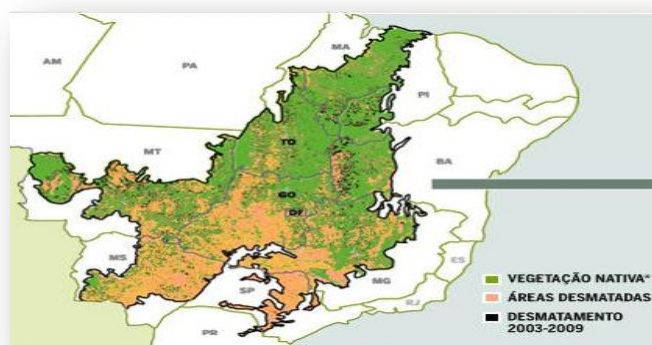


Figura 19- Mapa evidenciando destruição do Cerrado (137)

Provavelmente, as ações que mais têm contribuído para intensificar a tragédia, ambiental, são, entre outros fatores, a pecuária, que, a partir dos anos 1970 ganhou impulso espetacular; em segundo lugar, a lavoura branca, especialmente com exploração de soja e algodão e, mais recentemente, a cana-de-açúcar (9, 152).

Antes concentrada em Goiás e São Paulo, a cultura da cana-de-açúcar se expandiu para a Bacia do Pantanal e busca territórios novos, como o Triângulo Mineiro, e por último, as produções de carvão vegetal, necessário para fazer aço, entre Minas Gerais e Pará concentram a atividade (9, 7).

Aliado a estes fatores, as queimadas e a intensa exploração de produtos nativos, no comércio informal (7), completam o conjunto de ações danosas e que, em ritmo acelerado, estão subtraindo um dos mais importantes acervos do Planeta, em um palco de riquezas naturais onde o homem, por ser predador, está sendo incapaz de conciliar desenvolvimento com preservação.

Muitas espécies da flora nativa do Cerrado possuem potencial econômico (ornamental, comestível, medicinal, têxtil, madeireiro e outros). A exploração de recursos genéticos de plantas, frutos e produtos naturais direcionadas às atividades medicinais no Brasil, relaciona-se em grande parte à coleta extensiva e extrativa do material silvestre (153, 154). Apesar do volume considerável para exportação de várias espécies medicinais na forma bruta ou de seus subprodutos, pouquíssimas delas chegam em nível de serem cultivadas, mesmo que em pequena escala (143, 153, 154).

Os frutos nativos ocupam lugar de destaque no ecossistema do cerrado, pois muitos deles são comercializados e consumidos “*in natura*” ou beneficiados pelas indústrias caseiras, apresentando elevado valor nutricional. Pelas características intrínsecas e potencial econômico, destacam-se a gueroba, garioba ou guariroba (*Syagrus oleracea*), a gabiroba (*Camponesia cambessedeanana*), o pequi (*Caryocar brasiliense*), a cagaita (*Eugenia dysenterica*), a mangaba (*Hancornia speciosa*), o araticum (*Annona crassiflora*), o ingá-de-metro (*Ingá sp*), o caju-do-campo ou cajuí (*Anacardium humile*), a curriola (*Pouteria ramiflora*) e o baru (*Dipteryx alata Vog.*) dentre inúmeras outras espécies nativas (10, 155, 152).

2.7 O Baru (*Dipteryx alata* Vog.).

Nome Científico: *Dipteryx alata* Vog.

Família: *Leguminosae* (*Fabaceae*)

Divisão: Magnoliophyta (Angiospermae)

Classe: Magnoliopsida (Dicotyledonae)

Ordem: Rosales

Nomes Populares: baru, barujó, castanha-de-ferro, coco-feijão, cumaru-da-folha-grande, cumarurana, cumaru-verdadeiro, cumaru-roxo, cumbaru, cumbary, emburena-brava, feijão-coco, meriparagé, pau-cumaru.

Ocorrência: Cerrado, Cerradão e Mata Seca.

Distribuição: Amazonas, Bahia, Distrito Federal, Goiás, Tocantins, Maranhão, Piauí, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo.

Floração: novembro a maio



Figura 20 - Baru (*Dipteryx alata* Vog.) (156)

2.7.1 Considerações gerais sobre o Baru (*Dipteryx alata* Vog.)

Fruto da savana brasileira, o baru (*Dipteryx alata* Vog.) é uma espécie nativa do cerrado, que está entre as 10 mais promissoras para o cultivo. Seu plantio em áreas a serem recuperadas, pode trazer benefícios para a conservação do ambiente e preservação da espécie, que também está ameaçada pela devastação que vem sofrendo o Cerrado (145).

Ocorrendo naturalmente nos Cerradões e Matas Secas, eventualmente, o baru também pode ser encontrado na fitofisionomia Cerrado sentido restrito, sendo observado nos estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e Tocantins, Cerradões e Matas Secas em São Paulo e também no Triângulo Mineiro (9, 145, 157).

De acordo com Ribeiro, Sano, Brito & Fonseca (157), o baru (*Dipteryx alata* Vog) é uma espécie nativa bastante promissora, já que sua utilização é bastante variada (polpas *in natura* e amêndoas são veiculadas para a alimentação animal, humana e uso medicinal ou farmacêutico). Portanto a exploração extrativa desta espécie pode complementar a renda familiar através da comercialização de seus produtos.

A árvore (barueiro) possui grande porte, chegando a medir até 25 m de altura e 70 cm de diâmetro (figura 21), com uma vida útil em torno de 60 anos.



Figura 21 - A árvore do baru (*Dipteryx alata* Vog.) (baruzeiro) (158)

Segundo Silva, (159), o barueiro em condições de cultivo, inicia a sua produção frutífera a partir de seis anos e produz grande quantidade de frutos, os quais abrigam uma semente por fruto. Essa semente, ou amêndoa de baru, é consumida por humanos e animais da região. Os frutos do barueiro, quando maduros, costumam cair com facilidade da árvore, sendo fartamente consumidos pelos rebanhos criados extensivamente, sendo aproveitados como excelente complemento alimentar no período de estiagem (157, 159).

Com safra intermitente, apresentando variações bruscas de intensidade de produção de um ano para o outro, a utilização comercial dessa espécie, alcança níveis de boa produtividade a cada dois anos. Uma árvore adulta chega a produzir em média, 150 kg de fruto. Dos frutos, podem ser aproveitados a polpa, o endocarpo e a amêndoa (11, 159).

A época da floração do baru, (Figura 22) e a frutificação, variam de acordo com a região, ocorrendo de novembro a fevereiro, e excepcionalmente, em outras épocas. O período de formação de frutos ocorre de janeiro a

outubro, sendo que o pico de queda dos frutos maduros está disponível para coleta das sementes nos meses de julho a outubro, dependendo da localidade (11, 157, 159).



Figura 22 - Floração do baru (*Dipteryx alata* Vog.) (160)

De acordo com Nogueira & David (161), a maturação fisiológica da semente do baru ocorre com o início da queda dos frutos e das folhas, aproximadamente no mês de setembro.

2.7.2 O fruto do baru (*Dipteryx alata* Vog.)

Com intensa frutificação na fase adulta, produz frutos do tipo drupa, levemente achatada e de coloração marrom, com uma única semente ou amêndoa em forma ovoide, (figura 23).



Figura 23 – O fruto do baru (*Dipteryx alata* Vog.) (162)

O tamanho destes frutos pode variar muito entre as regiões, em função das condições de solo, água e genética da planta e pesam em média 25g (sendo 30% polpa, 65% endocarpo lenhoso e 5% semente). A polpa do barú constitui importante fonte de alimento para a fauna nativa (pequenos mamíferos, roedores, pássaros e morcegos) e para o gado que se alimenta dela (10, 11).

2.7.3 A amêndoa do baru (*Dipteryx alata* Vog.)

De acordo com a classificação botânica, as sementes oleaginosas estão classificadas em duas classes: nozes verdadeiras e sementes comestíveis. As nozes verdadeiras são descritas como frutas secas, espessas, podendo conter espinhos recobrimo a semente (nozes, noz pecã, castanha-do-pará, castanha de caju, pistache, avelã, macadâmia e castanhas em geral), enquanto que as sementes comestíveis, apesar de possuírem características semelhantes às nozes, apresentam uma classificação botânica diferente. Neste grupo se destacam o amendoim e o baru (132, 163).

A amêndoa do baru é uma semente comestível que apresenta tegumento ou película em cor brilhante, em tons que podem variar desde o marrom ao vermelho escuro (figura 24) (164, 165, 166).



Figura 24- Fruto e Amêndoa do baru (*Dipteryx alata* Vog.)

Fonte: Arquivo pessoal da autora.

Com características oleaginosas, a amêndoa do baru apresenta uma rica composição em micro e macro nutrientes entre os quais: taninos, ácido fítico ($1073,6 \pm 114,9$ mg/100g e $472,2 \pm 12,5$ mg/100g, respectivamente) concentrações de zinco, cobre, ferro, fósforo e magnésio (4.2 ± 0.4 ; 1.4 ± 0.1 ; 4.7 ± 0.3 ; 273.4 ± 8.8 ; 139.0 ± 6.0 mg/100g), respectivamente, (167), tocoferóis, fibras, lipídeos e proteínas (132, 168).

O óleo, que contém cerca de 80% de ácidos graxos insaturados, apresenta a predominância dos ácidos graxos oleico (ômega-9) e linoleico (ômega-6) (132,169). Em índices de saponificação e de iodo, esse óleo se assemelha ao óleo de amendoim e do azeite de oliva. Os teores de lipídeos (45%) e de proteínas (29,6%) contribuem para o valor energético de aproximadamente 500 kcal/100g (168).

A constituição em fibras insolúveis, em torno de 12% na amêndoa de baru (169, 170), do ponto de vista funcional é favorável à saúde, já que fibras insolúveis estão associadas ao aumento do bolo fecal e a prevenção de enteropatias, em especial do câncer de colón (171).

Enquanto a polpa deste fruto pode ser consumida *in natura*, a amêndoa necessita passar pelo processo de torrefação devido à presença fatores antinutricionais (12, 172, 13).

2.7.4 Utilização do baru e seus subprodutos

A utilização do baru e de seus produtos e subprodutos são bastante variados. De forma diversa, a polpa *in natura* e as amêndoas são veiculadas para a alimentação animal, humana e uso medicinal ou farmacêutico, sendo utilizados também para a obtenção de farinha, leite, óleo e a pasta (tipo manteiga). O endocarpo lenhoso é utilizado para a obtenção de carvão (combustível), ácido pirolenhoso e alcatrão (uso industrial) e também para utilização em artesanato (economia informal) (12).

Da polpa do baru, pode ser retirado material para o fabrico de licor e como é rica em calorias, é utilizada largamente para o consumo do gado e animais domésticos durante a estação seca, quando a disponibilidade de forragem natural é pequena (10).

O potencial medicinal, das amêndoas do baru é reconhecido na medicina alternativa, possui ação reguladora do ciclo menstrual, tônico muscular, antiespasmódico e antirreumático (173). Em paisagismo, tem excelente potencial para recuperação de áreas degradadas (Sano, Ribeiro, & Brito, 2004) e sua madeira pode ter utilização na indústria madeireira por apresentar alta densidade, ser compacta e durável, resistindo ao apodrecimento, sendo própria, inclusive, para a construção civil e naval (136).

2.7.5 Fatores antinutricionais

Biodisponibilidade dos nutrientes relaciona-se à proporção de nutrientes ingeridos e que serão efetivamente aproveitados e convertidos na forma ativa e na proporção suficiente para suprir as demandas fisiológicas do organismo (174, 175, 176). Em geral, alguns vegetais podem apresentar em seus constituintes intrínsecos, algumas substâncias sem valor nutritivo e que, além disso, ainda podem interferir negativamente, diminuindo este valor e são denominados de fatores antinutricionais, os quais podem ser classificados em substâncias tóxicas e os antinutrientes (12, 177).

Por definição, substâncias tóxicas, são aquelas capazes de produzir lesões teciduais, com alterações fisiológicas resultando em processos patológicos, podendo causar inclusive a morte de pessoas ou animais se ingeridas, enquanto que os antinutrientes são aqueles que possuem a ação de impedir a disponibilidade de determinados nutrientes, que geralmente são os minerais e as proteínas. No entanto, estas substâncias, ao mesmo tempo, também podem exercer fatores positivos como as ações anticancerígena, anti-inflamatória e antioxidante (178, 175).

Devido ao conteúdo de tanino, ácido fítico e inibidor de tripsina o baru tende a ser associado aos fatores antinutricionais, porém, estudos comprovam que o inibidor da tripsina pode ser inativado pelo calor, fator que determina a necessidade de torrefação das amêndoas (12, 175). A torrefação é, portanto, um tratamento térmico que melhora a digestibilidade das proteínas e inativa antinutrientes, promovendo a evaporação de água. É durante este processo que enzimas são inativadas e a estrutura física de amêndoas ou grãos sofrem modificações, favorecendo o descasque, a moagem e o refino (12, 175, 13).

2.8 O PROCESSO DE TORREFAÇÃO

A torrefação é um processo antigo, ainda utilizado atualmente, com algumas modificações. Existem vários modelos, incluindo sistemas convencionais similares àqueles utilizados para secagem de cereais e sistemas com aplicação de calor úmido (179). Segundo Madrid, Cezano & Vicente (80), a diferença entre tais métodos está na forma de aplicação de calor (seco ou úmido) e na existência ou não de laminação ou expansão. No entanto, sua forma mais simples consiste na aplicação direta e intensa de calor seco, por um período pré-estabelecido. A torrefação é, portanto, um tratamento térmico que pode melhorar a digestibilidade das proteínas, inativar antinutrientes, formar compostos aromáticos, causar escurecimento e evaporação de água.

O tratamento térmico está sujeito a reações que podem ser afetadas por fatores como o tempo, temperatura aplicada no processo, umidade e pH, além dos precursores dos compostos aromáticos (*flavor*). É durante este processo que enzimas são inativadas e a estrutura de amêndoas ou grãos sofrem modificações, favorecendo o descasque, a moagem e o refino. Ocorre a perda natural de água e o material incinerado (cinzas) sofre carbonização da matéria orgânica, acarretando aumento no teor destes componentes (181, 182).

Em castanhas e sementes com alto teor de carboidratos, a torrefação contribui positivamente para a formação de produtos antioxidantes (melanoidinas) resultantes da reação de Maillard, que atuam compensando os

efeitos negativos da oxidação e melhorando a estabilidade termo-oxidativa (183).

Entre os compostos aromáticos formados durante a torrefação, os predominantes são as pirazinas, que são compostos aromáticos heterocíclicos e em alimentos podem se originar de três fontes: as naturais; aquelas formadas por microorganismos e as que são formadas por reações químicas durante o processo térmico. De acordo com Beckett (179), há um aumento gradual destes compostos, durante a ação do calor, porém, se ocorrer a ultrapassagem normal do ponto ideal no processamento térmico, haverá a diminuição da concentração destes, por volatilização.

A torrefação, apesar de não causar decomposição em sementes oleaginosas, predispõe a ação de enzimas (lipases), a eliminação da água, a degradação dos antioxidantes endógenos e a danificação das estruturas celulares de armazenamento de lipídeos, favorecendo o ataque do oxigênio e predispondo lipídeos e outros constituintes à oxidação. Pode ocorrer também a volatilização de alguns compostos como ácido acético, propiônico, butírico. No entanto, a concentração de ácidos graxos não voláteis, como oxálico, cítrico, tartárico, succínico e láctico, não sofrem influência durante a torrefação (184, 181).

Desta forma, produtos de maior estabilidade são formados devido à reação de oxidação, retardando assim, a decomposição (185). Além disso, em amêndoas, nozes e sementes comestíveis, constituintes como os flavonóides, tocoferóis e a lignina das películas, contribuem para a estabilidade e proteção da matéria-prima, quando submetida a fontes de calor, preservando-a de eventuais perdas nutricionais. Outros fatores interferentes seriam, tempo, temperatura e atmosfera (185).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar os compostos bioativos, determinar a capacidade antioxidante em amêndoas de baru (*Dipteryx alata* Vog.) e avaliar a estabilidade do produto quando submetidas ao processo de torrefação.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a composição centesimal das amêndoas do baru (*Dipteryx alata* Vog.);
- Identificar e quantificar nas amêndoas de baru, os compostos fenólicos totais e antocianinas;
- Avaliar a atividade antioxidante das amêndoas de baru;
- Verificar o efeito do processo de torrefação na composição dos bioativos e na atividade antioxidante das amêndoas de baru;
- Determinar o conteúdo de tocoferóis e o perfil de ácidos graxos das amêndoas de baru.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Amostragem e preparo das amostras

As amêndoas obtidas no comércio local de Brasília-DF, provenientes de três regiões do Cerrado (MT, MG e GO), foram previamente selecionadas, misturadas, homogeneizadas e distribuídas aleatoriamente, (186), em dois grupos distintos: amêndoa crua com película e amêndoa crua sem película. Parte das amêndoas destes dois grupos foi separada e o restante das amêndoas, com e sem películas, foi submetida à torrefação a 150°C, em estufa com circulação de ar por um período de 45 minutos. Posteriormente, foram trituradas em moinho marca-FRITSH e acondicionadas em embalagens de polietileno transparente e armazenadas a -80°C até o início das análises (figura 25).



Figura 25- Procedimento experimental com amêndoas do baru (*Dipteryx alata* Vog.).

Fonte: arquivo pessoal da autora.

Todas as análises foram realizadas em triplicata, seguindo a metodologia correspondente a cada ensaio determinado e os resultados obtidos em base seca. As análises da composição físico-química foram realizadas no laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Ciência de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas (DCA/UFPeI) e as análises cromatográficas foram realizadas no Laboratório de Cromatografia do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (DCTA/FAEM/UFPEL), sendo que os dados desta pesquisa foram analisados em conjunto com Departamento de Biologia Celular do Instituto de Biologia da Universidade de BRASÍLIA-UNB.

4.1.2 Reagentes

Os padrões cromatográficos de compostos fenólicos foram obtidos da Sigma (St. Louis, MO): ácidos hidroxicinâmicos, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido p-cumárico, hidroxibenzoico, ácido gálico, ácido elágico, p-hidroxibenzóico; flavonóides: quercetina, kaempferol, miricetina e flavanóis (+) catequina, (-) epicatequina, todos com pureza (96-99%) HPLC.. Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-croman-2-carboxílico ácido), adquirido de Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). Os reagentes: Metanol p.a e metanol HPLC foram obtidos da Vetec (Vetec bem-química Ltda, Brasil). O DPPH (2,2-difenil-1-picrylhidrazil), foi adquirido da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). Os padrões de Tocoferóis: α -, δ - e γ -tocoferol, obtidos da Sigma Aldrich (Steinheim, Germany) com 90-99% de pureza. Todos os demais reagentes utilizados da composição de fases móveis foram de elevado grau de pureza (grau HPLC) e passaram por filtração em membranas PTFE de 0,45 μ m da Milipore (Billencia, EUA). Para as demais análises e extrações foram utilizados reagentes grau p.a.

4.2 MÉTODOS

4.2.1-Determinações analíticas

As análises físico-químicas foram realizadas de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (187) segundo normas da AOAC(188, 189). O pH foi analisado através de método potenciométrico a 20°C; a acidez por titulometria com NaOH 0,1N, expressa em % de ácido oleico. Na avaliação da composição química foram realizadas as análises de umidade pelo método gravimétrico, com secagem em estufa a 105°C até peso constante; cinzas por análise gravimétrica após incineração da amostra em mufla a 550°C; lipídeos (extrato etéreo em Soxhlet) pela extração com hexano; proteína em sistema Micro-Kjedahl com utilização do fator 6,25 para conversão do nitrogênio em teor proteico. Os carboidratos foram obtidos por diferença, subtraindo de 100 a soma dos valores obtidos de umidade, proteína, lipídios e cinzas (188,189). A determinação do valor calórico total foi realizada segundo o estabelecido pela Resolução da ANVISA (190).

4.2.2 Determinação da Atividade Antioxidante (DPPH')

A atividade antioxidante foi determinada através da capacidade dos compostos presentes nas amostras em sequestrar o radical estável DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), segundo método de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (191) e modificado por SÁNCHEZ-MORENO et al. (192). Para isto, 5 gramas da amostra foram pesadas em um tubo de Falcon de 50mL, às quais foram adicionados 20mL de metanol. Após a mistura foi homogeneizada usando um Ultra-Turrax até consistência uniforme, seguido do armazenamento por 24 horas em baixa temperatura (3-4°C). Após, foi realizada uma centrifugação (7.000 x g/10 min) por 15 minutos. A quantificação foi realizada em tubos protegidos com papel alumínio, contendo 10µL do extrato de amêndoa, 90µL de metanol e 3,9mL de solução-uso de DPPH, com a finalidade de completar o volume final de 4,0mL. A amostra foi deixada no escuro por um tempo de 30 minutos, por 24 horas e após esse período, foi feita a leitura da absorbância a 517nm em espectrofotômetro Ultrospec 2.000 UV/Visível

(Pharmacia Biotech). A atividade anti-radicalar foi determinada por meio de uma curva padrão obtida com o antioxidante Trolox e o radical DPPH, no intervalo de 0 a 1,5mmol/L de Trolox ($y = 0.508 x$, $r^2 = 0.9975$). Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol}/100\text{g}$ de amostra.

4.2.3 Determinação de Compostos Bioativos

4.2.3.1 Determinação de Compostos Fenólicos Totais

O conteúdo total de compostos fenólicos foram quantificados através do método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, descrito por SINGLETON et al., (193), com modificações. A amostra de 2,0 g de amêndoas foi triturada em 20 mL de metanol e submetida ao ultrassom, durante 10 minutos e, em seguida, filtrado utilizando papel filtro qualitativo (poros de $14\mu\text{m}$, gramatura de $80\text{g}/\text{m}^2$ e espessura de $205\mu\text{m}$). O volume total foi completado para 50 mL com a adição de metanol. A reação do ensaio consistiu em 1,0 mL de extrato de metanol e 0,5 mL de Folin-Ciocalteu. Após 3 min, a reação foi interrompida com adição de 1,5 mL de carbonato de sódio a 20% e mantida à temperatura ambiente durante 2 h, protegida da luz. A absorbância foi lida a 765 nm (Ultrospect 2000, Pharmacia Biotech).

A concentração de compostos fenólicos foi determinada utilizando uma curva padrão preparada com uma solução padrão de ácido gálico, e os resultados foram expressos em equivalente de ácido gálico $\text{mg}/100\text{g}$ de amêndoa de baru (GAE/100 g).

4.2.3.2 Identificação e quantificação de compostos fenólicos

Os compostos fenólicos foram extraídos da amêndoa usando o método descrito por Häkkinen, Karenlampi e Heinonen (194), com poucas modificações. Cinco gramas da amostra macerada foram dissolvidas em 30mL de metanol e após foram adicionados 4,9mL de ácido clorídrico (concentração final de 1.2 mol/L HCl), para a estabilização dos compostos fenólicos, sendo

completado o volume em balão volumétrico de 50mL com metanol. O extrato foi homogeneizado em banho de água a 35°C, na ausência de luz, por 24 horas. Após este período, a mistura foi filtrada e o sobrenadante foi concentrado em rota-evaporador a 40°C por cerca de 30 minutos. O resíduo concentrado foi dissolvido em metanol até o volume final de 5mL, o qual foi centrifugado (7.000 x g/10 min). Uma alíquota do sobrenadante (30µL) foi submetida à cromatografia líquida em sistema HPLC-Shimadzu, com injetor automático, detector UV-visível a 280nm, utilizando uma coluna de fase reversa RP-18 CLC-ODS (5µm x 4,6mm x 150mm) com fase estacionária octadecil e uma coluna de guarda CLC-GODS com fase estacionária de superfície octadecil, ambas localizadas em forno a 25°C. A fase móvel consistiu no gradiente de eluição utilizando solução aquosa de ácido acético (99:1, v/v) e metanol (QUADRO 1) com fluxo de 0,8mL/ min, com um tempo total de corrida de 45 minutos, segundo metodologia descrita por ZAMBIAZI (195).

Quadro 1 - Programa do gradiente de eluição utilizado na separação de compostos fenólicos em amêndoas de baru, no sistema HPLC.

Tempo (minutos)	Solvente A (%)	Solvente B (%)
0	100	0
25	60	40
27	60	40
37	95	5
42	95	5
45	100	0

Solvente A: solução aquosa de ácido acético (99:1, v/v) Solvente B: metanol.

Os compostos fenólicos foram identificados com base no tempo de retenção de padrões externos e quantificados através das curvas de calibração com os seguintes padrões: ácido gálico ($y = 3.2551e^{-0,07}x$; $R^2: 0,9969$); (+)-catequina ($y = 1.3851e^{-0,06}x$; $R^2: 0,9951$); ácido ferúlico ($y = 3.2716e^{-0,07}x$; $R^2: 0,9995$); (-) – epicatequina ($y = 1.3590e^{-0,06}x$; $R^2: 0,9977$), ácido elágico ($y = 5.8751e^{-0,07}x$; $R^2: 0,9977$); ácido p-cumárico ($y = 2.14083e^{-0,07}x$, com $R^2: 0.9903$);

ácido cafeico ($y = 2.9333e^{-0,07} x$; $R^2: 0,9989$); ácido p-hidroxibenzoico ($y = 6.4457e^{-0,07} x$; $R^2: 0,9955$); quercetina ($y = 6.2498e^{-0,07} x$; $R^2: 0,9926$); miricetina ($y = 1.3574e^{-0,06} x$; $R^2: 0,9997$) e kaempferol ($y = 5.6644e^{-0,07} x$; $R^2: 0,9990$). Os resultados foram expressos em miligramas do composto fenólico por 100 gramas de amêndoa (mg/100g).

4.2.3.3 Determinação de antocianinas

A determinação das antocianinas totais foi realizada segundo método descrito por LEES e FRANCIS (196), com algumas modificações. A um grama de amostra foram adicionados 25 mL de etanol acidificado com ácido clorídrico, pH 1,0, homogeneizando-se a amostra a cada 5 minutos, durante uma hora. O resíduo foi filtrado e completou-se o volume com etanol em balão volumétrico de 50 mL. A leitura da absorbância a 520nm foi determinada em espectrofotômetro (modelo Ultrospec 2000), usando etanol para calibrar o equipamento. Os resultados foram expressos em mg de cianidina 3-glicosídeo/100g de amêndoa.

4.2.3.4 Determinação de tocoferóis

Para a extração de tocoferóis, foi utilizada a metodologia de Rodriguez-Amaya (197), com algumas modificações. A vinte gramas de amostra (triturada) foram adicionados, sob agitação, aproximadamente três gramas de celite. Ao homogeneizado foram adicionados 20 mL de acetona gelada, sob agitação, durante 10 minutos. A amostra foi filtrada a vácuo e o resíduo foi lavado com acetona até a perda da coloração. O filtrado foi transferido para um funil de separação onde foram adicionados 30 mL de éter de petróleo e 100 mL de água destilada (procedimento repetido 4 vezes). A fase aquosa (parte inferior) foi descartada e continuou-se lavando a fase superior com água destilada para a remoção total da acetona. Depois desta etapa, aferiu-se o balão com éter de petróleo. O extrato foi transferido para tubos *ependorf*, centrifugados ($9.000 \times g/6$ min.). Foram injetados 10 μ L do sobrenadante no sistema HPLC (Shimadzu) e a detecção do tocoferol foi obtida com detector de fluorescência, utilizando o comprimento de onda de 290nm para excitação e de

330nm para a emissão. Para a fase móvel, foi utilizado um gradiente constituído de metanol, acetonitrila e isopropanol (QUADRO 2) conforme metodologia adaptada de ZAMBIAZI (195).

Quadro 2 - Programa do gradiente de eluição dos solventes na separação de Tocoferóis em amêndoas de baru.

Tempo (minutos)	Solvente A (%)	Solvente B (%)	Solvente C (%)
0	40	50	10
10	65	30	5
12	40	50	10
15	40	50	10

Solvente A: metanol; solvente B: acetonitrila; solvente C: isopropanol.

Para a identificação e quantificação de α -, δ - e γ - β -tocoferol utilizou-se uma curva padrão, preparada com os padrões externos correspondentes aos tocoferóis, respectivamente ($y = 1,0015^{e-0,08} x + 2,0179^{e-0,16} x^2$, $R^2: 0,9972$ α -tocoferol); ($y = 4,2564^{e-0,09} x + 4,2197^{e-0,17} x^2$, $R^2: 0,9984$ δ - tocoferol) e ($y = 2,1663^{e-0,09} x + 6,5754^{e-0,17} x^2$, $R^2 = 0,9905$ ($\gamma + \beta$)- tocoferol). A quantificação de β -tocoferol foi realizada baseada na curva de calibração do γ - tocoferol, uma vez que estes dois compostos não foram separados no processo cromatográfico (HPLC), sendo quantificados conjuntamente. O conteúdo de tocoferóis foi expresso em mg de tocoferol/100g de amêndoa (base seca), e o total foi determinado pela soma dos tocoferóis individuais.

4.2.3.5- Perfil de ácidos Graxos

O perfil de ácidos graxos foi determinado por cromatografia gasosa, que foi esterificado na forma de ésteres de ácidos graxos, através da técnica de derivatização descrita por ZAMBIAZI (195). Utilizou-se como padrão uma mistura de ésteres metílicos contendo os ácidos caproico, caprílico, cáprico,

caproico, láurico, dodecenoico, mirístico, miristoleico, palmítico, palmitoleico, margárico, heptadecenoico, esteárico, oleico, linoleico, linolênico, araquídico, gadoléico, eicosadienóico, eicosatrienóico, eicosatetraenóico, behênico, erúico, docosadienoico, docosaexaenóico, docosatrienoico, tetracosenóico, lignocérico e nervônico, adquiridos de Sigma Chemicals Co. (St. Louis, EUA). Os ácidos graxos foram identificados pela comparação com os tempos de retenção dos padrões e os resultados expressos em porcentagem relativa. As análises foram realizadas no cromatógrafo gasoso-CG da Perkin Elmer (Clarus500), provido com detector FID, com coluna capilar (Carbowax 20M) de dimensão 30m x 0,25mm, revestida por filme PEG (polietileno Glicol) de 0,25 μ m, e injetor automático com seringa de capacidade de 5 μ L. Os dados foram adquiridos e processados com auxílio do software Clarus 500. Utilizou-se gradiente de temperatura, de acordo com metodologia descrita por ZAMBLAZI (1997), com algumas modificações. A temperatura inicial da coluna foi de 90°C, mantida por 1 minuto; sendo alterada para 160°C com o incremento de 12°C min⁻¹, mantida por 3,5min; seguindo a 190°C com incremento de 1,2°C min⁻¹ e finalmente a 230°C com incremento de 15°C min⁻¹, onde ficou mantida por 15 minutos. O injetor e o detector foram mantidos na temperatura de 230°C e 250°C, respectivamente. Utilizou-se o nitrogênio como gás de arraste a 1,5 mL/min. Os picos das áreas foram determinados por programa integrador computadorizado GC-300. Os dados foram obtidos por normalização de área, calculada pela área percentual relativa dos ácidos graxos identificados e expressa em porcentagem.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento adotado foi inteiramente ao acaso e os resultados apresentados correspondem à média de três repetições (n=3) \pm desvio padrão da média. Para comparação entre as amostras, foi realizada a análise de variância (ANOVA), com correção de Bonferroni, utilizando-se o programa SPSS versão 17.0 (198). O nível de significância (α) considerado foi de ($P<0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Pelos teores de umidade obtidos de amêndoas de baru (*Dipteryx alata* Vog.), cruas e tostadas, é evidente o seu decréscimo após o processo de torrefação. Estatisticamente a diferença foi significativa ($p < 0,05$), quando se compara amêndoa de baru respectiva aos quatro tratamentos. Verificou-se que a perda de umidade da amêndoa crua com película, em relação à amêndoa torrada com película, foi de 41,2% enquanto que entre a amêndoa crua e sem película, comparada com a amêndoa torrada e sem película, a perda foi de 39,63% (tabela 1).

Dados da literatura relatam perdas em sementes e nozes comestíveis superiores aos valores encontrados no presente trabalho. Cavalcante, (199), analisando amêndoas da castanha de caju (*Anacardium occidentale* L), nas mesmas condições de tempo e temperatura, relatou perdas de umidade superiores aos valores observados nas amêndoas aqui estudadas, onde o teor de umidade da amêndoa de caju crua foi de 6,70 % e da amêndoa torrada de 2,96 %, com perdas em torno de 56 %.

Para Andrade, (200), também analisando amêndoas da castanha de caju cruas e torradas, obteve resultados com decréscimo de umidade de 41%. A amêndoa de caju crua, em seu estudo, apresentou umidade de 3,89% e a torrada, 2,29 %. No entanto, Melo et al. (201), após processo de torrefação de 30 minutos, em amêndoas da castanha, igualmente cruas e torradas, a 150°C, observaram perdas na faixa de 76,6 %.

O teor de umidade encontrado nas amêndoas de baru torradas, deste estudo, independente da presença ou não da película, foi superior àquelas estudadas por Fernandes (202), que analisou amêndoas de baru torradas, (140°C/30min) provenientes da região noroeste do estado de Goiás, o qual cita valores de umidade em torno de 3,17g/100g.

Tabela 1 - Composição físico-química da amêndoa de baru (*Dipteryx alata* Vog) antes e após o processo de torrefação, com os dados expressos em base seca.

Análises^{1,2}	Amêndoa crua com película	Amêndoa crua sem película	Amêndoa torrada com película	Amêndoa torrada sem película
Teor de umidade (g/100g)	9,9 ± 1, 9 ^a	10,6 ± 0,8 ^a	5,8 ± 0,8 ^b	6,4 ± 0,9 ^b
Cinzas (g/100g)	3,1 ± 0,2 ^a	2,9 ± 0, 5 ^a	2,9 ± 0,3 ^a	2,6 ± 0, 3 ^a
Teor de lipídeos (g/100g)	48,6 ± 1,3 ^a	43,8 ± 0,7 ^b	46,4 ± 0,5 ^a	40,2 ± 0,8 ^b
Proteínas (%N.6,25) (g/100g)	25,2 ± 1,5 ^{ab}	28,8 ± 1,5 ^a	23,8 ± 0,9 ^b	24,6 ± 0,1 ^b
Carboidratos³ (CHO)	23,1 ± 3,0	24,5 ± 2,7	26,9 ± 1,5	32,6 ± 2,1
pH	6,0 ± 0,2 ^a	6,1± 0,1 ^a	5,9± 0,1 ^a	5,9 ± 0,1 ^a
Acidez⁴ % (ácido oleico)	0,92 ± 0,2 ^a	0,8± 0,1 ^a	1,21± 0,0 ^b	1,10± 0,1 ^b
VCT⁵ (kcal/100g)	631	607	620	591

¹ Os dados são expressos como média ± DP em peso de amêndoa, n = 3, excetuando-se CHO e VCT;

²Valores seguidos por letras minúscula iguais na mesma linha não diferem entre si (p<0,05) pela ANOVA, com correção de BonFerroni;

³CHO- Carboidratos totais foram estimados por diferença;

⁴Valores de Acidez analisados em óleo de amêndoa de baru;

⁵Valor Calórico Total (VCT)= (4 kcal/g de proteína)+ (4 kcal/g de carboidrato) +(9 kcal/g de lipídeo) = kcal/100g.

Vera et al (169) encontrou teores de umidade entre 2,93-5,07 g/100g, nas amêndoas cruas de baru, oriundos da região de Goiás, inferiores aos

valores encontrados neste trabalho, independente ao tratamento ao qual as amêndoas foram submetidas.

Martins (203), na análise físico-química de vários frutos *in natura* do cerrado, incluindo a amêndoa de baru (*Dipteryx alata* Vog), relatou 8,90 g/100g para o teor de umidade. Em seus estudos, Takemoto et al. (168), observou teor de 6,1g/100g em amêndoas de baru cruas, provenientes da região de Pirenópolis.

Filgueiras & Silva (204) também trabalhando com amêndoas de baru oriundas das localidades de Bela Vista de Goiás, Paraúna e Goiânia, reportaram teor médio de umidade de 6,45 g/100 g. Enquanto que Melhem (205), analisando a qualidade de sementes de baru, da região do Estado de Minas Gerais relatou teor em torno de 10,7 g/100 g de umidade. Todos estes resultados foram inferiores àqueles observados em amêndoas cruas com e sem película, determinadas neste estudo. No entanto, Vallilo et al. (206) relatam o teor de 5,80 g/100g nas amêndoas de baru provenientes de São Paulo, os quais são similares aos observados em amêndoas torradas e com película do presente estudo.

A variação na perda de água dos grãos torrados, originalmente contida nos grãos crus, pode ser resultante do processo térmico, onde ocorre a liberação de água durante as reações de pirólise, associada à consequente volatilização de compostos. Outro fator que pode ter influenciado na diferença dos resultados encontrados em amêndoas de baru (*Dipteryx alata* Vog.) crua e torrada, com e sem película, é a procedência da matéria-prima, oriunda de várias localidades. Esses dados reforçam a assertiva de que fatores como variações genéticas, condições climáticas e geográficas, tratamento pós-colheita e de estocagem do produto durante o armazenamento podem influenciar nos resultados finais de umidade.

Em relação ao conteúdo de cinzas, destaca-se que as amêndoas de baru não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos a que foram

submetidas. Os valores encontrados indicam importante aporte mineral no alimento, corroborando com Togashi & Sgarbieri (170) e Freitas (163) que reportaram valores (2,8 g/100 g e 3,1 g/100g, respectivamente), próximos aos determinados neste estudo.

Ao comparar o teor de lipídeos na amêndoa do baru, observa-se que os valores se assemelham com os teores relatados por Câmara & Heiffig (207) para oleaginosas como amendoim (43%) e cambre (40%), sendo superiores ao encontrado em fontes comuns de exploração de óleos comestíveis, como dendê (20%) e soja (20%).

Observou-se que as amêndoas com película apresentaram maior conteúdo de lipídeos, indicando a presença destes compostos em alta proporção na casca das amêndoas. Com o processo de torrefação foi observado um decréscimo significativo do conteúdo destes compostos, tanto na amêndoa com película quanto na amêndoa sem a película. Um fator que pode ter contribuído para a diferença observada no conteúdo de lipídeos entre as amostras é o teor de umidade das amêndoas. Silva & Fernandes (208) observaram comportamento semelhante ao analisarem amêndoas cruas e torradas de chinchá.

Lima et al. (209) reportam teores de gordura em amêndoa de baru de 41,0 g/100 g os quais demonstraram-se superiores apenas à amostra de amêndoa de baru torrada e sem película avaliadas no presente estudo. No entanto, os teores relatados por Martins (203), de 35,8 g/100g, foram inferiores aos valores encontrados neste estudo em todas as amostras, independente do processo térmico ou da presença ou não da película.

Os teores de lipídeos encontrados na amêndoa de baru *in natura* superam ou se igualam àqueles da castanha de caju (42,06 g/100g), amendoim (44,57 g/100g), pistache (45,83 g/100g) e amêndoa (45,93 g/100g). Porém apresenta valores inferiores aos de noz pecã (62,14 g/100), avelã (63,18

g/100g), castanha do Pará (64,94 g/100g), noz (65,07 g/100g) e macadâmia (66,16 g/100g) (132).

Neste estudo, independente do tratamento utilizado, as amêndoas apresentaram valores de proteínas superiores às nozes e sementes relatadas por Yang (210) e Venkatachalam & Sathe (211), que observaram em seus experimentos os seguintes teores; Castanha-do-Pará (14 g/100g), Castanha-de-caju (19 g/100 g), macadâmia (8 g/100g), pinhão (13 g/100g); pistache (20 g/100g), noz (13 g/100g) e o amendoim (22 g/100g).

O teor protéico em amêndoas de baru crua e sem película apresentou diferença significativa em relação às amêndoas com película às demais amostras, evidenciando que este macronutriente encontra-se predominantemente na amêndoa e não na película propriamente dita. Além disso, observou-se que o processo de torrefação influenciou em perdas proteicas, conforme pode ser observado na tabela 1.

Em amêndoas de baru crua e torradas, o teor médio de proteína encontra-se inserido nos valores reportados na literatura, que variam entre 24,5 g/100g, Martins (203) a 29,6 g/100g (169, 176, 206).

A literatura reforça a importância da proteína contida nas amêndoas de baru e que os teores médios de proteína, quando comparados com as demais leguminosas encontram-se em níveis superiores. Togashi & Sgarbieri (176) reportam valores em amêndoas de baru em torno de (30 g/100g), os quais são superiores àqueles relatados por Costa et al., (212), que encontraram valores para ervilha (22 g/100g), feijão comum (21 g/100g) e do jatobá, também leguminosa arbórea, cujos valores encontrados na literatura estão em torno de 6 g/100g (201) e 9 g/100g (213), exceto em relação aos de teores de soja 40g/100g, bem superior as amêndoas de baru.

Os carboidratos são uma importante fonte energética e o baru é um fruto do Cerrado rico nestes compostos. Observaram-se valores superiores em

amêndoas torradas e sem pele, quando comparadas com os demais tratamentos, provavelmente pela diferença entre o teor de lipídeos e proteínas que nestas amêndoas foi mais baixo, determinando um acréscimo destes constituintes.

Pelos resultados observa-se que o pH entre as amostras de amêndoa de baru não apresentou diferença significativa, e a média manteve-se com pH em torno de 5,95 para todas as amostras. Martins (203) realizou análise físico-química de vários frutos do Cerrado, incluindo amêndoas de baru e reportou valores de pH de 6,09, corroborando com os resultados do presente estudo. Avaliando amêndoas de castanha de caju cruas e torradas provenientes de Mossoró-RN, Melo et al. (201), também encontraram pH similares, de 6,20 na amêndoa crua e de 6,14 na amêndoa torrada.

Na avaliação de acidez do óleo extraído da amêndoa de baru, observa-se que houve um aumento significativo ($p < 0,05$) no teor de acidez entre as amostras após o processo de torrefação. A acidez é um dos parâmetros para avaliar a qualidade de óleos e gorduras, pois indicam a ocorrência de reações hidrolíticas (214). Com isso, observa-se que estas reações ocorreram nas amêndoas durante o processo de torrefação, aparentemente na mesma proporção, tanto nas amêndoas com película quanto nas amêndoas sem película.

Melo et al. (201) reportam valores para acidez em percentual de ácido oleico, em óleo de amêndoas cruas e torradas de castanha de 0,96 e 1,22 %, respectivamente, corroborando com os resultados do presente estudo. No entanto, o óleo das amêndoas de baru cruas, com e sem película, apresentou teores médios de acidez inferiores aos evidenciados por Bora et al. (215), obtido para o óleo de palma (*Eliaes guineensis*), que foi de 1,09%.

O valor energético estimado nas amêndoas de baru, considerando-se proteínas, lipídios e carboidratos, foi elevado. Em todas as amostras analisadas, o teor esteve em torno de 625,25 Kcal/100 g, sendo a maior

contribuição para este aporte calórico proveniente do grupo das proteínas (26% em média) e lipídios (45% em média).

Czeder (216) ao estudar amêndoas de baru torradas, de três regiões do estado de Goiás, obteve valor calórico total de 532 kcal/100g que foi inferior aos observados nas amêndoas deste estudo, independente do tratamento a que as foram submetidas.

Nos estudos de Takemoto et al., (168), as amêndoas oriundas de Pirenópolis apresentaram valores de 502 kcal/100g e para as amostras de amêndoas de baru oriundas de São Paulo, foi de 561 kcal/100g, mostrando-se inferiores ao valores teóricos de VCT observados no presente estudo.

De acordo com Freitas & Naves (132), o amendoim apresenta valor energético de 545,29 kcal/100g, sendo inferior ao de amêndoa de baru em todos os tratamentos aqui estudados. Enquanto que a castanha-do-pará, possui 665,98 kcal/100g e a macadâmia 717,76 kcal/100g, ambos, resultam em conteúdo energético mais elevado do que o valor teórico estimado neste estudo.

5.2 Compostos bioativos e atividade antioxidante

5.2.1 Conteúdo de fenólicos e atividade DPPH

A determinação do conteúdo total de compostos fenólicos (FT) das amêndoas de baru (*Dipteryx alata* Vog) foi realizada em extrato metanólico, devido à alta solubilidade dos compostos fenólicos neste meio (217) e os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2- Conteúdo de fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante (AA) em amêndoas do baru (*Dipteryx alata* Vog), com e sem película, cruas e torradas¹.

Amêndoa de baru	Fenólicos Totais ² GAE (mg/100 g)	Antocianinas ³ Totais	Atividade Antioxidante ⁴ ($\mu\text{mol}/100\text{g}$)
Crua com película	568,9 \pm 28,7 ^a	1,06 \pm 0,04 ^a	288,4 \pm 1,8 ^a
Crua sem película	250,4 \pm 8,7 ^b	0,62 \pm 0,08 ^b	22,8 \pm 1,5 ^c
Torrada com película	531,8 \pm 16,8 ^a	1,24 \pm 0,18 ^a	149,1 \pm 12,4 ^b
Torrada sem película	111,3 \pm 1,8 ^c	1,20 \pm 0,13 ^a	13,9 \pm 0,5 ^c

¹Os dados são expressos como média \pm DP, n = 3;

Médias com valores marcados pela mesma letra em cada coluna não são significativamente diferentes ($p < 0,05$);

² GAE: Equivalente em Acido Gálico;

³ Concentração de antocianinas foi expressa em mg de cianidina-3-glicosídeo por 100 gramas de amêndoa;

⁴ Equivalente a Trolox.

Os resultados demonstram que a amêndoa de baru com película apresenta conteúdo médio de compostos fenólicos totais superiores aos encontrados em sete de dez amêndoas (Pinhão, macadâmia, castanha, caju, nozes, avelãs, amendoins) consumidas no Brasil e nos Estados Unidos, que foram estudadas por Kornsteiner et al (218), as quais apresentaram conteúdos entre 32 e 420 mg GAE/100g.

O conteúdo encontrado para a amêndoa de baru com película também ultrapassa aos valores reportados para outras amêndoas populares na região Centro-Sul do Brasil, como a amêndoa de pequi [*Caryocar brasiliense*, Camb] e as amêndoas de duas espécies de butiá [*B. capitata* e *B. eriosphata*] que apresentaram valor médio de fenólicos totais entre 122 e 443 mg GAE/100g, respectivamente (219, 220).

Neste estudo, as amêndoas do baru com película apresentaram conteúdos significativamente superiores de compostos fenólicos totais em relação às amêndoas sem película. Este maior conteúdo de compostos

fenólicos encontrado nas amêndoas com película evidencia altos níveis de fenólicos presentes na película da amêndoa do baru e corrobora vários estudos que reportam altos níveis de fenólicos em cascas e películas de frutas e hortaliças e nozes (4, 221).

O conteúdo de compostos fenólicos está associado com o sistema de proteção dos vegetais frente a estresses bióticos (ataque de patógenos) e abióticos (radiação ultravioleta, seca, chuvas) (222), o que justifica o maior teor destes compostos bioativos nas amêndoas de baru, por ser um fruto oriundo de uma região em que o clima é Tropical Sazonal, apresentando condições extremas de clima (épocas de seca extrema) e temperatura (com média anual de 25°C, podendo chegar a marcações de até 40°C).

Segundo Xu & Chang (223) o tratamento térmico dos alimentos de origem vegetal, por fervura ou torrefação, provoca a evaporação da água intracelular, desencadeando reações químicas que podem alterar a estrutura lignocelulósica além de promover a desnaturação protéica, podendo resultar em uma maior disponibilidade dos compostos fenólicos na matriz vegetal. Sendo assim, um processo térmico pode afetar tanto as características nutricionais quanto as bioativas dos alimentos (224).

No presente estudo, o processo de torrefação inferiu uma redução significativa dos teores de compostos fenólicos apenas nas amêndoas sem película. Estes resultados sugerem que a película da amêndoa do baru possa exercer, pelo menos parcialmente, um efeito protetor sobre os compostos fenólicos. Vários autores têm demonstrado uma estreita correlação positiva entre o teor de fenólicos totais e a atividade antioxidante de frutos e hortaliças (225). Kornsteiner et al (218), verificaram maior atividade antioxidante em amêndoas que apresentaram maior teor de compostos fenólicos, como os encontrados em nozes brasileiras (1,625 mg GAE/100 g e 179 μ mol TE/g); seguido do pistache (867 mg GAE/100 g e 80 μ mol TE/g); e do pinhão (32 mg GAE/100g e 7 μ mol TE/g), evidenciando uma alta correlação entre os teores de fenólicos totais das amêndoas estudadas e a respectiva atividade antioxidante.

No entanto, Wu et al. (226) avaliando a atividade antioxidante lipofílica e hidrofílica em 100 diferentes tipos de alimentos, incluindo as amêndoas estudadas por Kornsteiner et al (218), verificaram uma fraca correlação entre o teor de fenóis totais e a atividade antioxidante avaliada pelo teste *Oxygen radical absorbance capacity* (ORAC).

O método pelo sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) tem sido amplamente utilizado para avaliar a atividade antioxidante de extratos e substâncias puras (227) e está baseado na medida da capacidade antioxidante de uma determinada substância em sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o a hidrazina, sendo um método colorimétrico (227). A análise da correlação entre os teores de fenólicos totais e a atividade antioxidante (AA), realizados pelo teste de Pearson demonstrou uma alta e significativa correlação positiva ($R = 0.897$, $p = 0,001$), sugerindo uma forte participação dos compostos fenólicos na atividade antioxidante avaliada pelo método de DPPH.

A maior atividade oxidante observada em amêndoas de baru com película (Tabela 2) também foi observada por VILLARREAL-LOZOYA, et al (228). Neste estudo, os autores verificaram maiores teores de fenólicos totais e de taninos na casca de noz-pecã associados a uma maior atividade antioxidante (DPPH) em relação à amêndoa.

O processo de torrefação da amêndoa do baru com película, embora não tenha alterado significativamente o teor de fenólicos totais, reduziu em aproximadamente 50% a capacidade de sequestrar o radical DPPH, não sendo observada alteração na atividade antioxidante das amêndoas sem película após o tratamento térmico. Estes resultados são provavelmente devido à maior exposição dos compostos fenólicos da película ao calor, em relação aos fenólicos presentes na amêndoa do baru, causando alterações estruturais que comprometeram a atividade antioxidante dos compostos fenólicos, sem no entanto, alterar a reatividade com o composto Folin-Ciocalteu.

Relatos na literatura reforçam os resultados encontrados para o teor de compostos fenólicos e da atividade antioxidante, quando as amêndoas do baru

foram submetidas ao calor. Turkmen, Saril, & Velioglu, (229), observaram um aumento da atividade antioxidante, medida pela capacidade de sequestrar radical DPPH, em brócolis e em espinafre submetidos a três métodos de cocção diferentes (água fervente, vapor e microondas), entretanto não houve alteração na atividade antioxidante em alho poró e abóbora.

Alem disto, foi observada uma redução no conteúdo de compostos fenólicos em abóbora e alho-poró cozidos em água, no vapor e em forno de microondas, com uma elevação no conteúdo de compostos fenólicos em brócolis após a cocção no vapor e microondas. Nicoli *et al.* (230), também verificaram que tomates e café, quando processados, apesar da concentração dos antioxidantes naturais terem sido significativamente reduzidas em consequência dos tratamentos térmicos, mantiveram a propriedades antioxidantes preservadas ou mesmo aumentadas.

Estudos com café, cacau e outros alimentos demonstram que, mesmo após serem submetidos ao processo de torrefação, mantém inalterada a sua atividade antioxidante e, muitas vezes apresentam potencialização desta atividade a partir da maior disponibilidade dos compostos fenólicos em presença do calor, ou pela formação de novos compostos com propriedades antioxidantes formados durante o processo como, por exemplo, das melanoidinas formadas pela reação de *Maillard*. Ainda, durante os tratamentos térmicos podem ocorrer a oxidação de alguns compostos fenólicos e volatilização de ácidos orgânicos, como do ácido acético, reduzindo o amargor, adstringência e acidez, melhorando a palatabilidade dos produtos. No entanto, também foram observadas perdas significativas em seus compostos fenólicos intrínsecos onde, no cacau foram observadas perdas em torno de 21,6% de fenóis totais, enquanto que no café as perdas estiveram em torno de 18% para os grãos torrados e em 5% para o descafeinado (231).

Portanto, diferentes alterações podem ser esperadas frente a um tratamento térmico levando a alterações da capacidade antioxidante, as quais podem variar desde a perda de antioxidantes naturais; fortalecimento de sua

atividade antioxidante; formação de novos compostos com atividade antioxidante e/ou pró-oxidante ou, ainda, não ocorrer qualquer alteração.

As antocianinas estão presentes em pequena quantidade no barú, quando comparado com o conteúdo de frutos como morango, acerola, mirtilo, uva e jaboticaba, os quais apresentam conteúdos reconhecidamente elevados, com média acima de 30-627 mg/100 g (232, 233).

Estes flavonoides estão associados à prevenção de inúmeras patologias que envolvem o estresse oxidativo, em especial, o câncer. Atualmente, existem evidências de que as antocianinas em sua forma natural são pouco absorvidas na corrente circulatória, facultando esses efeitos benéficos aos produtos de seu metabolismo. Um mecanismo provável é que, ao serem captadas pela flora intestinal, as antocianinas sofrem glicosilação do anel C de sua estrutura, o qual produz ácidos fenólicos e aldéidos, caracterizando o seu efeito protetor. Um metabólito destas antocianinas, recentemente identificado é o ácido 3-O-metilgálico, um provável metabólito da malvidina (234, 235).

É provável que esses metabolitos das antocianinas, o ácido 3-O-metilgálico e 2,4,6-trihidroxibenzaldeído, sejam os responsáveis pelo efeito quimioterápico em alguns tipos de câncer, em especial o de cólon intestinal (234). A antocianina presente em maior quantidade na maioria dos vegetais é a cianidina 3-glucosídeo (235).

Estudos têm demonstrado uma rápida degradação das antocianinas quando o alimento é submetido ao tratamento térmico durante o processamento dos alimentos, havendo uma correlação positiva entre a destruição das antocianinas e o incremento da temperatura do processamento. Processos que utilizam altas temperaturas e menor tempo de exposição ao calor têm sido mais eficientes e recomendados para reduzir a degradação destes pigmentos (235). No presente estudo, a torrefação a 150 °C durante 45 minutos não influenciou na degradação significativa das antocianinas.

Visando identificar a composição da amêndoa do baru em alguns compostos bioativos e verificar o efeito dos tratamentos sobre sua estabilidade, extratos das quatro amostras da amêndoa do baru foram submetidos à análise de compostos fenólicos individuais.

Está demonstrado na Figura 26 um cromatograma típico de compostos fenólicos presentes em amostras de amêndoa baru.

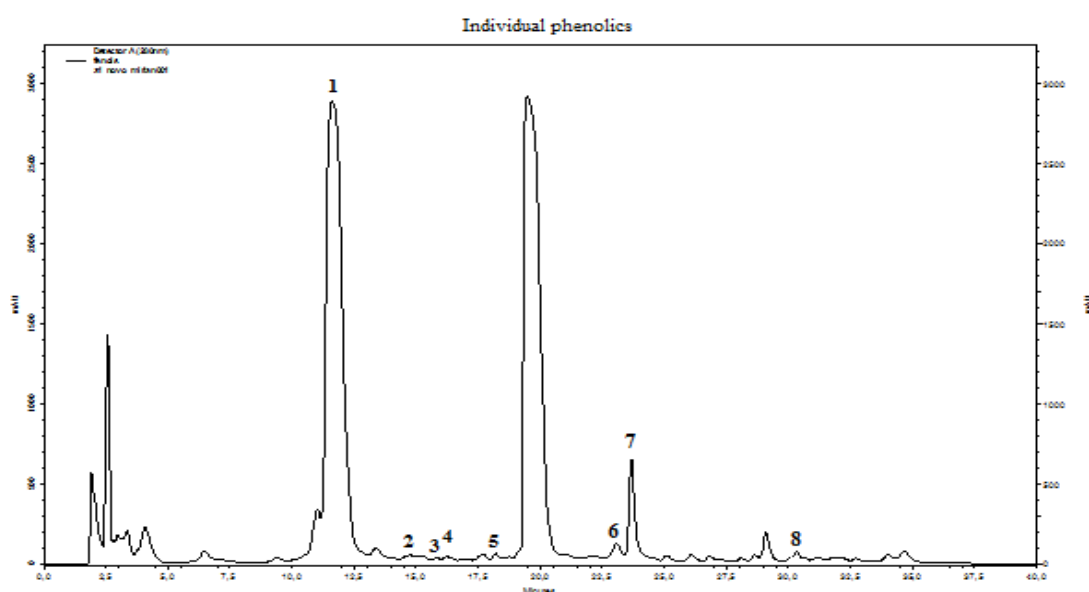


Figura 26 – Cromatograma típico de compostos fenólicos em amêndoas de baru (torrado e sem película), obtido em sistema de HPLC (Shimadzu) com uma coluna de fase reversa e detector de UV (280 nm). Fase móvel: gradiente de ácido acético em água (1:99 v/v) e metanol com fluxo 0,9 mL / min.

(1)- ácido gálico; (2)- catequina; (3)- ácido p-hidroxibenzoico; (4) - ácido cafeico; (5)- epicatequina; (6)-ácido p-cumárico; (7)-ácido ferúlico ; (8) ácido elágico.

Tabela 3 - Conteúdo de compostos fenólicos em amêndoas do baru (*Dipteryx alata* Vog.), com e sem película, cruas e torradas¹.

Fenóis Individuais	Conteúdo de compostos fenólicos em amêndoas de baru (mg/100 g)			
	Crua	Torrada	Crua	Torrada
	Com película		Sem película	
Ác. p-cumárico	14,3 ± 1,1 ^a	3,8 ± 0,4 ^b	2,6 ± 0,1 ^b	0,3 ± 0,0 ^c
Ác. Elágico	8,5 ± 0,9 ^a	4,9 ± 0,2 ^b	2,8 ± 0,4 ^c	2,0 ± 0,1 ^c
Ác. Cafeico	6,3 ± 0,9 ^a	2,3 ± 0,1 ^b	1,8 ± 0,4 ^b	1,1 ± 0,3 ^b
Ác. Gálico	224,0 ± 17,2 ^a	170,9 ± 13,8 ^{ab}	132,8 ± 20,8 ^b	66,7 ± 4,7 ^c
Ác. p-Hidroxibenzoico	2,3 ± 0,6 ^a	0,6 ± 0,1 ^b	0,3 ± 0,1 ^b	0,1 ± 0,0 ^b
Catequina	87,2 ± 3,8 ^a	45,6 ± 9,7 ^b	20,3 ± 5,2 ^c	13,6 ± 0,5 ^c
Ác. Ferúlico	45,4 ± 4,7 ^a	17,5 ± 4,3 ^b	9,6 ± 2,8 ^{bc}	3,6 ± 0,1 ^c
Epicatequina	23,9 ± 3,8 ^a	4,8 ± 0,6 ^b	8,0 ± 0,7 ^b	2,1 ± 0,3 ^b
Total	411,9	250,0	178,2	89,50

¹ Médias ± DP, seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente, p < 0,05.

Dentre os compostos fenólicos identificados por cromatografia líquida de alta eficiência, o ácido gálico foi predominante em todas as amostras analisadas, seguido da catequina, ácido ferúlico, epicatequina e p-cumárico e em menor concentração os ácidos elágico, cafeico e o p-hidroxibenzóico (Tabela 3).

Dos compostos quantificados, o ácido p-cumárico, a epicatequina, e os ácidos p-hidroxibenzoico e ferúlico, demonstraram maior sensibilidade ao calor, (tabela 3), embora todos tenham apresentado características termolábeis. O ácido ferúlico apresenta estrutura química típica dos ácidos hidrocínâmicos, com uma cadeia lateral simples com três carbonos (C₆-C₃), do qual fazem parte também os ácidos cafeico e p-cumárico. Seus ésteres estão associados ao poder redutor, através da doação de hidrogênio do grupo hidroxil do ácido ferúlico (236).

Os ésteres são compostos polares com baixo peso molecular e solubilidade limitada em matérias-primas com elevado teor de gordura, que é o caso das amêndoas do baru, que apresenta em sua composição química, um teor médio de lipídeos em torno de 40%. Estes ácidos fenólicos são facilmente volatilizados quando submetidos ao aquecimento por longos períodos, podendo reduzir o efeito antioxidante dos mesmos.

Shopova & Milkova (237) avaliando a decomposição térmica desses compostos, verificaram que os ésteres do ácido ferúlico são mais estáveis do que o ácido ferúlico livre quando em altas temperaturas como torrefação, ebulição e fritura. Nas amêndoas cruas e nas torradas sem a presença da película, observou-se um conteúdo significativamente inferior de ácido ferúlico, sugerindo uma concentração maior deste composto fenólico na película da amêndoa.

Igualmente, (+) catequina e (-) epicatequina, apresentaram suscetibilidade ao calor, independente da presença de película, provavelmente ocasionada por sua estrutura altamente hidroxilada, vulnerável às reações redox resultando em perdas quando submetidos ao tratamento térmico. Porém, o ácido gálico, apesar de apresentar estrutura química similar, demonstrou uma maior estabilidade durante o processo de torrefação. A (+)-catequina é um monômero que constitui os taninos condensados ou proantocianidinas, assim como a (-)-epicatequina. Concentrando-se principalmente nas cascas e películas dos vegetais (238, 239, 240), o que também foi observado no presente estudo.

Os ácidos cafeico e elágico apresentaram pouca estabilidade quando submetidos ao calor. O efeito que o processamento pode causar na composição dos compostos bioativos em determinados alimentos, foi também observado por vários autores (224, 238, 241, 242), que verificaram alterações na composição dos bioativos, quando submetidos a diferentes processos térmicos. Os autores observaram que em brócolis a cocção ou a fervura interferiram de forma negativa nos ácidos fenólicos e flavonóides, porém aumentou a concentração do ácido p-cumárico. No entanto, em cenouras foi observado efeito contrário, ou seja, o mesmo tratamento térmico aumentou todos os ácidos fenólicos, com exceção do ácido caféico, que reduziu em torno de 70%.

Em amêndoas de cacau, Wollgast & Anklam (243) observaram que, mesmo após a exposição ao calor, no processo de torrefação, ainda mantém uma certa quantidade de polifenóis, constituindo-se de aproximadamente 37% de catequinas, 4% de antocianinas e 58% de pro-antocianidinas.

Uma das hipóteses da diversidade de repostas verificadas nos estudos de estabilidade dos fitoquímicos em alimentos de origem vegetal, é que, ao serem submetidos a processos com tratamento térmico, o calor provoque danos na matriz vegetal, com alteração na composição química, principalmente sobre a proteína dos compostos fenólicos, provocando sua exposição e o conseqüente aumento da disponibilidade de alguns destes compostos. Esse fato que explica as alterações distintas nos teores de ácido gálico, catequina, ácido ferúlico, epicatequina, ácido elágico, ácido p-cumárico, ácido hidroxibenzóico, no perfil de compostos fenólicos encontrados no presente estudo (240, 243, 239, 238).

Observou-se que o processo de torrefação reduziu significativamente a capacidade antioxidante sem alterar os níveis de ácido gálico em amêndoas de baru com película, enquanto que o tratamento térmico na amêndoa sem pele

reduziu significativamente os níveis de ácido gálico sem alterar a atividade antioxidante.

Estes resultados sugerem que outros compostos fenólicos possam ser os principais responsáveis pela atividade antioxidante destas amêndoas, entre os quais, os ácidos elágico, cafeico, ferúlico e a catequina, atuando provavelmente no efeito protetor contra o estresse oxidativo observado em ratos suplementados com ferro oral e alimentados com amendoas de baru, descritos por SIQUEIRA et al. (14).

5.2.2 Conteúdo de tocoferóis

O cromatograma típico da separação de tocoferóis, obtido na análise do óleo da amêndoa do baru, por cromatografia líquida em coluna de fase reversa demonstra dois picos bem definidos, identificados pelos padrões externos como ($\beta+\gamma$ -) e α -tocoferol (Figura. 27).

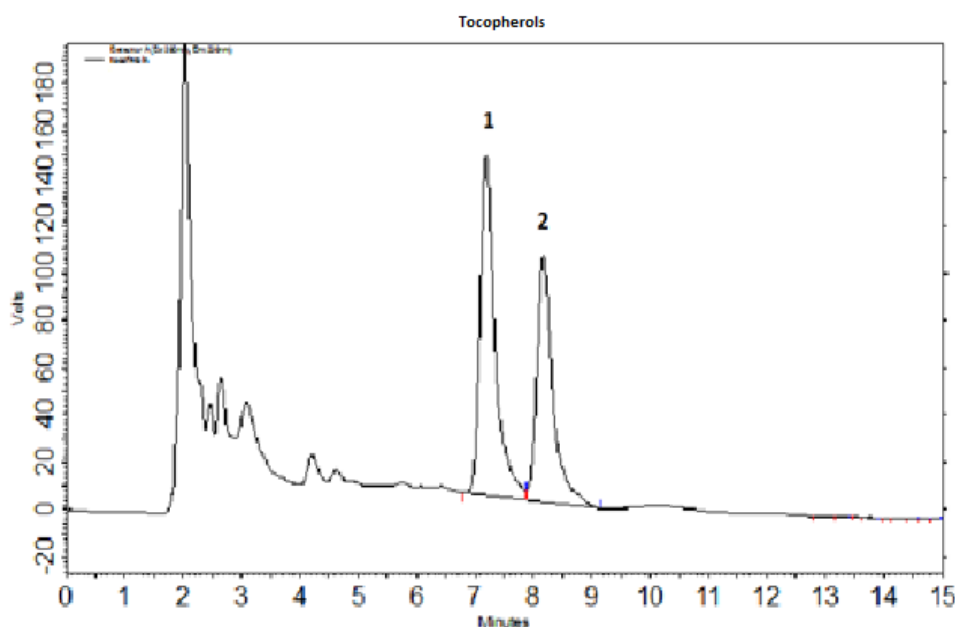


Figura 27– Cromatograma típico de tocoferóis contidos no óleo de amêndoas de baru (*Dipteryx alata* Vog). HPLC com coluna em fase reversa e detector de fluorescência, 290 nm de excitação e 330 nm de emissão; Gradiente com acetonitrila: metanol: isopropanol, 50:40:10 v/v/v, com fluxo de 1,0mL/min. (1)- ($\beta+\gamma$)-tocoferol; (2)- α -tocoferol.

Na Tabela 4 encontram-se os conteúdos de tocoferóis das amêndoas de baru com pele e sem pele, antes e após o processo de torrefação.

Tabela 4 – Conteúdo de tocoferóis da amêndoa do baru com película e sem película, antes e após tratamento térmico.

Tratamento	Tocoferol			
	(mg/100g)			
	α - tocoferol	δ - tocoferol*	$(\gamma+\beta)$ - tocoferol	* Σ (α , $\gamma+\beta$, δ) tocoferóis
Amêndoa crua				
com película	0,7 ± 0,1 ^a	ND	1,5 ± 0,1 ^a	2,1 ± 0,1 ^b
Amêndoa crua				
sem película	0,9 ± 0,1 ^a	ND	1,8 ± 0,0 ^a	2,7 ± 0,1 ^a
Amêndoa torrada				
com película	0,5 ± 0,1 ^a	ND	1,4 ± 0,2 ^a	2,0 ± 0,2 ^b
Amêndoa torrada				
sem película	0,8 ± 0,2 ^a	ND	1,7 ± 0,2 ^a	2,5 ± 0,2 ^a

Valores seguidos por letras minúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si ($p < 0,05$) pela ANOVA, com correção de Bonferroni;
*ND- Não detectado.

O conteúdo total de tocoferóis apresentou uma variação significativa entre as amêndoas, em função da presença ou ausência de película, indicando que os tocoferóis estão contidos em maior quantidade nas amêndoas sem película. Com isto, pode-se inferir que a película da amêndoa contém baixa proporção de tocoferóis, inversamente ao encontrado para o conteúdo de lipídeos e onde também está concentrada a atividade antioxidante. Foi possível observar que o ($\gamma+\beta$)- tocoferol foram compostos majoritários presentes nas amêndoas, em todos os tratamentos a que foram submetidas.

Entretanto, o conteúdo médio de α -tocopherol e de ($\gamma+\beta$) - tocoferol obtido entre as quatro amostras não apresentou diferença significativa ($p<0,05$), em decorrência do tratamento térmico ou da presença ou não da película, indicando que o processo de torrefação não interferiu no conteúdo de tocoferóis das amostras. Estes dados indicam que os tocoferóis mantiveram-se estáveis quando submetidos ao processo de torrefação nas condições deste estudo.

A estabilidade de produtos oleaginosos ao calor depende de vários fatores, entre os quais a variedade, o grau de maturação da matéria-prima e todos os cuidados utilizados na sua produção. Além disso, fatores como a composição em ácidos graxos e a presença de compostos minoritários com atividade antioxidante elevada, principalmente tocoferóis e polifenóis (214), também influenciam na resistência ao processo térmico. Estes resultados reforçam a atividade antioxidante dos tocoferóis e sua relação com os compostos fenólicos.

Os compostos fenólicos em geral estão associados às propriedades sensoriais e podem ser os responsáveis pela resistência à auto-oxidação e à foto-oxidação (244). De acordo com estudos de Gutierrez-Rosales & Arnaud, (245), um teor elevado de compostos fenólicos totais parece ser benéfico para a manutenção das características nutricionais e organolépticas de alimentos ricos em gorduras.

A literatura cita conteúdos de α -tocoferol em diversos produtos ricos em gordura, como em amêndoas em geral (15,80 mg/100g); castanha de caju (3,60 mg/100g) e nozes (1,21 mg/100g), todos contendo quantidades superiores ao encontrado na amêndoa do baru. No entanto, o conteúdo de β -tocoferol encontrado em sementes descritas por Freitas & Naves (132) em amêndoas (0,83 mg/100g), na noz brasileira (0,10 mg/100g) e no pistache (0,32 mg/100g), são inferiores aos valores obtidos para $(\beta+\gamma)$ -tocoferol encontrados nas amêndoas de baru, no presente estudo, independente do tratamento utilizado.

Kornsteiner, Karl-Heinz & Elmadfa (218), estudaram dez tipos de amêndoas e o conteúdo total de tocoferóis variou desde não detectável (ND), no extrato de óleo de macadâmia, até 31.4 mg/100g, no extrato de óleo de avelãs, demonstrando grande variabilidade no conteúdo deste composto em relação ao tipo de amêndoa.

Os dados aqui apresentados confirmam que a quantidade de tocoferóis em vegetais pode ser afetada pela espécie, variedade genética, maturidade, condições climáticas e geográficas, época do ano, intensidade da luz solar e pelo tipo de solo. Mesmo no pós-colheita, a variação no conteúdo de vitamina E é causada por vários fatores, incluindo os processos de armazenamento, preparo das amostras para a análise e método de extração utilizado (220, 207).

5.3 Perfil de ácidos graxos

Na Tabela 5 são apresentados os dados referentes ao perfil lipídico do óleo extraído das amêndoas do baru, com e sem película, submetidas ou não a tratamento térmico.

Tabela 5 - Perfil de ácidos graxos (%) de óleo extraído de amêndoas de baru com e sem película, submetidas ou não a tratamento térmico.

Ácidos Graxos	Tratamentos (Amêndoas)			
	Crua com película	Crua sem película	Torrada com película	Torrada sem película
Saturados	%			
C 16:0	7,58±0,1 ^a	6,57±0,0 ^b	7,56±0,1 ^a	6,61±0,2 ^b
C 18:0	4,33±0,1 ^b	4,89±0,2 ^a	4,34±0,02 ^b	4,84±0,2 ^a
C 20:0	1,27±0,3 ^c	1,52±0, 2 ^a	1,24±0,1 ^c	1,48 ±0,2 ^b
C 22:0	2,59±0,0 ^a	2,26±0,1 ^d	2,51±0,0 ^b	2,34±0,1 ^c
C 24:0	2,99±0,1 ^b	3,38±0,3 ^a	2,96±0,1 ^b	3,31±0,1 ^a
Total	18,76	18,62	18,61	18,58
Insaturados	%			
C 18:1	44,26±0,1 ^b	47,34±0,1 ^a	44,58±0,02 ^b	47,40±0,1 ^a
C 18:2	31,12±0,1 ^b	31,34±0,0 ^a	30,92±0,02 ^c	31,42±0,1 ^a
C 18:3	2,18±0,0 ^a	ND	2,19±0,001 ^a	ND
C 20:1	2,54±0,1 ^c	2,68±0,1 ^a	2,55±0,0 ^c	2,60±0,0 ^b
C 24:1	1,13±0,0 ^b	ND	1,14±0,0 ^a	ND
Total	81,23	81,36	81,38	81,42

*Os dados são expressos como média ± DP, n=3; Médias com letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes, para (p < 0,05);

**ND- Não Detectado;

***C 16:0 Ácido Palmítico; C 18:0 Ácido Esteárico; C 18:1 Ácido oleico; C 18:2 - Ácido Linoleico; C 18:3 - Ácido Linolênico; C 20:0 - Ácido Araquídico; C 20:1 Ácido eláidico ; C 22:0 Ácido Behênico; C 24:0 Ácido lignocérico; C 24:1 - Ácido Tetracosenóico;

Ao analisar perfil lipídico do óleo extraído das amêndoas do baru, verificam-se altos teores de ácidos graxos insaturados principalmente pela predominância, em média, do ácido graxo oleico e do linoleico, sendo este último considerado essencial (133, 170, 246).

Ácidos graxos nutricionalmente importantes foram quantificados neste estudo. O ácido graxo monoinsaturado oleico (C18:1 ω -⁹) e o ácido graxo poliinsaturado linoleico (C18:2, ω -⁶), estão presentes nos óleos oriundos dos quatro tratamentos aos quais as amêndoas foram submetidas, enquanto que o ácido linolênico (C18:3) e tetracosenoico (C24:1) não foram identificados no óleo de amêndoas de baru sem película, independentemente se foram submetidas ao tratamento térmico. Portanto, pode-se inferir que estes ácidos graxos insaturados façam parte exclusivamente do perfil lipídico da película que envolve as amêndoas.

Observou-se que a presença da película afetou significativamente o perfil lipídico do óleo das amêndoas do baru, por incorporar dois ácidos graxos importantes, enquanto que o processo de torrefação não alterou de forma significativa o perfil de ácidos graxos, em especial, os ácidos graxos insaturados (C18: 1, C18:2 e C18:3), independente da presença da película.

O clima na região do Cerrado é caracterizado por basicamente por verões quentes e invernos amenos (146, 7). O elevado número de horas de exposição ao sol foi relacionado com o elevado teor de antioxidantes nas plantas (247). Os antioxidantes são uma forma de defesa contra os radicais livres produzidos durante a fotossíntese (248) e os polifenóis são os principais responsáveis pela defesa contra a auto-oxidação e a foto-oxidação (247). Assim, será de esperar que óleos produzidos com amêndoas oriundas de regiões com temperaturas muito elevadas tenham concentrações mais elevadas de polifenóis.

Boskou et al, (249), reportam uma correlação positiva entre a estabilidade do azeite de oliva e o conteúdo individual ou total de compostos fenólicos, corroborando com dados deste trabalho, em óleo de amêndoas de baru (*Dipteryx alata* Vog.) e seu conteúdo de compostos fenólicos, atividade antioxidante, perfil de ácidos graxos e conteúdo em tocoferóis.

O ácido oleico (monoinsaturado) confere uma maior resistência à degradação ou ação térmica em óleos e azeites comestíveis. A estereoquímica

dos ácidos graxos também influencia, pois os isômeros *cis* oxidam mais rapidamente do que os isômeros *trans* e as ligações duplas conjugadas são mais reativos do que aqueles que apresentam ligações não conjugadas (214).

Assim, os ácidos graxos livres oxidam-se a uma velocidade superior do que os seus ésteres, sendo considerados pró-oxidantes. No entanto, quando estão presentes em pequenas quantidades, não influenciam a estabilidade oxidativa de forma significativa. Aparício et al (250) demonstraram que a resistência e estabilidade de óleos depende, por ordem decrescente de importância, do teor de compostos fenólicos, do teor e composição em ácidos graxos e dos teores em α -tocoferol.

Estes fatores podem explicar a estabilidade do óleo de amêndoas de baru, diante do processo de torrefação e provavelmente sua maior resistência aos efeitos oxidativos e ao calor. O teor mais elevado do ácido oleico em sua constituição, associada ao conteúdo de compostos fenólicos e o baixo teor de ácidos graxos saturados, podem ser os responsáveis pela estabilidade dos tocoferóis e sua atividade antioxidante.

Todas as amêndoas, independente do tratamento a que foram submetidas apresentaram teor de ácido oleico superior ao do óleo de girassol (25,15%), de castanha-do-pará (28,92%) e de amendoim (16,7%) e inferior ao azeite de oliva (74%), ao pistache (55,98%), macadâmia (58,51%) e noz pecã (53,65%). A combinação de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados é muito positiva, pois ambos potencializam a redução do colesterol total e da lipoproteína de baixa densidade (*Low Density Lipoprotein* - LDL) sem reduzir a lipoproteína de alta densidade (*High Density Lipoprotein* - HDL), além de apresentar importante ação cardioprotetora, atuando como fator preventivo no risco de coronariopatias (169, 251,170).

Togashi (172) apud Almeida et al. (252), destacam em seus estudos, proporções de ácidos graxos insaturados de 80%, sendo o componente principal o ácido oleico (44,53%) seguido do linoléico (31,70%), palmítico (7,16%) e esteárico (5,33%). 168 relatam teores de ácidos graxos insaturados

de 81,20 % para amêndoas de baru, corroborando com este trabalho. Vallilo et al (206) consideram que o óleo de baru possui elevado grau de insaturação e teor relativamente alto de ácido linoleico, sugerindo assim sua utilização em substituição ao óleo de soja na alimentação humana.

Dentre os ácidos graxos poliinsaturados, o ácido linoleico (C18: 2, ω^6) destaca-se pela sua importância para o organismo, por ser precursor do ácido araquidônico (C20:4) em organismos ainda jovens e em desenvolvimento (252). Dentre os ácidos graxos ômega-3, o ácido linolênico (C18: 3), é o mais importante pois, do qual, por alongamento e dessaturação,, passam a gerar os ácidos eicopentaenoico (EPA, C20:5) e docosahexaenoico (DHA, C22:6) (251; 252; 246).

Os ácidos graxos essenciais, linoleico (C18: 2) e linolênico (C18:3), n-6 e n-3 respectivamente, apresentam efeitos em diversos processos fisiológicos, além de atuarem na prevenção e tratamento de doenças cardiocirculatórias, reduzindo assim as placas de ateromas, trombose e conseqüentemente, os riscos de AVC (acidente vascular cerebral) (251; 252).

Estudos comprovam também sua ação benéfica nos casos de hipertensão, diabetes, artrite, processos inflamatórios e câncer (253). Além disso, estudos demonstram que o ácido ω^3 é essencial ao desenvolvimento das células nervosas, neurônios e células da glia, interferindo de maneira positiva nas sinapses neuronais (253, 246).

Em função principalmente da composição em ácidos oleico e linoleico, a amêndoa de baru constitui-se em um alimento de alta qualidade nutricional. O teor de ácidos graxos insaturados contidos nas amêndoas favorece seu uso para fins comestíveis, devido ao significativo potencial nutritivo e também um possível aproveitamento na indústria farmacêutica (formulação de compostos nutracêuticos) e exploração na indústria de óleos comestíveis.

6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos é possível concluir que em amêndoas do baru (*Dipteryx alata* Vog.):

- Este estudo revelou que, apesar da degradação parcial dos compostos fenólicos, durante o processo de torrefação, a amêndoa de baru manteve sua atividade antioxidante;
- As amêndoas de baru com película apresentaram teor mais elevado de compostos fenolicos e também uma atividade antioxidante mais elevada quando comparada com amêndoas sem película, sugerindo que a película da amêndoa pode ser uma potencial fonte de antioxidantes;
- Embora o ácido gálico tenha sido o composto fenólico predominante nas amendoas de baru, este não parece ser o principal responsável pela atividade antioxidante contido nas amêndoas;
- O processo de torrefação não afetou de forma significativa o conteúdo de tocoferóis e perfil de ácidos graxos;
- A presença de película das amêndoas de baru eleva o teor de lipídeos e altera a composição de ácidos graxos insaturados, incorporando ao perfil lipídico, importantes ácidos graxos poliinsaturados (C18:3), sob o ponto de vista nutricional;
- A amêndoa do baru crua constitui-se numa importante fonte de lipídeos, principalmente em ácidos graxos insaturados;

- Os teores de tocoferóis e, em especial dos ácidos graxos oleico (C18:1), eláídico (C20:1) e tetracosenóico (C24:1), aliado ao teor dos ácidos poliinsaturados linoleico (C18:2) e linolênico (C18:3), reforçam o seu potencial como alimento com propriedade de alegação funcional.

CONTRIBUIÇÕES

O presente estudo apresenta como contribuições originais relativas à amêndoa do baru, a presença de altos níveis de compostos fenólicos, como os ácidos gálico, catequina, ácido ferúlico, epicatequina, além de outros em menor concentração, como o ácido p-cumárico, ácido elágico, ácido cafeico e o ácido p-hidroxibenzoico, até então ainda não descritos na literatura;

Foi evidenciada ainda *in vitro* a atividade antioxidante na amêndoa do baru, reforçando estudos anteriores que observaram atividade antioxidante da amêndoa em modelo animal (*in vivo*);

Também se confirma a alta qualidade nutricional do óleo da amêndoa investigada ao identificar a prevalência de ácidos graxos insaturados, além da vitamina E na sua composição.

RECOMENDAÇÕES

A partir destes ensaios, abrem-se possibilidades de novos estudos, dentre eles:

- Proceder ao isolamento e purificação dos compostos bioativos contidos em amêndoas de baru para utilização em experimentos *in vivo*;
- Analisar a ação dos compostos bioativos encontrados nas amêndoas de baru (*Dipteryx alata* Vog.) separadamente em modelos biológicos experimentais a fim de melhor elucidar o real mecanismo de ação e sua contribuição no controle e prevenção de diversas patologias;
- Avaliar o efeito do consumo dos compostos bioativos em animais com doenças pré-existentes;
- Observar o efeito do consumo dos compostos bioativos *in vivo*, no processo de envelhecimento celular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cohen MV. Free radicals in ischemic and reperfusion myocardial injury: is this time for clinical trials? *Ann Intern Med* 1989 111: p 918-31.
2. Phung OJ, Makanji SS, White CM, Coleman CI. Almonds have a neutral effect on serum lipid profiles: a meta-analysis of randomized trials. *J Am Diet Assoc.* 2009 May;109(5): p 865-73.
3. Van Horn L, McCoin M, Kris-Etherton PM, Burke F, Carson JAS, Champagne CM, Karmally W, Sikand G. The Evidence for Dietary Prevention and Treatment of Cardiovascular Disease. *Journal of the American Dietetic Association* 2008 108: p 287-331.
4. Rochfort S., Panozzo J. Phytochemicals for health, the role of pulses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007 55: p 7981–7994.
5. Liu RH, Liu J, Chen B. Apples Prevent Mammary Tumors in Rats. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53 (6): p 2341-43.
6. Tiburg LB, Mattern T, Folts JD, Weisgerber UM, Katan MB..Tea flavonoids and cardiovascular disease: a review.*Crit Rev Food Sci Nutr.* 1997 Dec;37(8):p 771-85.
7. Klink, C. A. & Machado, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro.*Megadiversidade* 2005 1(1): p 147-155.
8. Mendonça, R.C.; Felfili, J.M.; Walter, B.M.T.; Silva Jr. M.C., Rezende, A.V., et al. Flora vascular do bioma Cerrado. In *Cerrado: ecologia e flora vol.2* (S.M. Sano, S.P. Almeida & J.F. Ribeiro, eds.). Embrapa: Informação Tecnológica, 2008 Brasília, p 222-1279.
9. Prevedello, J.A. & C.J.B. de Carvalho. Conservação do Cerrado brasileiro: o método pan-biogeográfico como ferramenta para a seleção de áreas prioritárias. *Natureza e Conservação* 2006 4: p 39-57.
10. Sano, S. M., Ribeiro, J. F., Brito, M. A. Barú: biologia e uso. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2004. 52 p. (Embrapa Cerrados. Documentos, p 116.
11. Lorenzi, H., Bacher L., Lacerda M., Sartori S. Frutas brasileiras e exóticas cultivadas de consumo *in natura*. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.640p.
12. Botezelli, L., Davide, A. C., & Malavasi, M. M. Characteristics of fruits and seeds of four provenances of *Dipteryx alata* Vog. *Cerne* 2000 6: p 9-18.
13. DiPietro, CM, Liener, IE Heat inactivation of the Kunitz and Bowman-Birk soybean protease inhibitors. *J. Agric. Food Chem.* 1989, 37, p 39-44.

14. Siqueira, EM A, Marin, AM F, Arruda S F, Cunha M S B, Fustinoni A M, & Dourado, L. P. Consumption of baru seeds [*Dipteryx alata* Vog.], a Brazilian savanna nut, prevents iron-induced oxidative stress in rats. *Food Research International* 2012, 45,p 427– 433, 2012.
15. Rouquayrol MZ, Almeida Filho N, organizadores. *Epidemiologia & saúde*. 6ª Ed. Rio de Janeiro: Editora Medsi; 2003. p 499-513.
16. Gottlieb, MG V, Morassutti, AL, & Cruz, I B M Transição epidemiológica, estresse oxidativo e doenças crônicas não transmissíveis sob uma perspectiva evolutiva. *Scientia Medica*. Porto Alegre, 2011 21: 2, p 69-80.
17. Eaton, S.B., Eaton, S.B III., & Konner, M.J. (1997). Paleolithic nutrition revisited: a twelve-year retrospective on its nature and implications. *European Journal of Clinical Nutrition*, 51, p 207-216.
18. Armelagos GJ, Brown PJ, Turner B. Evolutionary, historical and political economic perspectives on health and disease. *Soc Sci Med*. 2005;61:p 755-65.
19. Futuyma DJ *Biologia evolutiva*. 2a ed. Sociedade Brasileira de Genética. 57: p 1216–1220, 2003.
20. Hoberg EP, Jones A, Rausch RL, Eom KS, Gardner SL. A phylogenetic hypothesis for species of the genus *Taenia* (Eucestoda: *taeniidae*). *J Parasitol* 2000;86:p 89–98.
21. Hogan, DJ & Vieira, PF (org.). *Dilemas Socioambientais e Desenvolvimento Sustentável*. Campinas, Editora da Unicamp, 1992.
22. Silverthorn DU. *Fisiologia humana: uma abordagem integrada*. 5ª ed. Porto Alegre, Artmed, 2010.
23. Pignatti MG. *Saúde e Ambiente: As doenças emergentes no Brasil*. Revista Ambiente & Sociedade. VII. 1, 2004.
24. Hanninen, O, & Sem, KC *Nutritional Supplements and Functional Foods: Functional Significance and Global Regulations*. *Nutraceutical and food Regulations*, Columbus, 2008 p 35-11.
25. Bagchi, D. Preface. *Nutraceutical and Functional Food Regulations in the United States and Around the World Elsevier professional*, p. 462, 2008.
26. Yunes, RA, & Cechinel Fº, V: Breve análise histórica da Química de Plantas Medicinais: Sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas Ocidental e Oriental: In: RA Yunes, JB Calixto,

- Plantas Medicinais sob a ótica da Química Medicinal Moderna. Argus, Chapecó-SC: 2001 p 523.
27. Popkin, B. M: Global nutrition dynamic: the world is shifting rapidly toward a diet linked with non communicable diseases. American Journal of Clinical Nutrition, Chapel Hill 2006 84(2), p 298-289.
 28. Morgan JW, Singh PN. Nutr Cancer 1995;23:p 247-57.
 29. Li H, Wang X, Li Y, Li P, Wang H: Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. Food Chem 2009, 112:p 454-460.
 30. García, A., M.; Pascual, T. S.; Santos, B. C., & Rivas, G. J. C. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. Food Chemistry, Salamanca,2004 84 (3), p18.
 31. Rezende EM, Sampaio IBM, Ishitani LH. Causas múltiplas de morte por doenças crônico-degenerativas: uma análise multidimensional. Cad Saúde Pública 2004 20: p 1223-31.
 32. World Health Organization. Obesity (WHO): preventing and managing the global epidemic. Technical Report Series, p.894. Geneva: WHO, 2000.
 33. World Health Organization (WHO-): Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. WHO Technical Report Series, 916. Geneva: WHO, 2003.
 34. Whitlock G, Lewington S, Sherliker P, Clarke R, Emberson J, et al. Prospective Studies Collaboration. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. Lancet. 2009 373:p 1083–1096.
 35. OMS Organização Mundial da Saúde. Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde – 10^o revisão. v. 1. São Paulo: Edusp; 2000.
 36. Guyton, Arthur C. - Tratado de fisiologia médica. 7^a ed. Madrid [etc.]: Interamericana, 1990 . ISBN 84-761 5-p 263-9.
 37. Barreiros, L B S, David, J M, & David, J P: Oxidative stress: relations between the formation of reactive species and the organism's defense. Química Nova, 2006 29, p 113-123.

38. Halliwell B, Gutteridge JMC. Antioxidant defenses. In: Free radicals in biology and medicine. 3rd ed. Oxford: Clarenton Press; 1999. p105-245.
39. Ross D, Moldeus PR. Antioxidant defense systems and oxidative stress. In: Vigo-Pelfrey C, ed. Membrane Lipid Oxidation, Vol. II Boca Raton: CRC,1991: p 151-170.
40. Higdon JV, Frei B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. Crit Rev Food Sci Nutr. 2003; 43(1):89–143.
41. de Lorgeril M, Salen P, Accominotti M, Cadau M, Steghens JP, Boucher F, de Leiris J: Dietary and blood antioxidants in patients with chronic heart failure. Insights into the potential importance of selenium in heart failure. Eur J Heart Fail 2001;3:p 661–669.
42. Batlouni, M. Interação placa, endotélio, coagulação e isquemia aguda. RSCESP, 1993 3:2, p136.
43. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine. 4th Edition, Oxford University Press, 2007.
44. De Lorgeril M, Renaud S, Mamelle N, Salen P, Martin JI, Monjaud I, Guidollet J, Touboul P, Delaye J. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in the secondary prevention of coronary heart disease. LANCET 1994,(343):p 1454-1459.
45. Junqueira, L C, & Carneiro, J. Histologia básica. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
46. Singh, U & I Jialal. Oxidative stress and atherosclerosis. Pathophysiology. 2006 13: p129-142.
47. Avezum A; Piegas Ls, & Pereira Jcr. Fatores de risco associados com infarto agudo do miocárdio na região metropolitana de São Paulo: uma região desenvolvida em um país em desenvolvimento. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. S. Paulo. 2005 84:3, p 206-13.
48. Gross et al.. Diagnóstico e classificação do diabetes melito e tratamento do diabetes melito tipo dois. Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo, 2000 44:1, p 32-5.
49. Alabaster, O. et al. A fibra alimentar e a saúde. Dieta e Saúde, v. 2,n. 2,.1993. In: SABAA S., JUNQUEIRA M. S. Uso de casca de maracujá (*Passiflora edulis*, f. *flavicarpa*, DEG) cv Amarelo na Alimentação de Ratos (*Rattus Norvergicus*) Normais e Diabéticos, UFRJ Rio de janeiro, 1998.

50. Lapidot T, Walker MD, Kannner J. Antioxidant and prooxidant effects of phenolics on pancreatic -cells in vitro. *J Agric Food Chem* 2002; 50(25):p 7220-5.
51. Collins, A R Assays for oxidative stress and antioxidant status: applications to research into the biological effectiveness of polyphenols. *American Journal of Clinical Nutrition* 2005 81(1), p 261S-267S.
52. Ames, B. N. Shigenaga, M. K. and Hagen, T. M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging, *Proceeding of National Academy of Sciences of the United States of America*,1993 90: p 7915-7922.
53. Bohr V.A. *Free Radic. Biol. Med.* 2002 32, p 812-804.
54. Mehta RG, Murillo G, Naithani R, Peng X. Cancer chemoprevention by natural products: how far have we come?. *Pharm Res.* 2010;27:p 950-96.
55. Vasco C, Ruales J, Kamal-Eldin A 2008. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chem* 111: p 816-823.
56. Robbins L. S; Cotran S. R. *Patologia. 7ed.* Rio de Janeiro, *Elsevier*, 2005.
57. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: Back to Virchow? *Lancet.* 2001;357:p 539-545.
58. Nohl, H. Involvement of free radicals in ageing: a consequence or cause of senescence. *British Medical Bulletin*, 1993 49 (3) p 653-67.
59. MacNee W, Rahman I. Is oxidative stress central the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease? *Trends Mol Med.* 2001; 7: 55-62.
60. Hirata, L. L.; Sato, M. E. O; Santos, C. A. M. Radicais Livres e o Envelhecimento Cutâneo. *Acta Farmacêutica Bonaerense.* 2004; 23: 3, p 418-24.
61. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of Gerontology.*1956; 11(3) 98-300.
62. Halliwell, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr. Res.* 1994 52:p 253-265.
63. Nahas, M. V. *Atividade Física e saúde. Conceitos e sugestões para um estilo de vida ativo.* 3. ed. Londrina: Midiograf, 2001.
64. Mastaloudis A, Morrow JD, Hopkins DW, Devaraj S & Traber MG (2004) Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid

- peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. *Free Radic Biol Med* 36, p 1329–1341.
65. Nelson, ME, Rejeski, J, Blair, Steven N P, Duncan, P W, Judge, James O, King, A C, Macera, C A, Castaneda-Sceppa, C.. Physical Activity and Public Health in Older Adults-Recommendation from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. Downloaded from <http://circ.ahajournals.org/> by guest on June 11, 2012.
 66. Satchek, J & Blumberg, J. Role of vitamin E and oxidative stress in exercise. *Nutrition*, 2001 17, p 814- 809.
 67. Shigenaga, M; Hagen, T & Ames, B. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proceeding of the National Academy of Sciences, USA*, 1994 91, p 10771-10778.
 68. Reiter, R J Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the brain. *Faseb J*, 1995:9; p 526-533.
 69. Halliwell B Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem*, 1992 59: p1609-23.
 70. Ferreira, A L A, & Matsubara, LS: Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista Associação Médica Brasileira*, 1997 43; 1: p 61-8.
 71. Shami, N J I E, & Moreira, E A M: Licopeno como agente antioxidante. *Rev. Nutr.*, 2004 17; p 227.
 72. Cerqueira, F M, Medeiros, M H G, & Ohara, A: Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. *Química Nova*, São Paulo: 2007:2, p.30.
 73. Guaratini, T.; Medeiros, M. H. G., & Colepicolo, P. Antioxidantes na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: uso e avaliação de sua eficácia. *Quím. Nova*, São Paulo, 2007:30; 1.
 74. Matsuo W; & Kaneco T. The chemistry of reactive oxygen species and related free radicals. In Radák Z, editor. *Free Radicals in Exercise and Aging Champaign: Human Kinetics*, 2001.
 75. Nordberg, J & Arnér, Esj: Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology & Medicine*, 2001 31(11); p1287-1312.
 76. Erenel, G.; Erbas, D., & Aricioglu, A. Free radicals and antioxidant systems. *Materia Medica Polona*, Warsaw, 1993:1;85, p 43-37.
 77. Eaton Jw. Catalases and peroxidases and glutathione and hydrogen peroxide: mysteries of the bestiary (editorial; comment). *J Lab Clinical Medical*, 1991:118, p 3-4.

78. Halliwell B., Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol*, 1990 186, p.85-1.
79. Soares SE: Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Rev Nutrição Campinas*; 2002 15(1): 71-81.
80. Halliwell , B: *Cardiovascular Research* 47 (2000) 410-418.
81. Barbosa, et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de. Nutrição*, p. 23, Campinas: 2010.
82. Kaur, G., M.S. Alam, Z. Jabbar, K. Javed And M. Athar: Evaluation of antioxidant activity of *Cassia siamea* flowers. *J. Ethnopharmacol* 2006 108: p 340-348.
83. Cerqueira, F. M.; Medeiros, M. H. G., & Ohara, A. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. *Química Nova*. São Paulo: 2007 .2, p 30.
84. Vasconcelos, et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para sua determinação. *Quim. Nova*. 2007 30:5;1323-1338.
85. Halliwell, B. Antioxidants and human diseases: A general introduction. *Nutrition Rev.*, 1997, 55: p S44-S49.
86. Pompella, A. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. *International Journal of Vitamin and Nutrition Research*, Bern, v.67, n.5, p.289-297, 1997.
87. Sies, H. & Stahl, W. Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *American Journal of Clinical Nutrition*, Houston, v.62, n.6, p.1315-132, 1995.
88. Prior, R.I. Phytochemicals. In: Shils M.E.; Olson J.A.; Shike M.; Ross A.C. *Modern nutrition in: health and disease*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p.582-94, 2006.
89. Liu, R.H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *Journal of Nutrition*, v.134, n.12 Suppl, p.3479S-3485S, 2004.
90. Vaccari, N. F. S.; Soccol; Marcilene, C. H., & Ide, G.M. Compostos fenólicos em vinhos e seus efeitos antioxidantes na prevenção de doenças. *Revista de Ciências Agroveterinárias*. Lages, v.8, n.1, p. 71-83, 2009.

91. Liu RH, Liu J, Chen B. Apples Prevent Mammary Tumors in Rats. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53 (6):2341-43.
92. Hoffmann-Ribani, R. & Rodriguez-Amaya, D. Otimização de método para determinação de flavonóis e flavonas em frutas por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando delineamento estatístico e análise de superfície de resposta. *Quim. Nova*, v.31, n. 6, p.1378-1384, 2008.
93. Prior, RI. Phytochemicals. In: Shils M.E.; OLSON J.A.; SHIKE M.; ROSS A.C. *Modern nutrition in: health and disease*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p.582-94, 2006.
94. Degáspari, C. H., & Waszczynsky (2004). Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. *Visão Acadêmica*. Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33 – 40, 2004.
95. Mann, J. *Secondary Metabolism*. Claredon Press, 8, Oxford, 1987.
96. Kampa et al. Antiproliferative and apoptotic effects of selective phenolic acids on T47D human breast cancer cells: potential mechanisms of action. *Breast Cancer Res.* v.6, p.63-74, 2004.
97. Azuma, K; Ippoushi, K; Nakayama, M.; Ito, H.; Higashio, H, & Terao, J. Absorption of chlorogenic acid and caffeic acid in rats after oral administration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.48, p.5496-5500, 2000.
98. Havsteen, B.H..The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Ther.* v.96, p.67-202, 2002.
99. Kuenzing, W., Chan, J., & Norkus, E. Caffeic acid and ferulic acid as blockers of nitrosamine formation. *Carcinogenesis*, v.5, p.309-314, 1984.
100. Vatter, D. A. Cranberry synergies for dietary management of *Helicobacter pylori* infections. *Process Biochem.* v.40, p.1583–1592, 2005.
101. Yanishlieva, N. V., Marinova, E., & Pokorny, J. Natural antioxidants from herbs and spices. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108, p.776–793, 2006.
102. Balasundram, N., Sundram, K, & Samman, S. Phenolic Compounds In Plants And Agri-Industrial By-Products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99 (1), p. 191-203, 2006.
103. Harborne, J. B. & Williams, C. A. Advances in flavonoid research since. *Phytochemistry*, v.52, p. 481-504, 2000.
104. Havsteen, B.H. Flavonoids. A class of natural products of high potency pharmacological. *Biochemical Pharmacology*, v. 32, p.1141, 1983.

105. Birt, D.F., Hendrich, S., Wang, W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacol. Ther.* v. 90, p. 157–177, 2001.
106. Sen, G.C. & Lengyel, P. The interferon system. A bird's eye view of its biochemistry. *J. Biol.Chem*, 267, p.5017–5020, 1992.
107. Sartor, L., Pezzato, E., Dell'aica, I., Caniato, R., Biggin, S., & GARBISA, S. Inhibition of matrix-proteases by polyphenols: chemical insights for anti-inflammatory and anti-invasion drug design. *Biochem. Pharmacol*, v.64, p.229-237, 2002.
108. Cetta, G.; Pallavicini, G.; Tenni, R., & Bisi, C. Influence of flavonoid-copper complexes on cross-linking in elastin. *Ital. J. Biochem.* v.26, p. 317–327, 1978.
109. Yanishlieva, N. V., Marinova, E., & Pokorny, J. Natural antioxidants from herbs and spices. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108, p.776–793, 2006.
110. Bobbio P A, & Bobbio F O. *Química do processamento de alimentos*. 2 a.ed. São Paulo: Varela; 1995.
111. Abby, K., Skrede, G. and Wrolstad, R. E. Phenolic Composition and antioxidant activities in flesh and achenes of strawberries (*Fragaria ananassa*). *J. Agric. Food Chem.* 2006 53: 4032-4040.
112. Matsubara, S.; Rodriguez-Amaya, D.B. Teores de catequinas e teaflavinas em chás comercializados no Brasil. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* (Campinas), v.26, n. 2, p. 401-407. Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2006.
113. Lee, J.; Durst, R. W.; Wrolstad, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal AOAC International*, v. 88, n. 5, p. 1269-1278, 2005.
114. Queiroz, C.R.A.A.; Morais, S.A.L. & Nascimento, E.F. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). *Rev. Árvore*, v. 26, p. 485-492, 2002.
115. Bernays, E. A.; G. C. Driver; M. Bilgener. Herbivores and plant tannins. *Advances in Ecological Research*. v. 19, p.263-302, 1989.
116. Wu et al. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.52, p.4026-4037, 2004.
117. Khanbabaee K, & Van Ree T. Tannins: classification and definition. *Nat. Prod. Rep*, v.18, n., p. 641-649, 2001.

118. Li, H.; Wang, X.; Li, P., & Wang, H. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. *Food Chemistry*, 112, p. 454-460, 2009.
119. Wang, H., Cao, G., & Prior, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.44, p.701–705, 1996.
120. Monteiro, J.; Albuquerque, M.; Araújo U. P.; Amorim, E. L., Cavalcanti; E. L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Quím. Nova*, v.28, 2005.
121. Mullen Et al.. Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. *J Agric Food Chem.* v. 50, p.5191-5196, 2002.
122. Wang, S.Y, Maas, J.L., Payne, J.A, et al. Ellagic acid content in small fruits mayhaws, and other plants. *Journal Small Fruit and Viticulture*, Baton Rouge, v. 2, n. 4, p. 11-49, 1994.
123. Dufresne, C. J.; E. R. Farnworth. A Review of latest research findings on the health promotion properties of tea. *J. Nutr. Biochem.* v.12, p. 404-421.
124. Mandel, S. & Stoner., G. D. Inhibition of N-nitrosobenzylmethylamine. Induced esophageal tumorigenesis by ellagic acid. *Carcinogenesis*, v.11, p.55-61, 1990.
125. Queiroz EF, Roblot F, Cave A 1996. Pseudoephedrine and spinosine, two catecholic berberines from *Annona spinescens*. *JNat Prod* 59: 438-440.
126. Robbers, J.E.; Speedie, M.K.; Tyler, V.E. *Farmacognosia e Farmacobiotechnologia*. São Paulo: Editora Premier, p. 372, 1997.
127. Haslam, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *Journal of Natural Products*, v. 59, p. 205-215, 1996.
128. Chung, K. T.; Wong, T. Y.; Wei, C. I.; Huang, Y. W. ; Lin, Y. . Tannins and Human health: a review. *Critical Reviews in Food Nutritional*, Amherst, v.38, p.421-464, 1998.
129. HASSAN, O., & FAN, L.S. The anti-oxidation potential of polyphenol extract from cocoa leaves on mechanically deboned chicken meat (MDCM) *LWT – Food Science and Technology*, v. 38, n. 4, p. 315-321, 2005.
130. Senger A.E.V.; Schwanke Cha, & Gottlieb M.G.V. Chá verde (*Camellia sinensis*) e suas propriedades. *Sci Med*, v.20, n.4, p. 292-300, 2010.
131. Schroeter, et al. Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. *PNAS - Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 103, n. 4, p. 1024 -1029, 2005.

132. Freitas, J. B. & Naves, M. M. Composição química de nozes e sementes comestíveis e sua relação com a nutrição e saúde. *Revista de Nutrição*, Campinas, v.23, n.2, p.269-279, 2010.
133. Tucker, J.M.; TOWNSEND, D.M. Alpha-tocopherol: roles in prevention and therapy of human disease. *Biomed. Pharmacother*, v.59, p. 380-387, 2005.
134. Setiadia, D. H. Vitamin E models. Shortened side chain models of α , β , γ and δ tocopherol and tocotrienol: a density functional study. *J Mol Struct*, v, 637, p.11-26, 2003.
135. Frega, N., M.; Mozzon, & F. Bocci. Identification and estimation of tocotrienols in the annatto lipid fraction by gas chromatography mass spectrometry. *Journal of the American Oil Chemists Society*. V.75, n.12: 1723-1727.1998.
136. Thomas, S. R., & Stocker, R.. Molecular action of vitamin E in lipoprotein oxidation: implications for atherosclerosis. *Free Radical Biol. Med.* v.28, p.1795-1805, 2000.
137. IBGE-INSTITUTO Brasileiro De Geografia E Estatística-
http://www.portalbrasil.net/cerrado_vegetacao.htm. Acesso em: 23/02/12.
138. Lugo, A.E. Estimating Reductions in the Diversity of Tropical Forest Species. In: WILSON, E.O. & PETER, F.M. *Biodiversity*. Washinton. National Academy Press, p. 3-18, 1988.
139. Lorenzi, H, & Matos, F. J. A. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Instituto Plantarum, p.544. Nova Odessa - S. Paulo: 2002.
140. Saito. T S, Welzel A, Suyenaga E S, Bueno F. Method for fast determination of epigallocatechin gallate (egcg), epicatechin (ec), catechin (c) and caffeine (caf) in green tea using HPLC. *Cienc Tecnol Aliment*. v. 26, p. 394-398, 2006.
141. EMBRAPA CERRADO: acesso em 24/02/2012. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia16/AG01/Abertura.html>
142. Borlaug, N. Feeding a world of 10 billion people: the miracle ahead. In: R. Bailey (ed.). *Global warming and other eco-myths*. p. 29-60. Competitive Enterprise Institute, Roseville, EUA, 2002.
143. Silva, F. A. M., Assad, E. D. & Evangelista, B. A. Caracterização climática do Bioma Cerrado. In *Cerrado: ecologia e flora* (S.M. Sano, S.Paulo: Almeida & J.F. Ribeiro, eds.). Embrapa Cerrados, Brasília, p. 61-88, 2008.

144. Caramori, P.H.; Kathounian, C.A.; Morais, H.; Leal, A.C.; Gorreta, R, & Androcioli Filho, A. Arborização de cafezais e aspectos climatológicos. In: Matsumoto, S.N. (Org.). Arborização de cafezais no Brasil. Edições Uesb, Vitória da Conquista, p. 21-38, 2004.
145. Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Fonseca, G. A. B. & Kent, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, p.853-858, 2000.
146. Roque, P. A. Colonização do Cerrado: savanas e celeiro do mundo. Ed. Premio. São Paulo. 2006.
147. Pires, M. O. & Santos, I.M. Rede Cerrado – Construindo o Cerrado Sustentável. Experiências e Contribuições das ONG's – Brasília: Gráfica Nacional, 2000.
148. AB'Saber, A. N. Espaços ocupados pela expansão dos climas secos na América do Sul, por ocasião dos períodos glaciais quaternários. *Paleoclimas*, 3, IGEOG/USP. São Paulo, 1997.
149. Ribeiro, J.F. & Walter, B.M.T. As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. In *Cerrado: ecologia e flora* (S.M. Sano, S.P. Almeida & J.F. Ribeiro, eds.). Embrapa Informação Tecnológica, Brasília: 1p.51-212, 2008.
150. Mendonça, R.; J. Felfili; B. Walter; J.C. Silva Jr.; A. Rezende, et al. Flora vascular do Cerrado. In: S. Sano & S. Almeida (eds.). *Cerrado. Ambiente e flora*. p. 288-556. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa - Cerrados, Planaltina, Brasil, 1998.
151. Amorozo, M. C. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Leverger, MT, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v 16, p.189 – 203, 2002.
152. Sano, S.M. & Ribeiro, J .F. *Cerrado: espécies vegetais úteis*. Planaltina Embrapa-CPAC, 1998.
153. Giulietti, A. M.; Harley, R.M.; Queiroz, L. P.; Wanderley, M. G., & Van Den Berg, C. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. *Megadiversidade*, v.1, p. 52-61, 2005.
154. Amorozo, M. C. M. A. Abordagem etnobotânica na pesquisa de plantas medicinais. In: DI STASI, L. C. (Org.). *Plantas medicinais: arte e ciência – um guia de estudo interdisciplinar*. Botucatu: UNESP, S. Paulo, p. 47-68, 1996.
155. Aguiar, L. M. S.; Camargo, A. J. A. *Cerrado: Ecologia e Caracterização*. Planaltina-DF: Embrapa Cerrados. Brasília: DF. Embrapa Informação Tecnológica, 2004.

156. Baru- Acesso em 24/02/2012. Disponível (site de consultas do Cerrado)<http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/baru/baru-6.php>
157. Ribeiro, J.F.; Sano, S.M.; Brito, M.A. de; Fonseca, C.E.L. de. Baru (*Dipteryx alata* Vog.) Jaboticabal: Funep, p.41, 2000.
158. Arvore do Baru. Acesso em 22/05/2012. Disponível em 03/03/2012 <http://edpquatro.blogspot.com.br/2011/09/baru-uma-arvore-do-cerrado.html>
159. Silva, Silvestre P. Frutas no Brasil. Empresa das Artes. São Paulo: 1996.
160. Frutos do Cerrado (Baru). Acesso em: 22/05/2012. Disponível em: site do Cerrado. <http://www.arvoresdf.com.br/especies/nativas/baru.htm>
161. Nogueira, A.C.; David, M.R. Maturação de sementes de *Dipteryx alata* Vog. In: Congresso Florestal Panamericano, 1.; Congresso Florestal Brasileiro, 7, Curitiba: PR. Anais. Curitiba: Sociedade Brasileira de Silvicultura/ Sociedade Brasileira de Engenheiros Florestais, v. 2,p.763, 1993.
162. Acesso: 20/05/2012, em: <http://www.centraldocerrado.org.br/baru.html/>
163. Freitas, J. B. Qualidade nutricional e valor protéico da amêndoa de baru em relação ao amendoim, castanha-de-caju e castanha-do-pará. Dissertação de mestrado: Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás-UFG. Goiás: 2009.
164. Correa, et al. Determinações físicas em frutos e sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.), cajuzinho (*Anacardium othonianum* Rizz.) e pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), visando melhoramento genético. *Bio-science Journal*, v. 24, n. 4, p. 42-47, 2008.
165. Nepomuceno, D. L. M. G. O extrativismo de baru (*Dipteryx alata* Vog.) em Pirenópolis (GO) e sua sustentabilidade. Dissertação (Mestrado em Ecologia e produção sustentável) – Universidade Católica de Goiás, Goiânia: GO, 2006.
166. Sano S. M.; Brito M. A. De, & Ribeiro, J. F. *Baru*. In: *Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil*. 1st Ed.; Vieira, R. F.; Costa, T. da S. A.; Silva, D. B. da; Ferreira, F. R.; Sano, S. M., (Ed.) Embrapa. *Recursos Genéticos e Biotecnológicos*. Brasília: (pp. 76-98). Brasil: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária do Brasil (Embrapa-CPAC), 2006.
167. Marin, A. M., Arruda, S. F., & Siqueira, E. M. A. Minerals, phytic acid and tannin contents of 18 fruits from the Brazilian savanna. *International Journal of Food Science*, 60, p.180–190, 2009.
168. Takemoto, E.; Okada, I. A.; Garbelotti, M. L.; Tavares, M., & Aued-Pimentel, S. Composição química da semente e do óleo de baru

- (*Dipteryx alata* Vog.) nativo do Município de Pirenópolis, Estado de Goiás. Revista do Instituto Adolfo Lutz, v.60, p.113–117, 2001.
169. Vera, R., Soares Junior, M. S, Naves, R. V, Souza, E. R. B., Fernandes, E. P Caliari, M, Leandro, W. M. Características químicas de amêndoas de barueiros (*Dipteryx alata* vog.) de ocorrência natural no cerrado do estado de Goiás, Brasil. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal,v. 31, n.1, p.112-118, 2009.
 170. Togashi, M., & Sgarbieri, V. C. Avaliação nutricional da proteína e do óleo de sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.). Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Campinas: 1995, 15,1, 66-69, 1995.
 171. Mattos, L. L., & Martins, I. S. Consumo de fibras alimentares em população adulta. Rev. Saúde Pública, v.34, n.1, p.50-55, 2000.
 172. Togashi, M. Composição e caracterização química e nutricional do fruto do baru (*Dipteryx alata* Vog.). Dissertação– Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1993.
 173. Ferreira, M. B. Plantas portadoras de substâncias medicamentosas, de uso popular, nos Cerrados de Minas Gerais. Informe Agropecuário. Belo Horizonte: v. 6, n. 61, p. 19-23 1980.
 174. Cozzolino, S.M.F. Biodisponibilidade de Nutrientes. 2ed Manole, S. Paulo. 2006.
 175. Sgarbieri, V.C. Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações. Editora-Livraria Varela, São Paulo, p.517,139-157, 1996.
 176. Togashi, M., & Sgarbieri, V. C. Avaliação nutricional da proteína e do óleo de sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.). Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Campinas: 1995, 15,1, 66-69, 1995.
 177. Kalume, D. E.;Sousa, M.V.; Morhy, L.. Purification, Characterization, Sequence Determination and Mass Spectrometric Analysis of a Trypsin Inhibitor from Seeds of the Brazilian Tree *Dipteryx alata* Vog (Leguminosae). Journal of Protein Chemistry, v.14, p.685-693, 1995.
 178. Lemos, M.R.B., & Soares, L.A. de S. Farelo de arroz: um subproduto em estudo. Óleos & Grãos, v. 7, n. 51, p.40-48, 1999.
 179. Beckett, S. T. Fabricación y utilización industrial del chocolate. Zaragoza: Acribia, p. 432, 1994.
 180. Madrid, A.; Cenzano, I.; Vicente, J.M. Manual de Indústrias dos Alimentos. São Paulo: Varela, p. 599, 1996.

181. Liener, I. E. Possible adverse effects of soybean anticarcinogens. *Journal of Nutrition*, v. 125, p. 744-750, 1995.
182. Zamalloa, C. W. A. Caracterização físico-química e avaliação de metilpirazinas no desenvolvimento do sabor em dez cultivares de cacau (*Theobroma cacao* L.) produzidos no Estado de São Paulo. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, p.111, 1994.
183. Rizzi, C. et al. Active soybean lectin in foods: quantitative determination by ELISA using immobilised asialofetuin. *Food Research International*, v. 36, n. 8, p. 815-821, 2003.
184. Araújo JMA. Química de alimentos: teoria e prática. 3^a ed. Viçosa: UFV; 2006.
185. Cämmerer, B., & Kroh, L. W. Shelf life of linseeds and peanuts in relation to roasting. *LWT – Food Science and Technology*, v.42, n.2, p. 545–549, 2009.
186. Galeazzi M.A.M.; Lima D.M.; Colugnati F.A.B.; Padovani R.M.; Rodriguez Amaya, DB. Sampling Plan for the Brazilian project. *Journal of Food Composition and Analysis*. v.15:p. 499 – 505, 2002.
187. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análises de alimentos. v.1, p.4. Brasília: 1018, 2005.
188. AOAC - Association Of Official Analytical Chemists. 16^a ed. Official Methods of Analysis. Arlington, 1995.
189. AOAC - Association Of Official Analytical Chemists. 17^a ed. Official Methods of Analysis. Arlington, 2005.
190. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Normas e procedimentos, regulamento técnico referente à rotulagem nutricional de alimentos e nutrientes, 2003.
191. Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E., & Berset, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss. Technonology*, London, v. 28, p. 25-30, 1995.
192. Sánchez-Moreno C., Larrauri, J. A., & Sauro-Calixto, A Procedure to measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.76, p.270–276, 1998.
193. Singleton, V. L., & Rossi, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, v.16, p.144-158, 1996.

194. Häkkinen, S. H., Karenlampi, S. O., Heinonen, M., Mykkanen, H. M., & Torronen, A.R. HPLC Method for screening of flavonoids and phenolic acids in berries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.77, p.543-551, 1998.
195. Zambiasi, R. C. The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability. These in Foods and Nutritional at the Sciences Interdepartamental Program. University of Manitoba Winnipeg, Manitoba, Canada. 1997. Acesso in: [<http://hdl.handle.net/1993/931>].
196. Lees, D. H., & Francis, F. J. Standardization of pigment analysis in Cranberries. *Hortiscience*, v. 7, n.1, 83-84, 1972.
197. Rodriguez - Amaya, D. B. Latin American food sources of carotenoids. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 49, Suppl. 1, 74-84, 1999.
198. Abdi, H. The Bonferroni and Sidák Corrections for Multiple Comparisons. *Encyclopedia of Measurement and Statistics*, 2007. Disponível em:
199. Cavalcante, J. F. M. Une contribution a l'etude de la valeur nutritive de la noix de cajou (*Anacardium occidentale L.*) au Bresil. Bélgica. Dissertação (Mestrado em Sciences Naturelles Appliquees), Université Catholique de Louvain, 1983.
200. Andrade, J. S. Aspectos da industrialização da castanha de caju (*Anacardium occidentale L.*). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 1984. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos).
201. Melo, M.L.P.; Maia, G.A.; Silva, A.P.V.; Oliveira, G.S.F.; Figueiredo, R.W. Caracterização físico-química da amêndoa da castanha de caju (*Anacardium occidentale L.*) crua e tostada. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas. v.18, n.2, p.184-187, 1998.
202. Fernandes, D. C. Efeito da amêndoa de baru, amendoim e castanha do Pará no perfil sérico e na peroxidação de lipídios em ratos com dieta hiperlipídica. Dissertação de mestrado. Universidade de Goiás (UFG). 2011.
203. Martins, B. de A. Avaliação físico-química de frutos do cerrado in natura e processados para a elaboração de multimisturas. Dissertação- Universidade Católica de Goiás: Goiânia, 2006.
204. Filgueiras, T. S. Silva, E.(1975). Estudo preliminar do baru (*Leg. Faboideae*). *Brasil Florestal*, Rio de Janeiro: v. 22, n. 6, p. 33-39, 1975.
205. Melhem, T. S. Fisiologia do desenvolvimento de *Dipteryx alata* Vog.: contribuição ao seu estudo. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências/USP. São Paulo, SP, p. 215, 1972.

206. Vallilo, M. I, Tavares, M, & Aued, S. Composição química da polpa e da semente do fruto de cumbaru (*Dipteryx alata* Vog.). Caracterização do óleo e da semente. *Revista do Instituto Florestal*, São Paulo, v. 2, n. 2, p. 115-125, 1990.
207. Câmara, G.M. & S. Heiffig, L.S. Agronegócio de Plantas Oleaginosas: Matérias primas para Biodiesel. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Dep. de Produção Vegetal, Piracicaba, São Paulo: 2006.
208. Silva, A. G. de M. e; Fernandes, K. F. Composição química e antinutrientes presentes nas amêndoas cruas e torradas de chicha (*Sterculia striata* A. St. Hill & Naudin). *Revista de Nutrição*, v.24, n.2, p.305-314, 2011.
209. Lima, et al. Qualidade microbiológica, aceitabilidade e valor nutricional de barras de cereais formuladas com polpa e amêndoa de baru. *Boletim da CEPPA*, v. 28, n. 2, p.331-343, 2010.
210. Yang, J. Brazil nuts and associated health benefits: a review. *LWT - Food Science and Technology*, 42: 1573-1580, 2009.
211. Venkatachalam, M, & Sathe, S. K. Chemical composition of selected edible nuts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, 54, 4705-4714, 2006.
212. Costa, G. E. A. et al. Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. *Food Chemistry United Kingdom*, v. 94, n. 3, p. 327-330, 2006.
213. Matuda, T.G.; Maria Netto, F. Caracterização química parcial da semente de jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas: v. 25, n.2, 2005.
214. Matos, L.; Pereira, J.; Andrade, P.; Seabra, R.; Oliveira, M.B. Evaluation of a numerical method to predict the polyphenols content in monovarietal olive oils. *Food Chemistry*.v.102, 976–983, 2007.
215. Bora, et al. Characterization of principal nutritional components of Brazilian oil palm (*Eliaes guineensis*) fruits. *Bioresource Technology*, Fayetteville, v. 87, p. 1-5, 2003.
216. Czeder, L. P. Composição nutricional e qualidade protéica da amêndoa de baru (*Dipteryx alata* Vog) de plantas de três regiões do Cerrado do estado de Goiás. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2009.

217. Kahkonen, M. P.; Hopia, A. I. & Heinonen, M. Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001 **49**, 4076-4082.
218. Kornsteiner, M., Karl-Heinz, W., & Elmadfa, I. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. *Food Chemistry*, v.98, p. 381–387, 2006.
219. Lima, A.; Silva, A. O. Trindade; R. A. T., Torres; R. P. T. & Mancini-Filho, J. Composição química e composta ativa presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.29, n.3, p.695-698, 2007.
220. Sganzerla, M. Caracterização físico-química e capacidade antioxidante do butiá-PPGCTA. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas: RS, Dissertação (Mestrado), p. 107, 2010.
221. Chaves, M.; Citó, A. M.; Lopes, J. A. D.; Costa, D. A.; Oliveira, C. A., Costa, A. F., & Brito Júnior, F. E. Total phenolics, antioxidant activity and chemical constituents from extracts of *Anacardium occidentale* L., *Anacardiaceae*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, p.106-112, 2010.
222. Simões, C. M. O., & Schenkel, E. P., Gosmann, G., Mello, J. C. P. De, Mentz, L. A., Petrovick, P. R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento* (6th Ed.) Florianópolis: Publisher Federal University of Santa Catarina – Brasil, 2007.
223. Xu, B., & Chang, S. K. C. Total phenolics, phenolic acids, isoflavones, and antioxidant properties of yellow and black soybeans as affected by thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.56, p.7165–7175, 2008.
224. Mazzeo, T., N'dri, D.; Chiavaro, E.; Visconti, A., Fogliano, V., & Pellegrine, N. Effect of two cooking procedures on phytochemical compounds, total antioxidant capacity and color of selected frozen vegetables. *Food Chemistry*, 128, 627–633, 2011.
225. Li, H.; Wang, X.; Li.; Li, P., & Wang, H. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. *Food Chemistry*, 112, p. 454-460, 2009.
226. Wu et al. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.52, p.4026-4037, 2004.
227. Jung, M. J., H., S-I., & Wang, M-H. Free radical scavenging and total phenolic contents from methanolic extracts of *Ulmus davidiana*. *Food Chemistry*, 108, p.482-487, 2008.

228. Villarreal-Lozoya, J E Lombardini, L.; Cisneroszevallos, L. Phytochemical constituents and antioxidant capacity of different pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.)K. Koch] cultivars. *Food Chemistry*, 102, p.1241-1249, 2007.
229. Turkmen, N.; Saril, F., & VeliogLU, Y.S. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*, v.93, p.713-718, 2005.
230. Nicoli, M. C.; Anese, M., & Parpinel, M. Influence of processing on the Antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, Nystrom, L., Achrenius, v.10, p. 94-100, 1999.
231. Lima, et al. Qualidade microbiológica, aceitabilidade e valor nutricional de barras de cereais formuladas com polpa e amêndoa de baru. *Boletim da CEPPA*, v. 28, n. 2, p.331-343, 2010.
232. Kuskoski, E; M. Asuero; A. G., Morales M. T., & Fett, R. Wild fruits and pulps of frozen fruits: antioxidant activity, polyphenols and Anthocyanins. *Ciência Rural*, v.6, p.1283-1287, 2006.
233. Moyer R. A.; Hummer, K. E., Finn, C. E., Frei, B., & Wrolstad, R. E. Anthocyanins, phenolics, and Antioxidants capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 519-525, 2002.
234. Forester, S. C., & Waterhouse, A. L. Gut Metabolites of Anthocyanins, Gallic Acid, 3-O-Methylgallic Acid, and 2,4,6-Trihydroxybenzaldehyde Inhibit Cell Proliferation of Caco-2 Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.58, p.5320–5327, 2010.
235. Março, P. H.; Poppi, R. J. & Scarminio, I. S Analytical procedures for identifying anthocyanins in natural extracts. *Química Nova*, v. 31, p.1218-1223, 2008.
236. Nystrom, L.; Achrenius, T.; Lampi, A-M.; Moreau, R. A., & Piironen, V. A comparison of the antioxidant properties of steryl ferulates with tocopherol at high temperatures. *Food Chemistry*. v.101, p.947-954, 2007.
237. Shopova, N., & Milkova, T. Thermal decomposition of cholesteryl esters of cinnamic acid derivatives and their effect on the alphetralylhydroperoxyde freeradical-induced decomposition. *Thermochimica Acta*, 356, p.101–107, 2000.
238. Efraim P.; Alves A. B., & Jardim D.C.P. Revisão: polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. *Brazilian Journal of Food Technology*, v.14, p.181-201, 2011.

239. Hii, C.L. Law, C.L., Suzannah, S. & Cloke, M. Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *As. Asian Journal of Food and Agro-Industry*, v. 2, p. 702-722, 2009.
240. Wollgast, J., & Anklan, E: Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? *Food Research International*, v.33, p.449-459, 2000a.
241. Pellegrini, N.; Chiavaro, E.; Gardana, C.; Mazzeo, T., Contino, D., & Gallo, M. Effect of different cooking methods on color, phytochemical concentration, and antioxidant capacity of raw and frozen Brassica vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, n 58, p.4310–4321, 2010.
242. Gębczyński, P., & Lisiewska, Z. Comparison of the level of selected antioxidative compounds in frozen broccoli produced using traditional and modified methods. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v.7, p. 239-245, 2006.
243. Wollgast, J., & Anklam, E. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, v.33, p.423-447, 2000 b.
244. Cunha S.; Amaral, J.; Fernandes, J.; Oliveira, M. B. Quantification of tocopherols and tocotrienols in Portuguese olive oils using HPLC with three different detection systems. *J. Agric. Food Chem.* 54, p. 3351-3356, 2006.
245. Gutierrez-Rosales, F.; Arnaud, T. Contribution of polyphenols on the oxidative stability of virgin olive oil, 24^o world Congress ISF, Berlin, 61-62, 2001.
246. Belda, M. C. R. & Pourchet-Campos, M. A. Ácidos graxos essenciais em nutrição: uma visão atualizada. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 11, n.1, p. 5-35, 1991.
247. Allalout, A.; Krichène, D.; Methenni K, Taamalli, A.; Oueslati, I.; Daoud, D.; Zarrouk M Characterization of virgin olive oil from super intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. *Sci Hortic*, 2008.
248. Huang, C.L. & Sumpio, B. Mediterranean diet and cardiovascular health. *J. Am. Coll. Sug.* v. 207, n. 3, p. 407- 416, 2008.
249. Boskou, D, editor *Olive oil: chemistry and technology*. 2nd ed, Champaign, Illinois AOCS, p. 41- 84, 2006.
250. Aparício R; Roda L; Albi M; Gutierrez F Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by Rancimat. *J Agric Food Chem*, v.47 (10), p. 4150-415, 1999.

251. Salgado, J.M.; Bin, C & Cornélio, A.R. Efeito do abacate (*Persea americana* Mill) variedade Hass na lipidemia de ratos hipercolesterolêmicos. Simpósio Latino Americano de Ciências dos Alimentos. Campinas: 2005.
252. Gómez , M. E. de LOS D. B. Modulação da composição de ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras, através da dieta. I. Estabilidade oxidativa. São Paulo, 149 f. Tese (Doutorado) em Ciência dos Alimentos/ Bromatologia. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo: 2003.
253. Salem Jr., N.; Simopoulos, A.P.; Galli, C., Lagarde, M., & Knapp, H.R. Fatty acids and lipids from cell biology to human disease. *Lipids*, Champaign, v.31, suppl., p. 1-326.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Amêndoa do baru (*Dipteryx alata* Vog.)

**APÊNDICE B - Procedimento experimental com amêndoas
do baru (*Dipteryx alata* Vog.)**



APÊNDICE C- Artigo científico: The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of Baru nuts [*Dipteryx alata* Vog.]

ANEXOS

ANEXO 1- COMUNICADO DE ACEITE DO ARTIGO

Accepted Manuscript

The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of Baru nuts [*Dipteryx alata* Vog.]

Miriam Rejane Bonilla Lemos, Egle Machado de Almeida Siqueira, Sandra Fernandes Arruda, Rui Carlos Zambiasi

PII: S0963-9969(12)00192-5
DOI: doi: [10.1016/j.foodres.2012.05.027](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.027)
Reference: FRIN 4114

To appear in: *Food Research International*

Received date: 22 March 2012
Accepted date: 27 May 2012

Please cite this article as: Lemos, M.R.B., Siqueira, E.M.A., Arruda, S.F. & Zambiasi, R.C., The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of Baru nuts [*Dipteryx alata* Vog.], *Food Research International* (2012), doi: [10.1016/j.foodres.2012.05.027](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.027)

