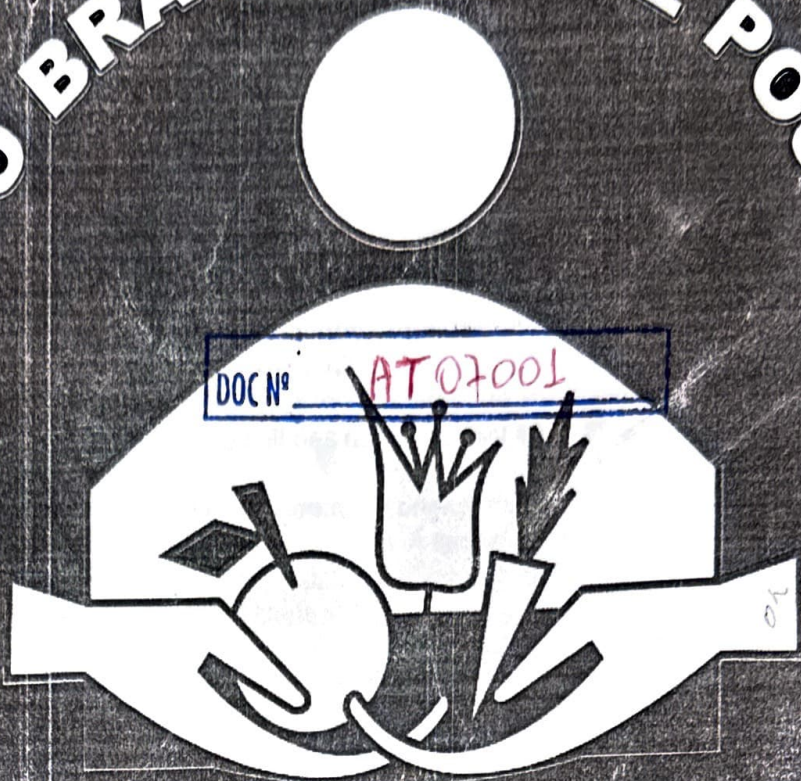


II SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PÓS-COLHEITA



FRUTAS, HORTALIÇAS E FLORES

PALESTRAS E RESUMOS

24 a 27 de abril de 2007

Universidade Federal de Viçosa - Viçosa - MG



Universidade Federal de Viçosa

Embrapa

Agroindústria de Alimentos
Agroindústria Tropical
Hortaliças
Transferência de Tecnologia

Editores

Maria Aparecida Nogueira Sedyama

Raimundo Santos Barros

Milton Edgar Pereira Flores

Luiz Carlos Chamhum Salomão

Rolf Puschmann

Compostos com propriedades funcionais em frutas

Ricardo Elesbão Alves¹; Edy Sousa de Brito¹; Fulgencio Diego Saura-Calixto²; Maria do Socorro Moura Rufino³; Jara Pérez-Jiménez².

¹Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Pici, 60511-110, Fortaleza, CE,; ²Departamento de Metabolismo e Nutrición, Instituto del Frío, CSIC, Ciudad Universitaria, José Antonio Novais, 10, 28040, Madri, Espanha, ³UFERSA/CAPEs, BR 110, Km 47, Presidente Costa e Silva, 59625-900, Mossoró, RN (elesbao@pesquisador.cnpq.br)

Introdução

Em todo o mundo se observa um aumento destacado no consumo de frutas. A fruticultura ocupa no Brasil uma área de 2,3 milhões de hectares com uma produção que supera 38 milhões de toneladas, contribuindo de forma decisiva para o PIB nacional. A balança comercial de frutas frescas fechou em 2005 com um saldo de US\$ 315 milhões (US\$ 440 milhões de exportações e US\$ 125 milhões de importações), um crescimento de US\$ 355 milhões de dólares ou 80 % nos últimos 10 anos. (Simarelli, 2006).

A América Tropical é considerada como centro de origem de muitas frutíferas, algumas das quais foram domesticadas há longo tempo pelos povos nativos. A sua riqueza se dá também pela sua situação geográfica, devido à heterogeneidade e à mistura das duas floras, a da América do Norte e a da Amazônia, as quais vão até as áreas baixas da América Central, com algumas espécies indo em ambas as direções (Donadio, 1993).

O consumo de frutas tropicais aumenta ano após ano devido ao valor nutritivo e aos efeitos terapêuticos, ocorrendo uma crescente comercialização tanto no mercado brasileiro como internacional. As frutas contêm, além dos nutrientes essenciais e de micronutrientes como minerais, fibras, vitaminas, diversos compostos secundários de natureza fenólica, denominados polifenóis (Harbone e Williams, 2000).

O consumo de frutas e de verduras tem sido associado ao baixo risco de doenças cardiovasculares observado em populações e, na maioria dos casos, ao fator fibras consumidas (De Angelis, 2005 a).

Os alimentos contêm compostos antioxidantes, os quais podem ocorrer naturalmente ou ser introduzidos durante o processamento para o consumo (Waters et al., 1996). As frutas também contêm agentes, tais como as vitaminas A, C e E, a clorofilina, os flavonóides, carotenóides, curcumina e outros que são capazes de restringir a propagação das reações em cadeia e as lesões induzidas pelos radicais livres (Stravic, 1994; Fotsis et al., 1997; Pool-Zobel et al., 1997).

Os métodos para avaliação da atividade antioxidante propostos na literatura podem ser baseados na captura do radical peróxil (ORAC, TRAP), poder de redução do metal (FRAP; CUPRAC), captura do radical hidroxil (método de deoxirribose), captura do radical orgânico (ABTS, DPPH), quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídios (TBARS, oxidação do LDL, co-oxidação do β -caroteno), etc. (Aruoma 2003; Frankel e Meyer, 2000; Sánchez-Moreno, 2002). Os métodos, ABTS, FRAP, DPPH e ORAC são alguns dos mais usados atualmente (Pérez-Jimenez e Saura-Calixto, 2006).

Neste texto, são discutidos aspectos relacionados à composição das frutas tropicais e sua importância para a saúde, assim como sobre a utilização de alguns métodos de avaliação da atividade antioxidante total nas mesmas.

Frutas e saúde

O consumo de frutas na alimentação humana, tem deixado de ser somente um prazer para converter-se em uma necessidade, dadas as boas características que as mesmas têm para a saúde e bem-estar do homem. As frutas são fontes muito boas de energia, carboidratos, diversas vitaminas, minerais e produtos com propriedades bioativas, além de que proporcionam variedade e sabor a dieta, constituindo parte importante desta.

A evidência científica de que dietas ricas em frutas e hortaliças protegem contra câncer e doenças degenerativas é cada vez mais forte e consistente (Marchand, 2002). A identificação dos alimentos com atividade preventiva pode levar a meios adicionais de proteção, e ao consumo de alimentos específicos

por indivíduos de risco. Experimentos realizados no Centro de Pesquisa em Nutrição Humana do USDA, em Tufts, Arkansas, EUA (Prior, 2002), mostraram que o aumento na capacidade antioxidante do plasma humano já pode ser detectado após uma refeição rica em alimentos considerados antioxidantes, ou após o aumento no número de porções de frutas e hortaliças consumido por dia.

Estes tipos de trabalho incentivaram programas para o aumento do consumo de frutas e hortaliças em todo o mundo a exemplo dos "five a day" (<http://www.5aday.com>, <http://www.5aldia.com> e <http://www.5aodia.com.br>) que têm como objetivo principal o incentivo a ingestão destes produtos 5 vezes ao dia. Alguns estudos provaram que comer desta forma pode ajudar a reduzir o risco de várias enfermidades como o câncer e doenças do coração. Esses alimentos contêm vitaminas, fibras, minerais e ainda outras substâncias que nos ajudam a viver mais e melhor. O Programa cinco ao dia tem um cardápio básico, onde se trabalha com cinco grupos de alimentos que são identificados pelas colorações vermelha, laranja, roxa, verde e branca (CALIARI, 2006), com um grande destaque para as frutas, conforme descrição a seguir:

Vermelha: O grupo de alimentos vermelhos constitui fontes de carotenóides, que são precursores da vitamina A. O licopeno, fitoquímico encontrado em alguns alimentos deste grupo, ajuda na prevenção do câncer de próstata. Pode-se exemplificar: acerola, cereja, ciriguela, goiaba vermelha, pomelo, maçã, melancia, morango, pêra vermelha, romã e uva vermelha.

Laranja - os alimentos de coloração alaranjados assim como os vermelhos, também são fontes de carotenóides, ricos em vitamina C, que é um antioxidante fundamental para a proteção das células. Deste grupo participam: abacaxi, abiu, ameixa amarela, caju, carambola, caqui, damasco, laranja, mamão, manga, maracujá, mexerica, melão, nectarina, pêssego, sapoti e tangerina.

Roxa - o grupo dos arroxeados contém niacina (vitamina do Complexo B), vitamina C e minerais (potássio), prevenindo doenças cardíacas. São frutas deste grupo: ameixa preta, amora, figo roxo, framboesa, jaboticaba, jamelão, lichia, mirtilo e uva roxa.

Verde - o grupo de alimentos verdes são ricos em cálcio, fósforo e ferro. Promovem o crescimento e ajudam na coagulação do sangue, evitam a fadiga mental, auxiliam na produção de glóbulos vermelhos do sangue, além de fortalecer ossos e dentes. Estão inseridos neste grupo: abacate, kiwi, limão e uva verde.

Branca - nos alimentos de coloração branca, encontram-se as vitaminas do complexo B e os flavonóides, que atuam na proteção das células. Auxiliam na produção de energia, no funcionamento do sistema nervoso e inibem o aparecimento de coágulos na circulação. Compõem este grupo: atemóia, banana, graviola, mangostão, pêra e pinha.

Compostos de importância funcional

Lajolo (2005) relata que alimentos funcionais, ou alimentos com alegações de funcionais ou de saúde, podem ser descritos como alimento semelhante em aparência ao alimento convencional, consumidos como parte da dieta usual, capazes de produzir demonstrados efeitos metabólicos ou fisiológicos úteis na manutenção de uma boa saúde física e mental, podendo auxiliar na redução do risco de doenças crônico-degenerativas, além de suas funções nutricionais básicas. Complementando a definição, o autor salienta ainda que pode-se falar em "ingrediente funcional", que seria o composto responsável pela ação biológica contida no alimento. Para estes ingredientes ativos os termos mais adequados são fitoquímicos, ou compostos bioativos e ainda nutracêuticos.

Diversas pesquisas vêm sendo realizadas nos diferentes segmentos visando a descoberta de novas fontes nutricionais. A importância funcional desses compostos na saúde humana tem levado inúmeros pesquisadores a realizarem estudos buscando determinar as concentrações destes nos alimentos mais consumidos e em especial nas frutas.

Chipault (1962) definiu antioxidantes em alimentos, como substâncias que em pequenas quantidades são capazes de prevenir ou retardar a oxidação de materiais que se oxidam facilmente como as gorduras. Outra definição muito usada, que cobre todos os substratos oxidáveis, i.e. lipídios, proteínas, DNA e carboidratos sugeridos por Halliwell e Gutteridge (1989) é "qualquer substância que quando presente em baixas concentrações comparadas a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação da substância". Estas definições generalizadas não restringem a atividade antioxidante para nenhum dos grupos de

compostos químicos específicos e nem se refere para algum mecanismo particular de ação (Rice-Evans, 2004). Nas frutas os principais tipos de compostos são discutidos a seguir.

Fenólicos

Entre os antioxidantes presentes nos vegetais, os mais ativos e freqüentemente encontrados são os compostos fenólicos, tais como os flavonóides (Bianchi e Antunes, 1999). As propriedades benéficas desses compostos podem ser atribuídas à sua capacidade de seqüestrar os radicais livres (Decker, 1997).

Há mais de 8000 compostos fenólicos no reino vegetal, que variam amplamente em complexidade. Estima-se que pessoas que consomem várias porções de frutas e hortaliças por dia, estejam ingerindo diariamente cerca de 1 g de fenólicos. Para a discussão sobre propriedades protetoras da saúde os compostos fenólicos são agrupados em flavonóides e não flavonóides (ácidos fenólicos e cumarinas). Exemplos de fenólicos não flavonóides são o resveratrol, encontrado em vinho, ácido elágico, encontrado em caqui e romã, e ácido clorogênico, encontrado em café, kiwi, maçã e *berry fruits*. Os principais flavonóides incluem as antocianinas, flavonas, isoflavonas, flavonóis, flavanonas, isoflavonas, flavanóis (catequinas) e as proantocianidinas (Chitarra e Chitarra, 2005).

Os flavonóides estão presentes em frutas e vegetais, cujo consumo tem sido associado a efeitos protetores contra doenças cardiovasculares e câncer. Por muito tempo foram considerados sem nenhum valor nutricional, até a demonstração da ação redutora da fragilidade capilar de alguns deles em 1936, pelos trabalhos de Szent-Gyorgy e de Rusznyak (De Angelis, 2005 b).

Os compostos fenólicos podem inibir os processos da oxidação em certos sistemas, mas isso não significa que eles possam proteger as células e os tecidos de todos os tipos de danos oxidativos. Esses compostos podem apresentar atividade pró-oxidante em determinadas condições (Decker, 1997). As antocianinas são consideradas como excelentes antioxidantes por doarem hidrogênio aos radicais livres altamente reativos, prevenindo a formação de novos radicais.

Vitamina C

Ao consultar tabelas de composição vitamínica de alimentos procedentes de todas as partes do mundo, verifica-se que para uma mesma fruta ou hortaliça, há uma variação enorme quanto ao teor das vitaminas (Falade, 1981). Isto quer dizer que as condições de solo, clima, fotoperíodo, regime pluvial, grau de maturação, etc., influem na composição vitamínica dos alimentos (Fonseca et al., 1969).

A vitamina C, por exemplo, atua na fase aquosa como um excelente antioxidante sobre os radicais livres, mas não é capaz de agir nos compartimentos lipofílicos para inibir a peroxidação dos lipídeos. Por outro lado, estudos *in vitro* mostraram que essa vitamina na presença de metais de transição, tais como o ferro, pode atuar como uma molécula pró-oxidante e gerar os radicais H_2O_2 e $OH\cdot$. Geralmente, esses metais estão disponíveis em quantidades muito limitadas (Odin, 1997).

O uso de vitaminas e outros antioxidantes na prevenção e modulação das conseqüências patológicas dos radicais livres precisam da definição de doses e de protocolos de tratamento, sendo necessários mais estudos sobre o mecanismo de ação desses agentes para sua prescrição em larga escala (Bianchi e Antunes, 1999).

Carotenóides

Os carotenóides formam um dos grupos de pigmentos naturais mais largamente encontrados na natureza. São em geral responsáveis pelas colorações do amarelo ao laranja, na forma de carotenos ou como ésteres de xantofilas, cuja intensidade de coloração depende da quantidade e tipo de pigmento presente (Matoo et al., 1975; Wills et al., 1982; Chitarra e Chitarra, 2005). Atualmente, são conhecidos, aproximadamente, 600 tipos de carotenóides, sendo usados como aditivos (corantes) alimentares. Entretanto, é na nutrição que os carotenóides ganham maior importância.

Os carotenóides são precursores de vitamina A e os mais encontrados na natureza são α -caroteno, β -caroteno, criptoxantina e β -caroteno, sendo que o de maior mérito é o β -caroteno e seus isômeros, tendo em vista a sua maior atividade de vitamina A, em relação aos demais (Rodriguez-Amaya, 1989).

Os carotenóides contêm potencial para benefícios que vão além da atividade de vitamina A. Lu. e zeaxantina parecem proteger o olho contra degeneração macular, beta-criptoxantina, encontrada em altos níveis em citros, pode estar inversamente associada com risco de câncer de pulmão (Mannisto et al., 2004). O consumo de produtos ricos em licopeno, tem sido associado à proteção contra certos tipos de câncer, notadamente de próstata (Giovannucci et al., 1995).

Avaliação da atividade antioxidante em frutas tropicais

A grande diversidade de métodos analíticos (químicos, físicos e /ou físico-químicos) propostos na literatura para avaliar o grau de oxidação lipídica e a atividade antioxidante coloca, na prática, algumas dificuldades de seleção (SILVA et al., 1999).

Prior et al (2005) realizou um estudo comparando alguns métodos de determinação da capacidade antioxidante e sua eficiência. Muitos testes foram desenvolvidos para medir a atividade antioxidante, conduzindo a resultados diferentes que são de difícil comparação. Um outro problema a que os cientistas devem estar atentos é quanto ao tipo de solvente utilizado no preparo da amostra. Desde que os métodos foram desenvolvidos com os compostos antioxidantes puros, há uma necessidade de se estabelecer protocolos da amostra para medir a atividade antioxidante. O Laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-Colheita da Embrapa Agroindústria Tropical vêm trabalhando com propriedades funcionais, utilizando alguns métodos (ABTS, DPPH, FRAP e Sistema b-caroteno/ácido linoléico), sendo os principais objetivos padronizar os mesmos para avaliação de frutas tropicais e disponibilizá-los para outros grupos de pesquisa de forma simplificada.

ABTS

O ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) ou TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Activity), é um método baseado na habilidade dos antioxidantes de capturar a longo prazo o cátion radical ABTS⁺. Esta captura produz um decréscimo na absorvância, que é lida a partir da mistura do radical com o antioxidante em diferentes tempos sendo representadas graficamente (Pérez-Jiménez e Saura-Calixto, 2006). A curva gerada pela inibição da absorvância é calculada, sendo que os resultados são interpolados na curva de calibração e expressos em capacidade antioxidante equivalente a 1 mM do trolox. O trolox é um composto sintético, análogo da vitamina E, porém hidrossolúvel.

Thaipong et al. (2006) avaliaram a atividade antioxidante pelo método ABTS de genótipos de goiaba oriundos de Welasco, Texas e encontraram resultados expressos em equivalente ao Trolox (TE) de $37,9 \pm 3,4 \mu\text{M/g}$ (Allahabad Safeda), $34,4 \pm 2,1 \mu\text{M/g}$ (Fan Retief), $22,3 \pm 0,9 \mu\text{M/g}$ (Ruby Supreme) e $29,6 \pm 2,3 \mu\text{M/g}$ (Advanced Selection).

Oh et al. (2006) avaliaram a atividade antioxidante pelo ABTS de dezesseis frutas comercializadas na Coreia. A curva padrão foi feita com ácido ascórbico e os resultados do ABTS foram expressos em atividade antioxidante equivalente ao ácido ascórbico (VCEAA) de $116,25 \pm 10,72 \mu\text{g/mL}$ (melancia) a $1.560 \pm 9,4 \mu\text{g/mL}$ (uva).

Kuskoski et al. (2005) trabalharam com várias polpas de frutas comercializadas no sul do Brasil avaliando a atividade antioxidante pelo método ABTS expresso em VCEAC (capacidade antioxidante equivalente a vitamina C). Encontraram valores para a acerola, por exemplo, de $1198,9 \pm 8,1 \text{ mg/100g}$. Estes mesmos autores avaliaram a atividade antioxidante pelo mesmo método expressando em TEAC (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox) nos tempos de 1 e 7 minutos e encontraram valores para a acerola de $66,5 \pm 3,1 \text{ mg/100g}$ e $67,6 \pm 0,4 \text{ mg/100g}$ respectivamente, confirmando o grande potencial que a acerola representa em relação a outras frutas tropicais. A capacidade antioxidante, determinada pelo método ABTS, neste trabalho obedece a seguinte ordem decrescente: acerola > manga > morango > açai > uva > amora > goiaba > graviola > abacaxi > maracujá > cupuaçu.

Leong e Shui (2002) estudaram a atividade antioxidante pelo método ABTS de 27 frutas oriundas de mercados da Singapura e estabeleceram critérios de classificação como: frutas > 600 mg AAeq/100g (capacidade antioxidante equivalente ao ácido ascórbico) como tendo uma capacidade antioxidante extremamente alta. O sapoti obteve valores muito altos ($3396 \pm 387,9 \text{ mg/100g}$) quando comparados ao da acerola.

DPPH

O método do DPPH· (Brand-Williams et al., 1995) é baseado na captura do radical DPPH· (2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazil) de antioxidantes, o qual produz um decréscimo da absorbância a 515 nm. Este método foi modificado por Sánchez-Moreno et al. (1998) para medir os parâmetros cinéticos. A atividade do antiradical expressa pelo parâmetro EC_{50} é definida como a quantidade do antioxidante necessário para diminuir 50% da concentração do DPPH· inicial. Algumas modificações nesse método são necessárias no sentido de adaptá-lo às frutas, devido ao mecanismo da reação entre o antioxidante e o DPPH· depender da conformação estrutural de cada antioxidante avaliado.

Thaipong et al. (2006) avaliaram a atividade antioxidante pelo método de captura do radical livre DPPH (EC_{50}) de genótipos de goiaba sendo um com polpa branca (Allahabad Safeda) e três com polpa rósea (Fan Retief, Ruby Supreme e Advanced Selection) oriundos de Welasco, Texas e os resultados expressos em equivalente ao Trolox (TE) foram de $32 \pm 5,1 \mu\text{M/g}$, $27,7 \pm 1,7 \mu\text{M/g}$, $16,2 \pm 1,0 \mu\text{M/g}$ e $24,9 \pm 0,5 \mu\text{M/g}$ respectivamente.

A avaliação da atividade antioxidante pelo método do DPPH em quatro frutas in natura (açai, acerola, amora e morango) comercializadas no Ceagesp, São Paulo foram estudadas por Duarte-Almeida et al. (2006), os quais constataram que a acerola possuía a maior capacidade ($\sim 90 \mu\text{M BHT/g}$) de seqüestro de radicais livres. Esta capacidade deve-se quase que, exclusivamente, ao alto teor de ácido ascórbico. O açai teve uma atividade inferior ($\sim 25 \mu\text{M BHT/g}$) quando comparado a acerola e amora ($\sim 30 \mu\text{M BHT/g}$), sendo que o morango apresentou menor atividade ($\sim 5 \mu\text{M BHT/g}$).

Em avaliações feitas em polpas de onze frutas Kuskoski et al. (2005) encontraram resultados em VCEAC da atividade antioxidante (DPPH) aos 30 minutos variando de $41,1 \pm 0,8 \text{ mg/100g}$ (polpa de abacaxi) a $959,1 \pm 19,0 \text{ mg/100g}$ (polpa de acerola). Em outro trabalho, Kuskoski et al. (2006) avaliaram a atividade antioxidante pelo método DPPH aos 30 e 60 minutos e a acerola novamente apresentou a maior atividade com valores de $53,2 \pm 5,3 \text{ mg/100g}$ e $68 \pm 2,2 \text{ mg/100g}$ respectivamente. A capacidade antioxidante, determinada pelo método DPPH, obedeceu a seguinte ordem decrescente: acerola > manga > morango > açai > uva > goiaba > amora > graviola > maracujá > cupuaçu > abacaxi.

Surinrut et al. (2005) determinaram a atividade de captura do radical DPPH em 12 frutas de mercados da Tailândia e encontraram resultados de EC_{50} variando significativamente de $1,10 \text{ mg/mL}$ a $9,60 \text{ mg/mL}$ (alta atividade antioxidante), representada pelas frutas uva (casca), amora, manga, carambola e lichia a $110,46 \text{ mg/mL}$ (baixa atividade antioxidante), encontrada em laranja, uva (polpa), jambo e jaca.

Einbond et al. (2003) avaliaram a atividade antioxidante pelo método DPPH em 12 frutas coletadas no *Fruit and Spice Park* em Homestead, Florida e encontraram valores desde $4,0 \pm 2,2 \mu\text{g/mL}$ para pitanga a $177 \pm 12 \mu\text{g/mL}$ para cupuaçu. Os resultados de acerola nesse trabalho foram de $13,9 \pm 1,3 \mu\text{g/mL}$.

Jiménez-Escrig et al. (2001) avaliaram a atividade antioxidante pelo método DPPH em duas espécies de goiabas (*Psidium guajava* e *Psidium acutangulum*) e encontraram resultados do EC_{50} expressos em MS na casca e polpa do *P. guajava* e *P. acutangulum* de $1,92 \pm 0,08 \text{ g/g}$ e $3,7 \pm 0,06 \text{ g/g}$ e de $2,62 \pm 0,57 \text{ g/g}$ e $3,72 \pm 0,42 \text{ g/g}$, respectivamente.

FRAP

Dentre os métodos em avaliação, o FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) é o único que não é baseado na capacidade de captura do radical livre e sim na capacidade de redução (BENZIE e STRAIN, 1996). Em um meio ácido, o complexo férrico tripiridiltriazina é reduzido ao ferroso, mudando sua coloração para azul na presença de um antioxidante, causando um aumento da absorbância. No método original (Benzie e Strain, 1996), a absorbância é monitorada após 4 minutos, porém, Pulido et al. (2000) afirmam que este tempo de reação não é completo e sugeriram o monitoramento prolongado após 30 minutos. A absorbância alcançada em um ponto fixo é interpolada em uma curva de calibração e os resultados são expressos em capacidade antioxidante equivalente a 1 mM do FeSO_4 .

Thaipong et al. (2006) avaliaram a atividade antioxidante pelo método FRAP de quatro genótipos de goiaba (Allahabad Safeda, Fan Retief, Ruby Supreme e Advanced Selection) e os resultados expressos em equivalente ao Trolox (TE) foram de $33,3 \pm 1,4 \mu\text{M/g}$, $30,4 \pm 1,2 \mu\text{M/g}$, $15,5 \pm 1,4 \mu\text{M/g}$ e $25,3 \pm 1,1 \mu\text{M/g}$ respectivamente.

Szeto et al. (2002), estudaram o potencial antioxidante usando o método FRAP em 17 frutas e encontraram resultados de 1.460 $\mu\text{mol/Kg}$ em pêras chinesas a 15.940 $\mu\text{mol/Kg}$ em morangos.

Jiménez-Escrig et al. (2001) avaliaram a atividade antioxidante pelo método FRAP em duas espécies de goiabas (*Psidium guajava* e *Psidium acutangulum*) e encontraram resultados expressos em Trolox na casca e polpa do *P. guajava* e *P. acutangulum* de $462 \pm 51 \mu\text{mol/g}$ e $238 \pm 7 \mu\text{mol/g}$ e de $392 \pm 17 \mu\text{mol/g}$ e $233 \pm 8 \mu\text{mol/g}$ respectivamente.

Sistema b-caroteno/ácido linoléico

O sistema b-caroteno/ácido linoléico foi desenvolvido por Marco (1968) e modificado por Miller (1971), empregando-se o ác. linoléico, Tween 40 e b-caroteno. Este método avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoléico (Duarte-Almeida et al., 2006). Trata-se de um ensaio espectrofotométrico baseado na oxidação (descoloração) do b-caroteno induzida pelos produtos da degradação oxidativa do ácido linoléico. A determinação é efetuada a 470 nm, na presença e na ausência de um antioxidante. É um método simples, sensível, mas não específico, pois, substâncias oxidantes ou redutoras interferem no ensaio (Silva et al., 1999). A co-oxidação do b-caroteno é normalmente efetuada no meio emulsionado, o que origina muitas vezes falta de reprodutibilidade dos valores de absorvância medidos. Acresce ainda a dificuldade de interpretação dos resultados devido à interação do b-caroteno com o oxigênio (Berset e Cuvelier, 1996; Von Gadow et al., 1997). Apesar dos inconvenientes referidos, este método é amplamente usado e como não recorre a altas temperaturas, permite a determinação do poder antioxidante de compostos termo-sensíveis e a avaliação qualitativa da eficácia antioxidante de extratos vegetais (Silva et al., 1999).

Hassimotto et al. (2005) estudando a atividade antioxidante pelo sistema b-caroteno/ácido linoléico de frutas in natura e polpas de frutas congeladas obtidas do Ceagesp, São Paulo, utilizaram como controle 10 μM e 50 μM de ácido gálico e os extratos das frutas foram extraídos em metanol e purificados por extração em fase sólida (SPE). Os resultados em extrato metanólico a 10 μM foram de $-4,9 \pm 1,2 \mu\text{M}$ (polpa de acerola) a $67,6 \pm 2,6 \mu\text{M}$ (casca de maçã Gala), e a 50 μM foram de $8,1 \pm 0,9 \mu\text{M}$ (polpa de acerola) a $79,6 \pm 4,5 \mu\text{M}$ (casca de maçã Gala). Os resultados em extrato SPE a 10 μM variaram de $-1 \pm 2,2 \mu\text{M}$ (polpa de murici) a $68,8 \pm 4,5 \mu\text{M}$ (jambolão) e em 50 μM variaram de $19 \pm 1,8 \mu\text{M}$ (polpa de murici) a $80,8 \pm 1,3 \mu\text{M}$ (amora). Os autores concluíram que não há relação entre teor de fenólicos totais, vitamina C e atividade antioxidante sugerindo que a atividade antioxidante é o resultado da combinação de diferentes compostos, com efeito, sinergista e antagonista.

Duarte-Almeida et al. (2006) avaliaram a atividade antioxidante utilizando o sistema b-caroteno/ácido linoléico de frutos in natura de açaí, acerola, amora e morango comercializados no Ceagesp, São Paulo. Foram testadas soluções padrões dos antioxidantes sintéticos BHA (butil-hidroxi-anisol) e BHT (butil-hidroxi-tolueno) por sua ampla utilização na indústria alimentícia e os naturais quercetina e ácido ascórbico por estarem presentes em frutas e vegetais. Os resultados mostraram que o BHA apresentou maior eficiência em comparação ao BHT em concentrações reduzidas. O ácido ascórbico nesse sistema apresentou atividade pró-oxidante, representada pela porcentagem de inibição negativa. Isso ocorreu porque o ácido ascórbico, após doar os dois hidrogênios redutores, ficou passível de receber elétrons, devido ao radical ascorbilo formado, que é um agente oxidante (Bors e Buettner, 1997). Das quatro frutas utilizadas nesse ensaio, apenas a acerola, conhecida por ter altas concentrações em ácido ascórbico, apresentou atividade pró-oxidante corroborando os dados obtidos com a substância pura. Por outro lado, as amostras de morango, amora e açaí que contêm maiores concentrações de flavonóides e outros compostos fenólicos apresentaram atividades antioxidantes elevadas.

Considerações finais

O Brasil possui um grande número de espécies frutíferas tropicais nativas (estima-se que em torno de 500) assim como as exóticas adaptadas, em sua grande maioria pouco estudados do ponto de vista de valor nutritivo. Esta grande diversidade de espécies associada diversidade de composição possibilita um leque de opções tanto do ponto de vista da dieta quanto dos potenciais benefícios para a saúde.

Levando-se em consideração os resultados aqui apresentados, com frutas tropicais, as perspectivas quanto à prospecção de compostos com propriedades funcionais e alta atividade antioxidante em algumas

destas espécies, e seus tipos ou variedades, são muito grandes. No entanto, como pode ser observado no texto, uma das maiores dificuldades na comparação de resultados é a falta de padronização das metodologias usadas, bem como na apresentação dos resultados. Apesar disso, alguns resultados são marcantes para algumas frutas tropicais, como por exemplo a elevada atividade antioxidante da acerola, independentemente dos métodos utilizados.

Agradecimentos

Embrapa, CNPq, CAPES e União Européia (INCO-DC 0015279).

Referências bibliográficas

- Aruoma OI (2003) Methodological characterizations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutation Research* 9-20: 523-524
- Benzie IFF, Strain JJ (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239 :70-76
- Berset C, Cuvelier ME (1996) *Sciences des Aliments.*, vol 16, 219p
- Bianchi MLP, Antunes LMG (1999) Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Revista de Nutrição Campinas*, 12: 123-130
- Brand-Williams W Cuvelier ME, Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology* 28: 25-30
- Calliari I (2006) *5 ao dia* (Disponível em: <<http://www.5aodia.com.br/>> Acesso em: 06 ago. 2006)
- Chipault JR (1962) Antioxidants for food use. In: LUNDBERG, W.O. *Autoxidation and Antioxidants*. Wiley: New York, 477-542
- Chitarra MIF Chitarra AB (2005) *Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio*. Lavras: UFLA, 2005, 785p
- De Angelis RC (2005 b) Como obter a melhor defesa contra os RL por meio da alimentação. In: De Angelis RC *A importância dos alimentos vegetais na proteção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidade degenerativas*. São Paulo: Atheneu, p.83-92
- De Angelis RC (2005 a) Consumo de cereais integrais e redução de riscos de doenças cardiovasculares. In: De Angelis RC *A importância dos alimentos vegetais na proteção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidade degenerativas*. São Paulo: Atheneu, p.99-104
- Decker EA (1997) Phenolics: prooxidants or antioxidants? *Nutrition Reviews* New York, 55: 396-407
- Donadio LC (1993) Frutíferas Nativas da América Tropical. In: *SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS*, 1, 1992, Cruz das Almas. *Anais...* Cruz das Almas: Embrapa-CNPMPF, 9-12
- Duarte-Almeida JM, Santos RJ, Genovese MI, Lajolo FM (2006) Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema b-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 26: 446-452
- Einbold LS, Reynertson KA, Luo XD, Basile MJ, Kennelly EJ (2003) Anthocyanin antioxidants from edible fruits. *Food Chemistry* 84: 23-28
- Falade JA (1981) Vitamin C and other chemical substances in cashew apple. *Journal of Horticultural Science*, Ashford, 56: 177-179
- Fonseca H et al (1969) Teor de ácido ascórbico e beta-caroteno em frutas e hortaliças brasileiras. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, Caracas, 19: 9-16
- Fotsis T et al, (1997) Flavonoids, dietary-derived inhibitors of cell proliferation and in vitro angiogenesis.

- Cancer Research*, Baltimore, 57: 2916-2921
- Frankel EM, Meyer AS (2000) The problem of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80:1925-1941
- Giovannucci E, Kelm MA, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Willet WC (1995) Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, 87: 1767-1776
- Halliwell B, Gutteridge JMC (1989) *Free Radicals in Biology and Medicine*. Clarendon: Oxford, p.22-85.
- Harbone JB, Williams CA (2000) Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 25:481-504
- Hassimotto NMA, Genovese MI, Lajolo FM (2005) Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. *J. Agric. Food Chem* 53: 2928-2935
- Jiménez-Escrig A, Rincón M, Pulido R, Saura-Calixto F (2001) Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. *J. Agric. Food Chem* 49: 5489-5493
- Kuskoski EM, Asuero AG, Morales MT, Fett R (2006) Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. *Ciência Rural* 36: 1283-1287
- Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R (2005) Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidant en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 25:726-732
- Lajolo FM (2005) Alimentos funcionais: uma visão geral. In: De Angelis RC *A importância dos alimentos vegetais na proteção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidade degenerativas*. São Paulo: Atheneu p.175-181
- Leong LP, Shui G (2002) An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*. 76: 69-75
- Mannisto S et al (2004) Dietary carotenoids and risk of lung cancer in a pooled analysis of seven cohort studies. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 13: 40-48
- Marco G (1968) A rapid method for evaluation of antioxidants. *J Am Oil Chem Soc*, 45: 594-598
- Marchand LL (2002) Efeitos dos flavonóides na prevenção de câncer - uma revisão. *Biomed Pharmacotherap*, 56: 296-301
- Mattoo AK et al. (1975) Chemical changes during ripening and senescence. In: Pantastico EB *Postharvest physiology, handling and utilization of tropical and subtropical fruits and vegetables*. Westport: AVI p103-127.
- Miller HE A simplified method for the evaluation of antioxidant. *J. Am. Oil Society* 48: 91, 1971
- Odin AP (1997) Vitamins as antimutagens: advantages and some possible mechanisms of antimutagenic action. *Mutation research*, Amsterdam, 386: 39-67
- Oh YS, Jang ES, Bock JY, Yoon SH, Jung MY (2006) Singlet oxygen quenching activities of various fruit and vegetable juices and protective effects on apple and pear juices against hemolysis and protein oxidation induced by methylene blue photosensitization. *Journal of Food Science*, 71: 260-268
- Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto F (2006) Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Research International* 39: 791-800
- Pool-zobel BL, Bub A, Muller H, Wollowski I, Rechkemmer G (1997) Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first results of a human intervention trial with carotenoid-rich foods. *Carcinogenesis*, 18: 1847-1850
- Prior RL Antioxidant capacity and health benefits of fruits and vegetables. Blueberry, the leader of the pack. 2002.. Arquivo capturado em 14 de Agosto de 2002 em www.blueberry.org/tuft's.html
- Prior RL, Wu X, Schaich K (2005) Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity

- and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem* 53:4290-4302
- Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F (2000) Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48:3396-3402
- Rice-Evans C (2004) Flavonoids and Isoflavones: Absorption, Metabolism, and Bioactivity. *Free Radical Biol Med* 36: 827-828
- Rodriguez-Amaya DB (1989) Critical review of provitamina A: determination in plants foods. *J. Micronutrients An* 5: 191-225
- Sánchez-Moreno C (2002) Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8: 121-137
- Sánchez-Moreno C, Larrauri J.A, Saura-Calixto F (1998) A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric.*, 76: 270-276
- Silva FAM, Borges MFM, Ferreira MA (1999) Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova* 22: 94-103
- Simarelli M (2006) Frutas do Brasil. *Frutas e Derivados* 1: 15-27
- Stavric B (1994) Antimutagens and anticarcinogens in foods. *Food Chemical Toxicology* 311:249-255
- Surinrut P, Kaewsutthi S Surakarnkul R (2005) Radical Scavenging activity in fruit extracts. *Acta Hort* 679: 201-203
- Szeto YT, Tomlinson B, Benzie IFF (2002) Total antioxidant and ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables: implications for dietary planning and food preservation *British Jour. of Nutrition* 87:55-59
- Thaipong K, Bonnprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne DH (2006) Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of food composition and analysis* 19: 669-675
- Von Gadow A, Joubert E, Hansmann CF (1997) *J. Agric. Food Chem* 45: 632
- Waters MD, Stack HF, Jackson MA, Brockman HE, De Flora S (1996) Activity profiles of antimutagens: in vitro and in vivo data. *Mutation Research* 350:109-129
- Wills RBH et al (1982) *Postharvest – an introduction to the physiology and handling of fruit and vegetables*. Kensington: New South Wales University 166p