

**Contributo para a caracterização química e atividade  
antioxidante de diferentes partes de *Passiflora edulis*  
*Sims edulis***

**Ana Isabel Pereira Alves**

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança  
para obtenção do Grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar*

Orientado por

**Prof. Doutor José Alberto Cardoso Pereira**

**Prof. Doutora Maria de Fátima Lopes da Silva**

**Bragança  
2013**



*Aos meus pais*



## AGRADECIMENTOS

Esta dissertação marca o final de uma etapa importante na minha vida, e, por isso, gostaria de agradecer a todos aqueles que participaram comigo de certa forma na realização desta tarefa que parecia interminável e ambígua.

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos meus orientadores, que, sem eles a elaboração desta dissertação nunca teria acontecido.

Ao Professor Doutor José Alberto Pereira, da Escola Superior Agrária, pelos ensinamentos transmitidos, pelas opiniões e sugestões, pela exigência, pela competência, pela disponibilidade, pela cordialidade, pela simpatia, pelo bom sentido de humor, pela amizade, pela confiança que me depositou, e pelas palavras de apoio e incentivo, que muitas vezes delas precisei.

À Professora Doutora Fátima Lopes da Silva, da Escola Superior Agrária, pela disponibilidade, pela ajuda, pelas opiniões, pelas sugestões e pelas palavras de incentivo.

À Professora Doutora Susana Casal, do Serviço de Bromatologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, pelos conhecimentos laboratoriais transmitidos na determinação dos ácidos gordos, Vitamina E e esteróis. Também pela disponibilidade e presença.

Aos meus colegas de laboratório: Ricardo Malheiro, pela disponibilidade, pelo incentivo, pelo auxílio, pelas sugestões e dúvidas esclarecidas e pelos vastos conhecimentos transmitidos; ao Nuno Rodrigues e à Thays Borges pela constante ajuda laboratorial e escrita, por todos os momentos de companheirismo, pelo carinho e apoio sempre prestado e pela amizade. Agradeço também a todos os outros colegas e funcionários, em especial à Dona Isabel, que colaboraram de certo modo.

À Lurdes, à Rute e à Titinha pela preocupação e pelo apoio constante.

Aos funcionários dos meus pais, que não deixam de ser amigos. Apesar de até hoje não terem percebido o sentido deste trabalho de pesquisa e muito menos perceberem o seu conteúdo, sempre que me viram atrapalhada apoiaram-me e incentivaram-me com palavras de força, apoio, carinho e amizade, e sempre que me viram satisfeita por ultrapassar algum obstáculo na escrita desta tese, festejavam comigo desta satisfação. Um muito obrigada à Maria, ao Tiago e à Marisa.

Ao Tiago, pelo amor e carinho demonstrado ao longo destes últimos anos, pela paciência na falta de atenção e ausências e no apoio prestado no desenrolar deste trabalho.

Por fim, mas nunca em último, agradeço à minha família: ao meu irmão e cunhada, pelo incansável apoio, incentivo, carinho, opiniões e pela disponibilidade que ofereceram para me ajudar, que apenas por isto, não imaginam a ajuda que me prestaram; aos meus pais que tanto batalharam para eu poder estar onde estou hoje, pelo incansável incentivo e apoio afetuoso e financeiro, pela educação, pelo carinho, pela admiração, pela força, pelo desespero de me verem tantas vezes agoniada, que me deu força para continuar a escrever esta dissertação, e por fim, pelo seu amor incondicional. É com imensa alegria e gratidão que lhes dedico esta minha vitória.

## ÍNDICE

|                |     |
|----------------|-----|
| RESUMO .....   | XIV |
| ABSTRACT ..... | XVI |

### CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO GERAL

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| 1.1. INTRODUÇÃO GERAL ..... | 3 |
|-----------------------------|---|

### CAPÍTULO 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

|  |    |
|--|----|
| 2.1. CLASSIFICAÇÃO E BOTÂNICA DO MARACUJÁ.....               | 7  |
| 2.2. ESPÉCIES MAIS IMPORTANTES .....                         | 8  |
| 2.3. IMPORTÂNCIA DO MARACUJÁ .....                           | 9  |
| 2.4. PRODUÇÃO DE MARACUJÁ NO MUNDO.....                      | 10 |
| 2.5. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS DIFERENTES PARTES DO MARACUJÁ .. | 11 |
| 2.6. BIBLIOGRAFIA.....                                       | 16 |

### CAPÍTULO 3. CARACTERIZAÇÃO DAS SEMENTES DE *PASSIFLORA EDULIS* SIMS *EDULIS* E DO SEU ÓLEO

|   |    |
|---|----|
| 3.1. INTRODUÇÃO .....   | 23 |
| 3.2. MATERIAL E MÉTODOS .....                                 | 27 |
| 3.2.1. Obtenção e preparação das amostras.....                | 27 |
| 3.2.2. Composição centesimal das sementes.....                | 28 |
| 3.2.2.1. <i>Teor de humidade</i> .....                        | 28 |
| 3.2.2.2. <i>Teor de cinzas</i> .....                          | 28 |
| 3.2.2.3. <i>Teor de proteína</i> .....                        | 29 |
| 3.2.2.4. <i>Gordura total</i> .....                           | 29 |
| 3.2.2.5. <i>Hidratos de Carbono</i> .....                     | 30 |
| 3.2.2.6. <i>Determinação do Valor Energético</i> .....        | 30 |
| 3.2.3. Composição do óleo das sementes .....                  | 31 |
| 3.2.3.1. <i>Composição em ácidos gordos</i> .....             | 31 |
| 3.2.3.2. <i>Composição em tocoferóis e tocotrienóis</i> ..... | 32 |
| 3.2.3.3. <i>Composição em esteróis</i> .....                  | 33 |
| 3.2.4. Atividade antioxidante do óleo das sementes .....      | 34 |
| 3.2.4.1. <i>Capacidade redutora total do óleo</i> .....       | 34 |

|   |    |
|---|----|
| 3.2.4.2. Determinação do efeito bloqueador de radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH <sup>•</sup> )..... | 35 |
| 3.2.4.3. Determinação do efeito bloqueador do radical ABTS (ABTS <sup>•+</sup> ).....                                 | 36 |
| 3.2.5. Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo.....   | 37 |
| 3.2.6. Análise estatística.....   | 37 |
| 3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....  | 38 |
| 3.3.1. Composição centesimal das sementes.....  | 38 |
| 3.3.2. Composição do óleo das sementes.....   | 40 |
| 3.3.2.1. Ácidos gordos.....   | 40 |
| 3.3.2.2. Composição em tocoferóis e tocotrienóis.....   | 44 |
| 3.3.2.3. Composição em esteróis.....  | 45 |
| 3.3.3. Atividade antioxidante do óleo das sementes.....   | 47 |
| 3.3.3.1. Capacidade redutora total do óleo.....   | 47 |
| 3.3.3.2. Efeito bloqueador de radicais livres DPPH e ABTS do óleo.....  | 48 |
| 3.3.4. Estabilidade oxidativa do óleo.....  | 49 |
| 3.4. CONCLUSÃO.....   | 51 |
| 3.5. BIBLIOGRAFIA.....  | 52 |

## **CAPÍTULO 4. ATIVIDADE BIOLÓGICA DE DIFERENTES PARTES DE PASSIFLORA EDULIS SIMS EDULIS**

|   |    |
|---|----|
| 4.1. INTRODUÇÃO.....  | 59 |
| 4.2. MATERIAL E MÉTODOS.....  | 62 |
| 4.2.1. Padrões e reagentes.....   | 62 |
| 4.2.2. Amostras.....  | 62 |
| 4.2.3. Preparação dos extratos.....   | 63 |
| 4.2.4. Rendimento de extração.....  | 63 |
| 4.2.5. Atividade antioxidante.....  | 63 |
| 4.2.5.1. Determinação da capacidade redutora total.....   | 64 |
| 4.2.5.2. Determinação do efeito bloqueador de radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH <sup>•</sup> )..... | 64 |
| 4.2.5.3. Determinação do poder redutor.....   | 65 |
| 4.2.6. Análise estatística.....   | 66 |
| 4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....  | 67 |
| 4.3.1. Seleção do solvente de extração das sementes.....  | 67 |



|   |    |
|---|----|
| 4.3.1.1. <i>Rendimento de extração e capacidade redutora total</i> .....                                    | 67 |
| 4.3.1.2. <i>Efeito bloqueador de radicais livres de DPPH</i> .....  | 68 |
| 4.3.1.3. <i>Poder Redutor</i> .....   | 70 |
| 4.3.2. Atividade antioxidante dos extratos metanólicos das sementes.....                                    | 72 |
| 4.3.3. Efeito do solvente de extração nas várias partes de maracujá-roxo e sua atividade antioxidante. .... | 74 |
| 4.3.2.1. <i>Rendimento de extração</i> .....  | 75 |
| 4.3.2.2. <i>Capacidade Redutora Total</i> .....   | 76 |
| 4.3.2.4. <i>Efeito bloqueador de radicais livres de DPPH</i> .....  | 78 |
| 4.3.2.4. <i>Poder Redutor</i> .....   | 80 |
| 4.3. CONCLUSÃO .....  | 83 |
| 4.4. BIBLIOGRAFIA.....  | 84 |

**CAPÍTULO 5. COMPARAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE POLPA FRESCA E DE POLPA COMERCIAL DE MARACUJÁ**

|   |     |
|---|-----|
| 5.1. INTRODUÇÃO .....   | 91  |
| 5.2. MATERIAL E MÉTODOS .....   | 93  |
| 5.2.1. Padrões e Reagentes .....  | 93  |
| 5.2.2. Amostras.....  | 93  |
| 5.2.3. Caracterização das amostras.....   | 94  |
| 5.2.3.1 <i>Teor de humidade</i> .....   | 94  |
| 5.2.3.2. <i>pH</i> .....  | 94  |
| 5.2.3.3. <i>Sólidos solúveis totais</i> .....   | 94  |
| 5.2.4. Preparação dos extratos e extração metanólica .....  | 95  |
| 5.2.5. Atividade antioxidante .....   | 95  |
| 5.2.5.1. <i>Determinação da capacidade redutora total</i> .....   | 95  |
| 5.2.5.2. <i>Determinação do efeito bloqueador de radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH<sup>*</sup>)</i> ..... | 95  |
| 5.2.5.3. <i>Poder Redutor</i> .....   | 96  |
| 5.2.6. Análise estatística.....   | 96  |
| 5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....   | 97  |
| 5.3.1. Caracterização das polpas e sementes comerciais.....   | 97  |
| 5.3.2. Atividade antioxidante .....   | 101 |
| 5.3.2.1. <i>Rendimento de extração e capacidade redutora total</i> .....  | 101 |

|  |     |
|--|-----|
| 5.3.2.1.1. Sementes .....  | 101 |
| 5.3.2.1.2. Polpa .....   | 102 |
| 5.3.2.2. <i>Efeito bloqueador de radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH')</i> ..... | 103 |
| 5.3.2.2.1. Sementes .....  | 103 |
| 5.3.2.2.2. Polpa .....   | 104 |
| 5.3.2.3. <i>Poder Redutor</i> .....  | 105 |
| 5.3.2.3.1. Sementes .....  | 105 |
| 5.3.2.3.2. Polpa .....   | 106 |
| 5.4. CONCLUSÃO .....   | 108 |
| 5.5. BIBLIOGRAFIA.....   | 109 |
| <br><b>CAPÍTULO 6. CONCLUSÕES GERAIS</b>   |     |
| 6.1. CONCLUSÕES GERAIS .....   | 113 |

## ÍNDICE DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1.</b> Composição nutricional, química e mineral média da polpa de maracujá-amarelo ( <i>P. edulis</i> Sims <i>flavicarpa</i> ) e maracujá-roxo ( <i>P. edulis</i> Sims <i>edulis</i> ) em 100 g de fruta fresca. ....  | 12 |
| <b>Tabela 2.</b> Composição nutricional, química e mineral média de sementes e cascas de maracujá em 100 g de produto. ....   | 14 |
| <b>Tabela 3.</b> Composição centesimal média (g/100 g) e valor energético (kcal/100 g) das sementes de maracujá roxo provenientes de Barcelos e do Porto (média±desvio padrão). ....  | 38 |
| <b>Tabela 4.</b> Composição em ácidos gordos (%) obtidos do óleo das sementes de maracujá-roxo de Barcelos e do Porto (média±desvio padrão).....  | 42 |
| <b>Tabela 5.</b> Teor em tocoferóis, tocotrienóis e de vitamina E total (mg/100g de óleo) do óleo das sementes de maracujá-roxo provenientes de Barcelos e do Porto (média±desvio padrão). ....   | 44 |
| <b>Tabela 6.</b> Composição em esteróis (mg/100 g de óleo) do óleo das sementes de maracujá-roxo provenientes de Barcelos e do Porto (média±desvio padrão). ....  | 46 |
| <b>Tabela 7.</b> Rendimento de extração (%) e capacidade redutora total (mg GAE/g de extrato) de extratos obtidos com diferentes solventes de sementes de maracujá-roxo proveniente do Porto (média±desvio padrão).....   | 68 |
| <b>Tabela 8.</b> Valores de EC <sub>50</sub> (mg/mL) do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH e do poder redutor extratos obtidos com diferentes solventes de sementes de maracujá-roxo proveniente do Porto (média±desvio padrão). ....   | 70 |
| <b>Tabela 9.</b> Rendimento de extração (%), valor de EC <sub>50</sub> <sup>1</sup> de DPPH <sup>•</sup> , valor de EC <sub>50</sub> <sup>2</sup> do poder redutor (mg/mL) e capacidade redutora total (mg GAE/g extrato) de extratos metanólicos das sementes de maracujá-roxo provenientes do Porto e de Barcelos (média±desvio padrão). .... | 73 |
| <b>Tabela 10.</b> Rendimento de extração (%) de várias matrizes de maracujá-roxo com extração por diferentes solventes (média ± desvio padrão).....   | 75 |
| <b>Tabela 11.</b> Capacidade redutora total (mg GAE/g de extrato) de extratos obtidos por diferentes solventes em diferentes matrizes de maracujá-roxo (média±desvio padrão). 77  |    |
| <b>Tabela 12.</b> Valores de EC <sub>50</sub> <sup>1</sup> do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH (mg de extrato/mL) em extratos obtidos com diferentes solventes de várias matrizes de maracujá-roxo (média±desvio padrão). ....  | 79 |
| <b>Tabela 13.</b> Valores de EC <sub>50</sub> <sup>1</sup> do poder redutor (mg de extrato/mL) de extratos obtidos com diferentes solventes de várias matrizes de maracujá-roxo (média±desvio padrão).81  |    |
| <b>Tabela 14.</b> Humidade (%) das sementes e das polpas controlo e comerciais, teor de sólidos solúveis totais (°Brix) e pH das polpas comerciais (média ± desvio padrão). ...   | 98 |

**Tabela 15.** Rendimento de extração (%) e valores da capacidade redutora total (mg GAE/g de extrato) das sementes e polpas controlo e comerciais (média±desvio padrão). ..... 101

**Tabela 16.** Valores de EC<sub>50</sub> (mg de extrato/mL) do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH e do poder redutor das sementes de maracujá e valores de EC<sub>25</sub> (mg de extrato/mL) do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH e do poder redutor das polpas de maracujá, em extratos obtidos com diferentes solventes (média ± desvio padrão). ..... 104

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1.</b> <b>A</b> – Maracujás roxos do Porto; <b>B</b> – Maracujás roxos de Barcelos; <b>C</b> – Parte interior do maracujá roxo após corte transversal no fruto; <b>D</b> – Sementes de maracujá roxo estudadas. ....   | 27 |
| <b>Figura 2.</b> Sementes de maracujá-roxo lavadas, secas e trituradas .....   | 28 |
| <b>Figura 3.</b> Extração da gordura das sementes em extrator Soxhlet.....   | 30 |
| <b>Figura 4.</b> Teor da capacidade redutora total das sementes de maracujá-roxo provenientes de Barcelos e do Porto. <sup>a-b</sup> Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p<0,05$ ). .....   | 47 |
| <b>Figura 5.</b> Valores para efeito bloqueador de radicais DPPH <sup>*</sup> ( <b>A</b> ) e de radicais ABTS <sup>++</sup> ( <b>B</b> ) do óleo das sementes de maracujá-roxo provenientes de Barcelos e do Porto. <sup>a-b</sup> Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p<0,05$ ). ..... | 48 |
| <b>Figura 6.</b> Valores médios de estabilidade oxidativa (horas) do óleo das sementes de maracujá-roxo provenientes de Barcelos e do Porto. <sup>a-b</sup> Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p<0,05$ ). .....  | 49 |
| <b>Figura 7.</b> Formação de espécies reativas de oxigénio por redução do oxigénio molecular. ....   | 59 |
| <b>Figura 8.</b> Partes do maracujá-roxo estudadas: <b>A</b> - Frutos inteiros; <b>B</b> - Cascas dos frutos; <b>C</b> - Polpa; <b>E</b> - Flor; <b>F</b> – Folha. ....  | 62 |
| <b>Figura 9.</b> Exemplo de uma análise da capacidade redutora total numa amostra a várias concentrações de extrato.....   | 64 |
| <b>Figura 10.</b> Exemplo de uma análise de bloqueio de radicais livres de DPPH numa amostra a várias concentrações de extrato.....  | 65 |
| <b>Figura 11.</b> Exemplo de uma análise do poder redutor a várias concentrações de extrato. ....  | 66 |
| <b>Figura 12.</b> Percentagem de bloqueio de radicais livres de DPPH de extratos obtidos a partir de diferentes solventes de sementes de maracujá-roxo proveniente do Porto (média±desvio padrão). ....  | 69 |
| <b>Figura 13.</b> Poder redutor das sementes de maracujá-roxo proveniente do Porto em extratos obtidos com diferentes solventes de extração (média ± desvio padrão). .....   | 71 |
| <b>Figura 14.</b> Efeito bloqueador de radicais livres de DPPH de extratos metanólicos de sementes de maracujá-roxo provenientes de Barcelos e do Porto (média±desvio padrão). ....  | 73 |
| <b>Figura 15.</b> Poder redutor de extratos metanólicos de sementes de maracujá-roxo provenientes de Barcelos e do Porto (média±desvio padrão). .....  | 74 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>Figura 16.</b> Percentagem de bloqueio de radicais livres de DPPH nos extratos com maior efeito de inibição nas matrizes estudadas (média ± desvio padrão). .....   | 80  |
| <b>Figura 17.</b> Poder redutor dos extratos com poder redutor mais elevado nas matrizes estudadas, e o respetivo solvente (média ± desvio padrão). .....  | 82  |
| <b>Figura 18. A</b> – Polpas em conserva estudadas; <b>B</b> – Aspeto de uma das polpas em conserva com sementes. ....   | 94  |
| <b>Figura 19.</b> Valores do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH obtidos para diferentes concentrações de extratos preparados a partir das diferentes amostras de sementes de maracujá (média±desvio padrão). ..... | 103 |
| <b>Figura 20.</b> Efeito bloqueador de radicais DPPH <sup>•</sup> obtidos para diferentes concentrações de extratos preparados a partir das diferentes amostras de polpa de maracujá (média±desvio padrão). .....            | 105 |
| <b>Figura 21.</b> Poder redutor das diferentes concentrações de extratos preparados a partir das diferentes amostras de sementes de maracujá (média±desvio padrão). .....  | 106 |
| <b>Figura 22.</b> Poder redutor das diferentes concentrações de extratos preparados a partir das diferentes amostras de polpas de maracujá (média±desvio padrão). .....  | 107 |

## RESUMO

A espécie *Passiflora edulis* Sims, tradicionalmente conhecida como maracujá, é uma trepadeira de grande porte, nativa da América Tropical, com elevado valor alimentar, medicinal e ornamental. Em Portugal, a variedade predominante é o maracujá-roxo (*Passiflora edulis* Sims *edulis*), podendo ser encontrado quer no Continente, em jardins como ornamento e consumo próprio, quer nas Ilhas, não só deste modo, como também em pequenos cultivos, comparativamente a outros países.

Não havendo conhecimento de estudos acerca dos maracujás provenientes de Portugal, o presente trabalho teve como objetivo principal enriquecer o conhecimento acerca do maracujá-roxo proveniente de Portugal. Para isso foi avaliada a composição geral das sementes (humidade, proteínas, gordura, cinzas, hidratos de carbono e valor energético), e a composição e bioatividade do seu óleo (ácidos gordos, vitamina E, esteróis, compostos redutores totais, efeito bloqueador de radicais DPPH<sup>•</sup> e ABTS<sup>•+</sup> e estabilidade oxidativa). Foi também estimada a atividade antioxidante de várias partes de maracujá-roxo (sementes, cascas, polpa, flores e frutos), utilizando três métodos distintos como a capacidade redutora total, o efeito bloqueador de radicais DPPH<sup>•</sup> e o poder redutor, com uma prévia otimização das condições de extração dos compostos antioxidantes. A polpa *in natura* foi ainda comparada com várias polpas comerciais a nível da composição química (humidade, sólidos solúveis totais e valor de pH) e da atividade antioxidante, utilizando os três métodos já referidos. As sementes incluídas nas conservas de polpa, foram também aproveitadas para comparar com as sementes frescas a nível dos mesmos parâmetros, exceto no teor de sólidos solúveis totais e valor de pH.

As sementes de maracujá-roxo são essencialmente compostas por hidratos de carbono (entre 60,12±1,06 e 60,23±0,33%), gordura (entre 21,57±4,70 e 25,63±1,80%), e proteínas (entre 10,41±1,06 e 13,22±0,47%). O óleo de sementes de maracujá-roxo é rico em ácidos gordos polinsaturados (entre 75,74±0,07 e 82,76±0,04%) e é essencialmente constituído por ácido linoleico (C<sub>18:2</sub>) (entre 75,18±0,18 e 82,07±1,20%), ácido oleico (C<sub>18:1</sub>) (entre 7,62±1,06 e 12,94±0,18%) e ácido palmítico (C<sub>16:0</sub>) (entre 7,77±0,57 e 8,78±0,06%). Este óleo apresenta ainda uma quantidade considerável de: vitamina E (entre 104,48±7,45 e 138,57±5,74 mg/100 g de óleo), sendo na sua maioria δ-tocotrienol (entre 51,71±3,95 e 88,56±3,94 mg/100 g de óleo) e γ-

tocotrienol (entre 28,90±2,09 e 33,85±1,38 mg/100 g de óleo); esteróis (entre 374,55±23,81 e 636,32±44,32 mg/100 g de óleo), sendo os principais o β-sitosterol (entre 47,50±3,26 e 55,62±2,64 mg/100 g de óleo), um esteroide não identificado (entre 22,32±0,24 e 28,60±2,11 mg/100 g de óleo) e o campesterol (entre 6,56±0,26 e 10,26±0,57 mg/100 g de óleo). A capacidade redutora total do óleo é relativamente baixa (entre 23,20±1,92 e 38,74±0,85 mg CAE/kg), o efeito bloqueador dos radicais de DPPH<sup>•</sup> considerável (entre 29,94±1,08 e 44,1±0,17%), e o efeito bloqueador de radicais ABTS<sup>•+</sup> elevada (entre 83,51±1,05 e 96,59±0,19%). A estabilidade oxidativa deste óleo é baixa (de 0,54 a 1,07 horas), possivelmente derivado à sua quantidade elevada de ácidos gordos polinsaturados.

O metanol mostrou ser o melhor extrator de compostos antioxidantes das várias partes de maracujá-roxo estudadas. As cascas revelam ser a parte do fruto com maior poder redutor (EC<sub>50</sub> 0,70±0,03 mg/mL) e maior efeito bloqueador de radicais DPPH<sup>•</sup> (EC<sub>50</sub> 0,29±0,04 mg/mL), no entanto as folhas apresentam o teor de capacidade redutora total mais elevado (141,43±11,23 mg GAE/g).

Em geral, as polpas comerciais mostraram ser bastante diferentes da polpa *in natura*. A nível da composição química, as polpas comerciais apresentaram, em geral, um teor de humidade idêntico ao da polpa *in natura*, no entanto teor de sólidos solúveis totais e o valor de pH foi superior. A atividade antioxidante das polpas comerciais foi mais baixa nos três métodos utilizados para esta avaliação.

As sementes das polpas comerciais mostraram ser diferentes das sementes frescas a nível de humidade. A atividade antioxidante foi menor nas sementes das polpas comerciais nos três métodos avaliados, no entanto as diferenças não foram tão grandes quanto na polpa.

**Palavras-chave:** maracujá-roxo; óleo de sementes; atividade antioxidante; sementes; cascas; polpa; flores; folhas; polpa *in natura*; polpa comercial.



## ABSTRACT

The specie *Passiflora edulis* Sims, traditionally known as passion fruit, is a climbing tree of large size native from Tropical America, with high valorization as a food, medicine and ornamental. In Portugal the most predominant variety is the purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims *edulis*), and it can be found in the Continent, in gardens for ornamental purposes or for self consumption, and in the islands also for consumption and ornamental as well as in small size cultivation farms when compared to other countries.

Since studies regarding Portuguese passion fruits are inexistent, the present work has a main goal enrich the actual knowledge about the purple passion fruit from Portugal. Therefore the general composition of the seeds (moisture, proteins, fat, ashes, carbohydrates, and energetic value), and the composition and bioactivity of their oil (fatty acids, vitamin E, sterols, total reducing compounds, scavenging effects on the radicals of DPPH<sup>•</sup> and ABTS<sup>•+</sup>, and oxidative stability) were studied. It was also estimated the antioxidant activity of several parts of the purple passion fruit (seeds, shells, pulp, flowers, and fruits), using three different methods as total reducing capacity, scavenging effect on DPPH radicals and reducing power, with a previous optimization of the extraction of the antioxidant compounds. The pulp, *in natura*, was compared with several commercial pulps regarding their chemical composition (moisture, total soluble solids, and pH) and antioxidant activity using the already three mentioned assays. The seeds from commercial pulp were recovered in order to compare them with fresh seeds regarding their the same parameters, except total soluble solids, and pH.

The seeds from purple passion fruit are essentially composed by carbohydrates (between 60.12±1.06 and 60.23±0.33%), fat (between 21.57±4.70 and 25.63±1.80%), and proteins (between 10.41±1.06 and 13.22±0.47%). The oils of the seeds of purple passion fruit are rich in polyunsaturated fatty acids (between 75.74±0.07 and 82.76±0.04%), and is essentially composed by linoleic acid (C<sub>18:2</sub>) (between 75.18±0.18 and 82.07±1.20%), oleic acid (C<sub>18:1</sub>) (between 7.62±1.06 and 12.94±0.18%) and palmitic acid (C<sub>16:0</sub>) (between 7.77±0.57 and 8.78±0.06%). These oil reports a considerable amount of: vitamin E (between 104.48±7.45 and 138.57±5.74 mg/100 g of oil), being δ-tocotrienol (between 51.71±3.95 and 88.56±3.94 mg/100 g of oil) and γ-

tocotrienol (between  $28.90 \pm 2.09$  and  $33.85 \pm 1.38$  mg/100 g of oil) the most abundant vitamers; sterols (between  $374.55 \pm 23.81$  and  $636.32 \pm 44.32$  mg/100 g of oil), being the most abundant the  $\beta$ -sitosterol (between  $47.50 \pm 3.26$  and  $55.62 \pm 2.64$  mg/100 g of oil), an unidentified sterol (between  $22.32 \pm 0.24$  and  $28.60 \pm 2.11$  mg/100 g of oil) and campesterol (between  $6.56 \pm 0.26$  and  $10.26 \pm 0.57$  mg/100 g of oil). The total reducing capacity of the oil is relatively low (between  $23.20 \pm 1.92$  and  $38.74 \pm 0.85$  mg CAE/kg), has a considerable scavenging effect on the DPPH radicals (between  $29.94 \pm 1.08$  and  $44.1 \pm 0.17\%$ ), and high scavenging effect on ABTS free radicals (between  $83.51 \pm 1.05$  and  $96.59 \pm 0.19\%$ ). The oxidative stability of the oil is low (from 0.54 to 1.07 h) possibly due to its high quantity in polyunsaturated fatty acids.

Methanol showed to be the best solvent to extract antioxidant compounds from several parts of the purple passion fruit studied. The shells revealed to be the part of the fruit with higher reducing power ( $EC_{50}$   $0.70 \pm 0.03$  mg/mL) and higher scavenging effect on the DPPH free radicals ( $EC_{50}$   $0.29 \pm 0.04$  mg/mL), meanwhile leaves showed higher total reducing capacity ( $141.43 \pm 11.23$  mg GAE/g).

In general, the commercial pulps showed to be quite different from pulp *in natura*. Regarding chemical composition, commercial pulps reported, in general, moisture values similar to the pulp *in natura*, meanwhile total soluble solids and pH value were higher in commercial pulps. The antioxidant activity of commercial pulps was lower in the three methods tested.

The seeds from commercial pulps revealed to be different from seeds from fresh fruits regarding moisture. The antioxidant activity was lower in the seeds from commercial pulps in the three evaluated assays, meanwhile the differences were not so deep as observed in the pulps.

**Keywords:** purple passion fruit; oil seeds; antioxidant activity; seeds, shells, pulp, flowers, leaves, pulp *in natura*; commercial pulp



# *CAPÍTULO 1*

Introdução geral



## 1.1. INTRODUÇÃO GERAL

A procura de frutas e legumes tropicais tem aumentado significativamente nos mercados nacionais e internacionais devido essencialmente ao seu sabor exótico. Esta procura crescente está também relacionada com o valor nutricional que é atribuído a estes alimentos, uma vez que fornecem quantidades apreciáveis de vitaminas, minerais e fibras. Por outro lado, a inclusão destes produtos na dieta alimentar, pode exercer uma função benéfica na saúde, atuando ao nível da prevenção de algumas doenças crónicas. Este efeito na saúde está relacionado com a presença de compostos capazes de prevenir o *stress* oxidativo das células, os chamados antioxidantes, destruindo espécies reativas de oxigénio e de azoto, que são prejudiciais ao organismo. Entre estes compostos, fazem parte vitaminas, minerais, pigmentos, como carotenóides e compostos fenólicos.

Neste sentido, é da máxima importância o conhecimento e avaliação dos produtos de origem vegetal, de modo a se poder valorizar as características desses produtos.

O maracujá é um fruto tropical que tem vindo a ser alvo de estudo devido às propriedades medicinais presentes nas flores e folhas, bem como a atividade antioxidante da polpa. Nas sementes os estudos têm sido direcionados à qualidade do seu óleo, em detrimento da atividade antioxidante das mesmas. Nas cascas os estudos apontam para o teor de fibras, sendo também escasso o estudo sobre a atividade antioxidante.

Em Portugal existem várias produções de maracujá-roxo, ainda que sejam poucas em relação a outros países da América Tropical. No entanto, até ao momento, a informação disponível acerca de maracujás provenientes de Portugal é escassa e necessita de maior atenção.

Com este trabalho pretendeu-se assim, contribuir para o aumento do conhecimento sobre o maracujá-roxo de origem Portuguesa, nomeadamente ao nível da atividade antioxidante da polpa, sementes, cascas, folhas e flores. No caso das sementes pretendeu-se também avaliar a composição do óleo, e no caso da polpa comparou-se a atividade biológica da polpa *in natura* com polpas comerciais ao nível da atividade antioxidante. Assim, os objetivos específicos deste trabalho foram:

- Avaliar as sementes de maracujá-roxo quanto à sua composição nutricional, nomeadamente quanto ao teor de humidade, proteína, gordura, cinzas, hidratos de carbono e valor energético, apresentado e discutido no Capítulo 3;
- Avaliar o óleo de sementes de maracujá-roxo quanto à sua composição (ácidos gordos, tocoferóis e tocotrienóis, esteróis), bem como a sua atividade antioxidante, usando três métodos distintos (efeito bloqueador de radicais ABTS<sup>•+</sup> e DPPH<sup>•</sup> e a capacidade redutora total) e a sua estabilidade à oxidação, apresentado e discutido no Capítulo 3;
- Avaliar a atividade antioxidante das sementes, polpa, cascas, flores e folhas de maracujá-roxo, usando três métodos de avaliação (efeito bloqueador de radicais de DPPH<sup>•</sup>, poder redutor sobre o complexo Fe (III)/ferricianeto e capacidade redutora total) e três solventes de extração (acetona, etanol (96%) e metanol), apresentado e discutido no Capítulo 4;
- Comparar polpas de maracujá comercial com a polpa *in natura* quanto a humidade, pH e sólidos solúveis totais. Comparar a atividade antioxidante usando três métodos de avaliação (efeito bloqueador de radicais DPPH<sup>•</sup>, poder redutor sobre o complexo Fe (III)/ferricianeto e capacidade redutora total), apresentado e discutido no Capítulo 5.



## *CAPÍTULO 2*

Revisão Bibliográfica





## 2.1. CLASSIFICAÇÃO E BOTÂNICA DO MARACUJÁ

O maracujazeiro (*Passiflora* spp.), pertence à classe Magnoliopsida, à ordem Malpighiales, à família Passifloraceae e ao género *Passiflora*. Este género compreende mais de 500 espécies, mas apenas cerca de 20 variedades são edíveis (Malacrida e Jorge, 2012).

O maracujazeiro é uma planta trepadeira que pode atingir os 5-10 metros. O caule desta planta é sublenhoso, sendo lignificado na base e em direção ao ápice vai aparecendo menos lignificado e herbáceo. Dependendo da espécie, o caule pode ser quadrangular ou circular, de onde surgem gemas vegetativas que dão origem a uma folha com brácteas foliáceas, a uma gavinha de fixação e a uma flor (Silve e São José, 1994; Meletti, 1995; Vasconcellos e Filho, 2000). As folhas são simples e alternadas que dependendo da espécie, podem ser lobulares ou ovaladas, com bordas lisas ou dentadas (Vasconcellos e Filho, 2000). As flores são hermafroditas e solitárias. Apresentam cinco pétalas e cinco sépalas. Os estames encontram-se presos a um androginóforo colunar, e são também 5. As anteras da flor são grandes, onde é possível ver o grande número de grãos de pólen amarelos e pesados, que dificultam a polinização pelo vento. A parte feminina da planta é representada pelo ovário tricarpelar e sobre este, os estigmas tripartidos que variam em relação à curvatura dos estiletos, dando origem a três tipos de flores diferentes na mesma planta. As flores são vistosas, com cor atraente, perfumadas e com uma elevada quantidade de néctar, tornando-se muito atrativas para os insetos polinizadores. (Meletti, 1995; Vasconcellos e Filho, 2000).

O fruto é uma baga globular, podendo ter tamanho, forma, peso, coloração e sabor variados, consoante a espécie e a variedade. A sua polpa pode variar de amarelo a laranja, envolvendo pequenas e numerosas sementes ovais pretas ou castanho-escuras (Cunha et al., 2004).

## 2.2. ESPÉCIES MAIS IMPORTANTES

Entre as espécies e variedades edíveis, destacam-se três por serem as mais importantes a nível económico: *Passiflora edulis* Sims *flavicarpa*, conhecido como maracujá-amarelo ou maracujá-azedo; *Passiflora edulis* Sims *edulis*, conhecido como maracujá-roxo; e *Passiflora alata* Cutis, conhecido como maracujá-doce (Malacrida e Jorge, 2012).

O maracujá-amarelo é pouco resistente ao frio, adaptando-se melhor a climas quentes como regiões tropicais e subtropicais (Meletti e Maia, 1999). Esta variedade é a mais interessante a nível comercial devido ao seu maior rendimento em sumo, à maior produtividade e à maior resistência a pragas e doenças. Além de ser consumido *in natura*, é utilizado na produção de doces, geleias, batidos, sumos, refrescos, gelados, polpas, entre outros produtos (Malacrida e Jorge, 2012). Das três variedades, é a que apresenta maior acidez total (Meletti e Maia, 1999; Pizza Júnior, 1991).

O maracujá-roxo é tolerante ao frio, sendo por isso indicado para regiões de maior altitude e de clima mais frio, como algumas regiões de Portugal onde é produzido. O seu rendimento em sumo é semelhante ao do maracujá-amarelo, no entanto difere em relação ao valor nutricional, apresentando maior percentagem de açúcares, teor em sólidos solúveis totais, teor em vitamina C e menor acidez crítica, tornando-se mais doce. Devido ao aroma e sabor intenso da sua polpa, é muito apreciado no consumo *in natura*, sendo também usual na indústria (Carvalho-Okano *et al.*, 2001).

O maracujá-doce é o menos conhecido, produzido e consumido. O rendimento em sumo é bastante baixo, e a polpa é adocicada com um perfume agradável. É quase exclusivamente consumido *in natura*, uma vez que o seu consumo na forma de sumo chega a ser enjoativo (Meletti e Maia, 1999).

Existe ainda uma diversidade de híbridos, que visam melhorar o rendimento do sumo, melhorar a qualidade nutritiva, a atratividade, a suscetibilidade a doenças e pragas, entre outros.

O maracujá é nativo do Brasil, podendo ser encontrado em todos os continentes, com predominância nas zonas tropicais e subtropicais (Oliva *et al.*, 1996; Liu *et al.*, 2008). Em Portugal é predominante nas ilhas, podendo ser encontrado também no Continente, mas apenas em jardins como ornamento ou para consumo familiar.

### 2.3. IMPORTÂNCIA DO MARACUJÁ

O maracujá é uma espécie com elevada importância alimentar, ornamental, económica e medicinal. A principal utilização é na alimentação humana. O fruto pode ser consumido *in natura*, ou em forma de sumo – o seu principal produto. O maracujá, quando transformado caseira ou industrialmente, é sobretudo sob a forma de doces, geleias, batidos, sumos, refrescos, gelados, licores, entre outros (Malacrida e Jorge, 2012), tornando-se interessante economicamente. Na ilha da Madeira o licor e o refrigerante de maracujá são bastante conhecidos.

O valor ornamental atribuído ao maracujá é essencialmente devido à beleza das suas flores, que exercem atração pelo seu tamanho, pela exuberância de cores exóticas, pela originalidade das formas e pelo perfume tão marcante. Para além de terem um forte potencial paisagístico, é atribuído às flores de maracujá um simbolismo religioso (Peixoto *et al.*, 2005).

Têm sido encontradas propriedades medicinais nas várias partes deste fruto, principalmente nas espécies *P. incarnata*, *P. edulis* Sims e *P. alata*, sendo ainda bastante pequeno o conhecimento para as demais espécies. A primeira espécie é a mais conhecida na medicina popular devido às suas propriedades sedativas e ansiolíticas, principalmente na flor, folhas e polpa dos frutos (Dhawan *et al.*, 2004; Masteikova *et al.*, 2008). A *P. edulis* Sims é utilizada, principalmente em forma de infusão, como sedativo, calmante, diurético, anti-helmíntico, antidiarreico, tónico e no tratamento de hipertensão, sintomas da menopausa, cólicas infantis e insónia (Kirtikar e Basu, 1975; Mowrey, 1993). Na Madeira, esta variedade é utilizada como estimulante digestivo e no tratamento do cancro gástrico (Watt e Breyer-Brandwijk, 1962). O óleo das sementes desta variedade faz parte de várias formulações cosméticas hidratantes (Dhawan *et al.*, 2004). As folhas de *P. alata*, apresentam propriedades que lhe conferem forte poder sedativo e analgésico (Oga *et al.*, 1984). Outras espécies, como a *P. caerulea*, *P. maliformis* Linn, *P. sexflora* Juss e *P. vitifolia* HBK, são também bastante recorrentes em tratamentos tradicionais. Enquanto as partes aéreas da primeira espécie são utilizadas na Argentina no tratamento de pneumonia e tosse com catarro (Anesini e Perez, 1993), a segunda é utilizada no Brasil como antipirético e as restantes contra picadas de cobra (Dhawan *et al.*, 2004).

## 2.4. PRODUÇÃO DE MARACUJÁ NO MUNDO

A produção de maracujá centraliza-se na América do Sul (Brasil, Equador, Colômbia e Perú) e em alguns países Africanos, perfazendo cerca de 93% da produção mundial. Na maioria dos países produtores, o maracujá-amarelo é o mais importante. No entanto, na África do Sul, Quênia, Estados Unidos da América e Nova Zelândia, há extensos pomares de maracujá-roxo. Na Austrália, cultivam-se principalmente híbridos de maracujá-roxo e maracujá-amarelo (Meletti e Brückner, 2001). O mercado Europeu é bastante receptivo ao maracujá-roxo, daí o interesse na produção da fruta *in natura*.

Segundo dados da FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), em 2010, no Brasil, as plantações de maracujá rondavam os 62 mil hectares, que renderam no mesmo ano por volta de 920 mil toneladas de frutos, sendo este país responsável pela maior produção mundial de maracujá (FAO, 2012).

Em Portugal, a variedade mais importante é o maracujá-roxo. O maracujá foi introduzido nos Açores por volta do século XVIII, e pouco tempo depois na Madeira. Durante muitos anos a cultura do maracujá foi tratada sem grandes cuidados uma vez que era apenas uma cultura de caráter familiar. Nos anos 40, nos Açores, o maracujá começou a ser produzido em grande escala. Atualmente, na ilha de S. Miguel, são produzidos frutos com a D.O.P. (Denominação de Origem Protegida) – “Maracujá de S. Miguel/Açores”, o que obriga a alguns cuidados na sua produção e ao respeito pelas regras estipuladas no caderno de especificações. Na Madeira, em 2012, a produção atingiu as 208 toneladas. Apesar de ser um valor modesto, mostra que a produção de maracujá está em crescimento. No entanto, os produtores desta ilha têm começado a apostar na cultura de maracujá-amarelo. A produção nas ilhas destina-se à comercialização em fresco e à transformação em polpa congelada e refrigerada. É comum a produção de licores e refrigerantes com polpa de maracujá-roxo.

Em Portugal Continental, não se conhecem ainda explorações com dimensão, sendo uma cultura ainda pouco desenvolvida. No entanto, é comum ver em qualquer jardim de Portugal um maracujazeiro de variedade roxa.

## 2.5. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS DIFERENTES PARTES DO MARACUJÁ

Grande parte dos frutos que são produzidos anualmente destinam-se à indústria transformadora, principalmente para produção de polpas e sumos concentrados. Neste processo, são descartados toneladas de subprodutos como cascas e sementes, que correspondem a cerca de 68% do peso total do fruto (de Oliveira *et al.* 2011; Oliveira *et al.*, 2002, Ferrari *et al.*, 2004), que raramente são aproveitadas. Com a crescente transformação de produtos a partir do maracujá, agregar valor a estes subprodutos pode tornar-se rentável para a economia, para a ciência e para a tecnologia, bem como para a proteção ambiental.

Como as restantes frutas, a composição química do maracujá é amplamente influenciada por diversos fatores como a variedade, fatores genéticos, grau de maturação, época de colheita, condições climáticas, composição do solo, região de cultivo e práticas culturais (Siddiq, 2012). Além disso, os compostos bioativos estão suscetíveis às reações de oxidação ocorridas durante o processamento e armazenamento de alimentos (Robards *et al.*, 1999) devido à instabilidade de alguns dos compostos.

A polpa do maracujá é essencialmente constituída por água, hidratos de carbono e açúcares, tendo um elevado valor nutritivo, devido à sua riqueza em Vitaminas C, A e vitaminas do complexo B. Esta fruta apresenta uma quantidade razoável de sais minerais, sendo os mais representativos o fósforo, o cálcio, o ferro, o sódio e o magnésio (Romero-Rodriguez *et al.*, 1994; Morton, 1987; Chan *et al.*, 1972; Kidoy *et al.*, 1997; Zibadi e Watson, 2004; Siddiq, 2012). Para além da vitamina C, a polpa de maracujá contém outros compostos com propriedades antioxidantes, como carotenóides, com o  $\zeta$ -caroteno e o  $\beta$ -caroteno presentes em maiores quantidades (da Silva e Mercadante, 2002; Siddiq, 2012), e compostos fenólicos, como antocianinas, onde a cianidina 3-glicósido prevalece (97% do total de antocianinas) (Kidoey *et al.*, 1997), e flavonoides, onde foram detetados, entre outros, isorientina e isovitexina (Zeraik e Yariwake, 2010). Os compostos voláteis são responsáveis pelo *flavour* característico da polpa do maracujá. Avaliados por Narain *et al.* (2004), foram encontradas 48 substâncias voláteis pertencentes ao grupo dos ésteres (59,24%), dos aldeídos (15,27%), das cetonas (11,70%) e dos álcoois (6,56%). Na tabela 1 encontra-se a composição básica de duas das espécies de maracujá.

**Tabela 1.** Composição nutricional, química e mineral média da polpa de maracujá-amarelo (*P. edulis* Sims *flavicarpa*) e maracujá-roxo (*P. edulis* Sims *edulis*) em 100 g de fruta fresca.

| Componentes                    | <i>P. edulis</i> Sims<br><i>flavicarpa</i> | <i>P. edulis</i> Sims<br><i>edulis</i> | Referências |
|--------------------------------|--|--|-------------|
| <b>Humidade (g)</b>            | 72,20                                      | 75,10                                  | [1]         |
| <b>Energia (kcal)</b>          | -  | 97                                     | [6]         |
| <b>Proteína (g)</b>            | 3,00                                       | 2,20                                   | [1]         |
| <b>Gordura (g)</b>             | 0,12                                       | 0,70                                   | [1; 6]      |
| <b>Cinzas (g)</b>              | 0,50                                       | 0,80                                   | [1]         |
| <b>Hidratos de Carbono (g)</b> | -  | 23,38                                  | [6]         |
| <b>Fibras totais (g)</b>       | 12,80                                      | 0,04                                   | [1]         |
| <b>Açúcares Totais (g)</b>     | -  | 11,20                                  | [6]         |
| Glucose (% açúcares totais)    | 38,10                                      | 37,10                                  | [3]         |
| Frutose (% açúcares totais)    | 29,40                                      | 33,50                                  | [3]         |
| Sacarose (% açúcares totais)   | 32,40                                      | 29,40                                  | [3]         |
| <b>Ácidos orgânicos (meq)</b>  |  |  |             |
| Cítrico                        | 13,10                                      | 55,00                                  | [3]         |
| Málico                         | 10,55                                      | 3,86                                   | [3]         |
| Lático                         | 0,58                                       | 7,49                                   | [3]         |
| Malónico                       | 0,13                                       | 4,95                                   | [3]         |
| Sucínico                       | Traços                                     | 2,42                                   | [3]         |
| <b>Compostos minerais (mg)</b> |  |  |             |
| Sódio                          | 8,00                                       | 28,00                                  | [1; 6]      |
| Potássio                       | 208,00                                     | 348,00                                 | [1; 6]      |
| Cálcio                         | 6,80                                       | 12,00-13,00                            | [1; 6]      |
| Ferro                          | 0,60                                       | 1,60                                   | [1; 6]      |
| Fosforo                        | 63,80                                      | 64,00-68,00                            | [1; 6]      |
| Magnésio                       | 28,00                                      | 17,00-29,00                            | [4; 5]      |
| Zinco                          | 0,60                                       | 0,10                                   | [4; 5; 6]   |
| Cobre                          | 0,19                                       | 0,10                                   | [4; 5]      |
| <b>Vitaminas</b>               |  |  |             |
| Vitamina A (U.I.)              | 200,00                                     | 700,00                                 | [1]         |
| Riboflavina (mg)               | 0,10                                       | 0,10-0,13                              | [1; 6]      |
| Niacina (mg)                   | 1,50-2,20                                  | 1,50                                   | [1; 6]      |
| Ácido ascórbico (mg)           | 22,00                                      | 30,00                                  | [1]         |

[1] Romero-Rodriguez *et al.* (1994); [2] Morton (1987); [3] Chan *et al.* (1972); [4] Kidoey *et al.* (1997); [5] Zibadi e Watson (2004); [6] Siddiq (2012).

Por sua vez, as sementes de maracujá são ricas em fibras, minerais e lípidos, e exibem uma considerável quantidade de proteínas e hidratos de carbono (Malacrida e Jorge, 2012; Jorge *et al.*, 2009; Chang e Huang, 2004) (Tabela 2). De entre as fibras, as insolúveis são predominantes (Chau e Huang, 2004), por isso, o seu aproveitamento na produção de géneros alimentícios pode contribuir para o aumento dos teores de fibra insolúvel na dieta, além de reduzir os desperdícios industriais. Apesar da atividade antioxidante das sementes de maracujá ainda não ter sido muito aprofundada, existem estudos que referem que estas sementes contêm uma quantidade apreciável de compostos antioxidantes, nomeadamente compostos fenólicos (42,93mg GAE/g amostra) (Jorge *et al.*, 2009).

A semente de maracujá tem uma quantidade de óleo considerável, que varia entre 18,5 e 30,4% (Giuffré, 2007; Piombo *et al.*, 2006; Nyanzi *et al.*, 2005; Malacrida e Jorge, 2009; Liu *et al.*, 2008). Além disso, é rica em ácidos gordos polinsaturados, sendo constituído maioritariamente por ácido linoleico (C<sub>18:2</sub>) compondo cerca de 67,4 a 74,3% do total de ácidos gordos, seguido do ácido oleico (C<sub>18:1</sub>) com cerca de 10,70 a 16,80%, e ácido palmítico (C<sub>16:0</sub>) variando entre 8,0 e 12,8%. Destes ácidos gordos, o ácido linoleico é essencial na dieta humana, uma vez que o organismo não é capaz de sintetizá-lo, sendo assim designado como um ácido gordo essencial. Contudo, esta composição implica que o óleo seja suscetível à oxidação lipídica devido à sua elevada quantidade em ácidos gordos polinsaturados (Malacrida e Jorge, 2009; Giuffré, 2007; Piombo *et al.*, 2006; Nyanzi *et al.*, 2005; Ferrari *et al.*, 2004; Ferreira *et al.*, 2011; Assunção *et al.*, 1984; Lopes *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2008; Jorge *et al.*, 2009).

Os compostos antioxidantes também estão presentes em quantidades significativas, como esteróis (209 mg/100g), sendo os principais o  $\beta$ -sitosterol (42,51%), o estigmasterol (30,87%) e o campesterol (11,14%), (Guffré, 2007; Piombo *et al.*, 2006), e tocoferóis (465-499,3 mg/kg), onde prevalece a presença de  $\delta$ -tocoferol (243-278,7 mg/kg) e  $\gamma$ -tocoferol (166,6-217 mg/kg) (Malacrida e Jorge, 2012; Piombo *et al.*, 2006).

**Tabela 2.** Composição nutricional, química e mineral média de sementes e cascas de maracujá em 100 g de produto.

| <b>Componentes</b>             | <b>Sementes</b> | <b>Referências</b> | <b>Cascas</b> | <b>Referências</b> |
|--------------------------------|-----------------|--------------------|---------------|--------------------|
| <b>Humidade (g)</b>            | 7,38            | [1]                | 78,73         | [4]                |
| <b>Proteína (g)</b>            | 12,27           | [1]                | 2,28          | [4]                |
| <b>Gordura (g)</b>             | 30,29           | [1]                | 0,51          | [4]                |
| Saturada                       | 12,41           | [1]                | -             |                    |
| Insaturada                     | 87,59           | [1]                | -             |                    |
| <b>Cinzas (g)</b>              | 1,27            | [1]                | 1,61          | [4]                |
| <b>Fibras (g)</b>              | 64,8            | [3]                | 4,35          | [4]                |
| Insolúveis                     | 64,1            | [3]                | -             |                    |
| Solúveis                       | 0,73            | [3]                | -             |                    |
| <b>Hidratos de carbono (g)</b> | 13,19           | [2]                | 6,78          | [4]                |
| <b>Minerais (mg)</b>           |                 |                    |               |                    |
| Cálcio                         | -               |                    | 44,51         | [5]                |
| Ferro                          | -               |                    | 0,89          | [5]                |
| Fósforo                        | -               |                    | 36,36         | [5]                |
| Sódio                          | -               |                    | 43,77         | [5]                |
| Magnésio                       | -               |                    | 27,82         | [5]                |
| Potássio                       | -               |                    | 178,40        | [5]                |
| Zinco                          | -               |                    | 0,56          | [5]                |
| Cobre                          | -               |                    | 0,04          | [5]                |

[1] Malacrida e Jorge (2012); [2] Jorge *et al.* (2009); [3] Chang e Huang (2004); [4] de Oliveira *et al.* (2002); [5] Gondim *et al.* (2005).

As cascas do maracujá são essencialmente constituídas por água, hidratos de carbono, proteína e fibras (Chang e Huang, 2004) (Tabela 2). As fibras predominantes são as solúveis, especialmente a pectina. As fibras solúveis podem auxiliar na prevenção de doenças cardiovasculares, gastrointestinais, cancro do colon, diabetes, obesidade, entre outros (Schweize e Wursch, 1991; Turano *et al.*, 2002). Além disso, as cascas podem ser utilizadas no fabrico de doces devido à sua quantidade em pectina (de Oliveira *et al.*, 2002). As cascas são ainda ricas em minerais como potássio, fosforo, cálcio, sódio e magnésio (Gondim *et al.*, 2005) (Tabela 2). Não existem estudos muito vastos acerca dos compostos antioxidantes presentes na casca, no entanto, foram já detetados flavonoides como luteolina, isorientina, cianidina 3-*O*-glucósido e quercetina 3-*O*-glucósido (Ichimura *et al.*, 2006; Zibadi *et al.*, 2007)

É também de grande importância o estudo das folhas e flores de maracujá, visto que existem estudos reveladores das suas fortes propriedades medicinais (Dhawan *et al.*



2004). As folhas apresentam uma elevada quantidade de compostos antioxidantes como compostos fenólicos (da Silva *et al.*, 2013; Rudnicki *et al.*, 2007) dentro dos quais flavonóides (Pereira e Vilegas, 2000). As flores têm propriedades sedativas e antioxidantes, como os flavonoides vicenina, a isovitexina e a orientina (Masteikova *et al.*, 2008) e antocianinas (Billot, 1974).

## 2.6. BIBLIOGRAFIA

- Anesini, C., Perez, C. (1993). Screening of plants used in argentine folk medicine for antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, **39**: 119–128.
- Assunção, F. P., Bentes, M. H. S., Serruya, H. (1984). A comparison of the stability of oils from Brazil nut, Pará rubber and passion fruit seeds. *Journal of the American Oil Chemistry Society*, Champaign, **61**: 1031-1036.
- Billot, J. (1974). Pigments anthocyaniques des fleurs de *Passiflora quadrangularis*. *Phytochemistry*, **13**: 2886-2886.
- Carvalho-Okano, R. M., Vieira, M. F., Bruckner, C. H., Picanço, M. C.. Maracujá: Tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001.
- Chan, H. T., Chang, T. S. K., Chenchin, E. (1972). Nonvolatile acids of passion fruit juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **20**: 110-112.
- Chau, C. F., Huang, Y. L. (2004). Characterization of passion fruit seed fibres - a potential fibre source. *Food Chemistry*, **85**: 189-194.
- Cunha, M. A. P, Barbosa, L. V., Faria, G. A. Em: Lima, A. De A. E Cunha, M. A. P.. Maracujá: Produção e qualidade na passicultura. Cruz das Almas: Embrapa, Mandioca e Fruticultura, 2004.
- da Silva, J. K., Cazarin, C. B. B., Colomeu, T. C., Batista, A. G., Meletti, L. M. M., Paschoal, J. A. R., Bogusz Júnior, S., Furlan, M. F., Reyes, F. G. R., Augusto, F., Maróstica Júnior, M. R., de Lima Zollner, R., (2013). Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: in vitro and in vivo study. *Food Research International*, **53**: 882-890.
- da Silva, S. R., Mercadante, A. Z. (2002). Composição de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*) in natura. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, **22**: 254-258
- de Oliveira, E. M. S., Regis, S. Al, de Resende, E. D. (2011). Caracterização dos resíduos da polpa do maracujá-amarelo. *Ciência Rural*, **41**: 725-730.
- Dhawan K, Dhawan S, Sharma, A. (2004). *Passiflora*: A review update. *Journal of Ethnopharmacology*, **94**: 1-23.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) – Disponível em: <http://www.fao.org>
- Ferrari, R. A. P., Colussi, F., Ayub, R. A. (2004) Caracterização de subprodutos da industrialização do maracujá-aproveitamento das sementes. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **26**: 101-102.
- Ferreira, B. S., Almeida, C. G., Faza, L. P., Almeida, A., Diniz, C. G., Silva; V. L., Grazul, R. M., Hyaric, M. (2011). Comparative properties of amazonian oils obtained by different extraction methods. *Molecules*, **16**: 5874-5885.
- Giuffré, A. M. (2007). Chemical composition of purple passion fruit (*Passiflora edulis Sims edulis*) seed oil, *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, **84**: 87-93.

- Gondim, J. A. M., Moura, M. F. V., Dantas, A. S., Medeiros, R. L. S., Santos, K. M. (2005). Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. *Ciencia Tecnologia dos Alimentos*, **25**: 825-827.
- Ichimura, T., Yamanaka, A., Ichiba, T., Toyokawa, T., Kamada, Y., Tamamura, T., Maruyama, S. (2006). Antihypertensive effect of an extract of *Passiflora edulis* rind in spontaneously hypertensive rats. *Bioscience, Biotechnoly and Biochemistry*, **70**: 718-721.
- Jorge, N., Malacrida, C. R., Angelo, P. M., Andreo, D. (2009). Composição centesimal e atividade antioxidante do extrato de sementes de maracujá (*Passiflora edulis*) em óleo de soja. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, **39**: 380-385.
- Kidoey, L., Nygard, A. M., Andersen, O. M., Pedersen, A. T., Aksnes, D. W., Kiremire, B. T. (1997). Anthocyanins in fruits of *Passiflora edulis* and *P. suberosa*. *Journal of Food Composition and Analysis*, **10**: 49-54.
- Kirtikar, K.R., Basu, B.D.. Indian Medicinal Plants. Periodical Experts, Dehradun. India, 1975.
- Liu, S., Yang, F., Li, J., Zhang, C., Ji, H., Hong, P. (2008). Physical and chemical analysis of *Passiflora* seeds and seed oil from China. *International Journal of Food Sciences Nutrition*, **59**: 706-715.
- Lopes, R. M., Sevilha, A. C., Faleiro, F. G., Silva, D. B., Vieira, R. F., Agostini-Costa, T. da S. (2010). Estudo comparativo do perfil de ácidos graxos em sementes de Passifloras nativas do cerrado brasileiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **32**: 498-506.
- Malacrida, C. R., Jorge, N. (2012) Yellow Passion Fruit Seed Oil (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*): Physical and Chemical Characteristics. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **55**: 127-134.
- Masteikova, R., Bernatoniene, J., Bernatoniene, R., Velziene, S. (2008). Antiradical activities of the extract of *Passiflora incarnata*. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, **65**: 577-583.
- Meletti, 1995. Em: Castro, P. R. C., Kluge, R. A.. Ecofisiologia de fruteiras tropicais: abacaxizeiro, maracujazeiro, mangueira, bananeira, cacaueiro. São Paulo: Nobel, 1998 (33-34).
- Meletti, L. M. M. e Maia, M. L.. Maracujá: produção e comercialização. São Paulo, Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 1999.
- Meletti, L. M. M. e Brückner, C. H. Em: Brückner, C. H. e Picanço, M. C. Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria e mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001 (345-385).
- Morton, J. F.. Fruits of warm climates. Miami, F.L., 1987 (320-328).
- Mowrey, D. B.. Herbal Tonic Therapies. Keats Publishing Incorporation. New Canaan, Connecticut: Keats Publishing, Inc., 1993.
- Narain, N., Almeida, J. N., Galvão, M. S., Madruga, M. S., Brito, E. S. (2004). Compostos voláteis dos frutos de maracujá (*Passiflora edulis* forma *flavicarpa*) e de cajá (*Spondias monbin* L.) obtidos pela técnica de headspace dinâmico. *Ciência Tecnologia dos Alimentos*, **24**: 212-216.

- Nyanzi, S. A., Carstensen, B., Schwack W. (2005). A comparative study of fatty acid profiles of *Passiflora* seed oils from Uganda., *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **82**: 41-44.
- Oga, S., de Freitas, P. C. D., Gomes da Silva, A. C., Hanada, S., (1984). Pharmacological trials of crude extracts of *Passiflora alata*. *Planta Médica*, **51**: 303-306.
- Oliva, P. B., Menezes, H. C., Ferreira, V. L. P. (1996). Estudo da estabilidade do néctar de acerola. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **16**: 228-223.
- Oliveira, L. F., Nascimento, M. R. F., Borges, S. V., Ribeiro, P. C. N., Ruback, V. R. (2002). Aproveitamento alternativo da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa deg.*) para produção de doce em calda. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **22**: 259-262.
- Peixoto, M. (2005) Em: Faleiro, F. G., Junqueira, N. T. V., Braga, M. F.. Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina-DF, Embrapa Cerrados, 2005 (457-463).
- Pereira, C. A. M., Vilegas, J. H. Y. (2000). Constituintes químicos e farmacologia do género *Passiflora* com ênfase a *P. alata*, *P. edulis* e *P. incarnata*: revisão da literatura. *Revista Brasileira de Medicina*, **3**: 1-12.
- Piombo, G., Barouh, N., Barea, B., Boulanger, R., Brat, P., Pina, M., Villeneuve, P. (2006). Characterization of the seed oils from kiwi (*Actinidia chinensis*), passion fruit (*Passiflora eulis*) and guava (*Psidium guajava*). *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, **13**: 195-199.
- Pizza Júnior, C. de T., A cultura do maracujá. São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento, 1991.
- Robards, K., Prenzler P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, **66**: 401-436.
- Romero-Rodriguez, M. A., Vazquez-Oderiz, M. L., Lopez-Hernandez, J., Simal-Lozano, J. (1994). Composition of babaco, feijoa, passion fruit and tamarillo produced in Galicia (NW Spain). *Food Chemistry* **49**: 23-27.
- Rudnicki, M., de Oliveira, M. R., Pereira, T. D., Reginatto, F. H., Dal-Pizzol, F., e Moreira, J. C. F. (2007). Antioxidant and antiglycation properties of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* extracts. *Food Chemistry*, **100**: 719-724.
- Schweizer T. F., Wursch P. (1991). The physiological and nutritional importance of dietary fiber. *Experientia*, **47**: 181-186.
- Siddiq, M.. Tropical and Subtropical Fruits: Postharvest, Processing and Packaging. John Wiley & Sons, 2012.
- Silve e São José, 1994. In: Castro, P. R. C., Kluge, R. A.. Ecofisiologia de fruteiras tropicais: abacaxizeiro, maracujazeiro, mangueira, bananeira, cacauzeiro. São Paulo: Nobel, 1998 (33-34).
- Turano, W., Louzada, S. R. N., Derevi, S. C. N., Mendez, M. H. M. (2002). Estimativa de consumo diário de fibra alimentar na população adulta, em regiões metropolitanas do Brasil. *Nutrição Brasileira*, **3**: 130-135.

- Vasconcellos, M. A. S. e Filho, J. (2000). Ecofisiologia do maracujazeiro. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, **21**: 25-28.
- Watt, J. M., Breyer-Brandwijk, M. G.. The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa. Edinburg, Livingston, 1962 (826–830).
- Zeraik, M. L., Yariwake, J. H. (2010). Quantification of isoorientin and total flavonoids in *Passiflora edulis* fruit pulp by HPLC-UV/DAD. *Microchemical Journal*, **96**: 86–91.
- Zibadi, S., Watson, R. R. (2004). Passion fruit (*Passiflora edulis*): composition, efficacy and safety (Review). *Evidence-Based Integrative Medicine*, **3**: 183-187.





## *CAPÍTULO 3*

Caracterização das  
sementes de *Passiflora  
edulis* Sims *edulis* e do  
seu óleo





### 3.1. INTRODUÇÃO

Recentemente, tem sido notado o crescimento do consumo de frutas tropicais devido ao seu valor nutricional. Entre essas frutas, está o maracujá (*Passiflora edulis* Sims). Este fruto é originário da América tropical mas tem sido cultivado em larga escala nos trópicos, subtropicos e regiões temperadas (Oliva *et al.*, 1996; Liu *et al.*, 2008).

Este fruto é geralmente consumido *in natura*, e usado na indústria alimentar na confecção de sumos, refrigerantes, gelados, doces, licores, entre outros, onde apenas é utilizada a polpa. No processo de extração da polpa, as cascas e as sementes, que representam, respetivamente, cerca de 50 e 13% do peso do fruto, são normalmente descartadas e consideradas um resíduo, tornando-se um problema industrial e essencialmente ambiental. Assim, é de interesse económico, científico e tecnológico encontrar vias alternativas de exploração destes subprodutos, como estratégia de modo a acrescentar valor aos mesmos (Oliva *et al.*, 1996; Oliveira *et al.*, 2002; Ferrari *et al.*, 2004).

Diversos autores demonstraram que as sementes de maracujá-amarelo (*P. edulis* Sims *flavicarpa*), maracujá-roxo (*P. edulis* Sims *edulis*) e híbridos de maracujá (Kawanda e 'Tainung no. 1') são ricas em fibras, predominando as insolúveis, minerais, lípidos, proteínas e compostos antioxidantes (Chau e Huang, 2004). Além disso, as semente de maracujá tem uma quantidade de óleo considerável que varia entre 18,5 e 30,39%. O óleo das sementes de maracujá é essencialmente constituídos por ácidos gordos fazendo também parte da sua composição a vitamina E, esteróis, bem como compostos fenólicos, e pigmentos, como os carotenoides (Giuffré, 2007; Piombo *et al.*, 2006; Nyanzi *et al.*, 2005; Malacrida e Jorge, 2009; Liu *et al.*, 2008).

Os ácidos gordos polinsaturados são nutricionalmente muito importantes para a saúde humana, visto que permitem reduzir os níveis de colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade) e aumentar os níveis de colesterol HDL (lipoproteína de alta densidade) no sangue, reduzindo assim a ocorrência de doenças cardiovasculares (McLennan, 1993). Dentro deste conjunto de ácidos gordos, existem ainda os essenciais, que são assim chamados uma vez que o corpo humano não é capaz de sintetizá-los, embora sejam muito importantes no organismo. Vários estudos referem que do total de ácidos gordos presentes nas sementes de maracujá, os polinsaturados são

predominantes com grande vantagem sobre os diferentes grupos de ácidos gordos variando entre 72,60 a 73,8% (Giuffré, 2007; Piombo *et al.*, 2006; Malacrida e Jorge, 2009). Além disso, contém também uma elevada quantidade de ácido linoleico, ácido gordo essencial à dieta humana (Giuffré, 2007; Piombo *et al.*, 2006; Malacrida e Jorge, 2009).

Os ácidos gordos monoinsaturados são, também, muito importantes a nível nutricional, uma vez que podem contribuir para diminuir a concentração de colesterol LDL no sangue e ao mesmo tempo, possuem a capacidade de manter ou aumentar a concentração de colesterol HDL (Lanza *et al.*, 2010), fazendo assim prevenir e reduzir o risco de doenças cardiovasculares (Kastorini *et al.*, 2010). As sementes de maracujá perfazem um total de ácidos gordos monoinsaturados que varia entre 14,04 a 16,44% (Giuffré, 2007; Piombo *et al.*, 2006; Malacrida e Jorge, 2009).

A presença dos ácidos gordos saturados no óleo, determina alguma resistência à oxidação, em que o aumento do seu teor é proporcional ao aumento da degradação da gordura (López-López *et al.*, 2011). Uma dieta rica neste tipo de gorduras pode provocar doenças cardiovasculares, como arritmias cardíacas e formação de ateromas, devido ao aumento de colesterol LDL no sangue (McLennan, 1993). No óleo de maracujá, este grupo de ácidos gordos está presente numa pequena percentagem, comparado com os ácidos gordos insaturados, variando o seu teor de 10,26 a 12,46% (Giuffré, 2007; Piombo *et al.*, 2006; Malacrida e Jorge, 2009; Liu *et al.*, 2008; Ferrari *et al.*, 2004).

Existem ainda outra classe de ácidos gordos, que são denominados ácidos gordos *trans*. Estes ácidos gordos são bastante prejudiciais ao organismo, visto que fazem aumentar o colesterol LDL e diminuir o colesterol HDL no sangue. Normalmente são formados aquando a hidrogenação da gordura, fazendo com que ácidos gordos monoinsaturados e poliinsaturados passem à forma de ácidos gordos saturados, formando ácidos gordos hidrogenados, ou mudem a sua configuração *cis* para *trans*, formando os ácidos gordos *trans* (Alonso *et al.*, 2000; Wassell e Young, 2007). No entanto, nos estudos em que se avaliou o perfil de ácidos gordos do óleo de sementes de maracujá, não foi referida a presença deste grupo de ácidos gordos.

A vitamina E e os esteróis fazem parte da matéria insaponificável dos óleos vegetais. A vitamina E é composta por um grupo de 8 compostos antioxidantes lipossolúveis: 4 tocoferóis ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ ) e 4 tocotrienóis ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ ). Dependendo da sua

natureza estes compostos diferem na sua atividade antioxidante, tendo elevada importância em relação à estabilidade oxidativa dos óleos devido à sua capacidade de inibir radicais livres (Rossignol-Castera e Bosque, 1994). Entre todos os constituintes da vitamina E, os  $\alpha$ - e  $\beta$ -tocoferóis são apontados como os antioxidantes mais forte, no entanto, existem alguns trabalhos que referem os isómeros  $\gamma$ - e  $\delta$ -tocoferóis como sendo os melhores antioxidantes (Rossignol-Castera e Bosque, 1994; Schmidt e Pokorný, 2005). A vitamina E tem elevada importância nutritiva uma vez que a sua falta pode causar hemólise em humanos e afetar o desenvolvimento do sistema nervoso em crianças (Sokol, 1996). Outros estudos comprovam que a ingestão de vitamina E pode reduzir o risco de aterosclerose (Rimm *et al.*, 1993).

Os esteróis, chamados fitoesteróis quando ocorrem em produtos de origem vegetal, são semelhantes ao colesterol na sua função e estrutura (Kritchevsky e Shirley, 2005). Estudos realizados comprovam que a ingestão deste tipo de esteróis, pode diminuir os níveis de colesterol no sangue (de Jong *et al.*, 2003; Ostlund, 2004), fazendo assim com que haja um decréscimo no risco de doenças cardiovasculares, aumentando o colesterol HDL (lipoproteína de alta densidade) e reduzindo o colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade) (Li *et al.*, 2007). Os fitoesteróis, em especial o  $\beta$ -sitosterol, representam um papel importante não só na indústria alimentar, devido às suas propriedades anticancerígenas e antioxidantes (Awad *et al.*, 2004; Vivancos e Mopeno, 2005), como também na indústria farmacêutica, pelas suas atividades anti-inflamatórias, anti-bacterianas, anti-fúngicas, anti-ulcerativas, e na indústria de cosméticos na produção de cremes e batons (Stuchlik e Zak, 2002; Awad *et al.*, 2000).

O estudo destes dois parâmetros – vitamina E e fitoesteróis - em óleo de maracujá, é escasso. Alguns autores estudaram os tocoferóis presentes em sementes de maracujá, tendo obtido valores de tocoferóis entre 465 e 499,30 mg/kg de óleo. Os tocoferóis presentes em maior quantidade revelaram ser o  $\gamma$ - e  $\delta$ -tocoferol com valores entre 243 e 278,70 mg/kg, e entre 166,60 e 217 mg/kg de óleo, respetivamente (Piombo *et al.*, 2006; Malacrida e Jorge, 2012). Relativamente aos esteróis, os óleos de sementes de maracujá são predominantemente compostos por  $\beta$ -sitosterol (87,2 mg/100 g de óleo) e por estigmasterol (87,1 mg/100 g de óleo) (Piombo *et al.*, 2006). Para uma variedade de maracujá do Quênia obteve-se um teor total de esteróis na ordem dos 209 mg/100 g de óleo (Piombo *et al.*, 2006).

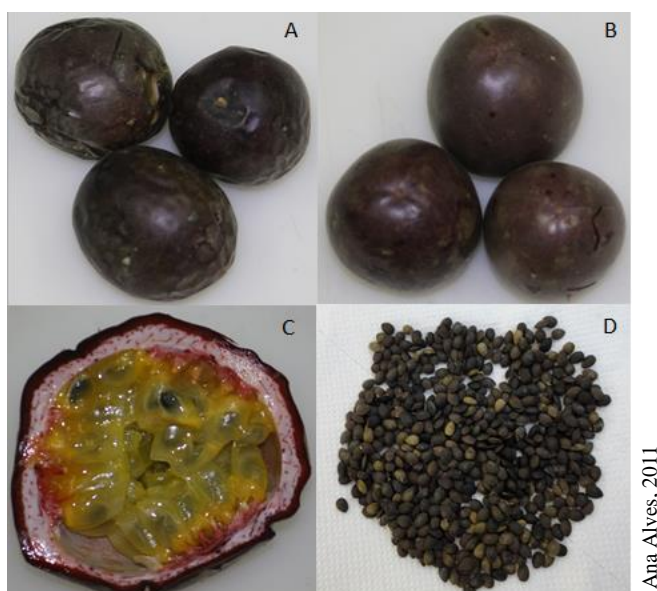
Os compostos fenólicos são também antioxidantes encontrados em óleos vegetais, podendo manifestar esse carácter por diversas vias. Estes compostos tanto podem inibir radicais livres, como atuar como agente pro-oxidante em metais, ou ainda interferir na atividade de certas enzimas aumentando ou diminuindo a sua atividade. Os fenóis podem também ajudar na atividade de outros antioxidantes, como vitaminas solúveis em gordura (Drużyńska *et al.*, 2008), sendo o caso da vitamina E. Tal como para a vitamina E e esteróis, são escassos os estudos acerca destes compostos no óleo de sementes de maracujá, no entanto, Malacrida e Jorge (2012), demonstraram que o óleo de maracujá amarelo apresenta um alto teor de compostos fenólicos (1313,13mg/kg de óleo), constituindo uma boa fonte de antioxidantes.

Embora seja um fruto exótico, o maracujá pode ser atualmente encontrado em alguns jardins de Portugal Continental, como ornamento ou para pequenos consumidores, ou nas ilhas, em produções. No entanto, os frutos encontrados no mercado são normalmente importados da Colômbia. Em Portugal é maioritariamente representado pelo maracujá-roxo. No entanto, a informação sobre a composição tanto de sementes como dos óleos provenientes destas é escassa ou mesmo inexistente, sendo uma vertente de importante valor comercial, industrial, e de possível exploração farmacêutico-medicinal. Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar, de forma exploratória, quantitativamente e qualitativamente a composição de sementes de maracujá-roxo produzidos no Norte de Portugal, bem como do óleo daí obtido. Para além do rendimento em óleo que as sementes proporcionaram, no próprio óleo avaliou-se a composição química (perfil em ácidos gordos, composição em esteróis, teor em vitamina E (tocoferóis e tocotrienóis), a bioatividade (capacidade redutora total e atividade antioxidante), e a estabilidade oxidativa.

## 2.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1. Obtenção e preparação das amostras

Obtiveram-se maracujás frescos produzidos no ano de 2011 provenientes de duas regiões: Barcelos e Porto, que foram recolhidos em sacos esterilizados e transportados a 4°C. No laboratório, as sementes dos maracujás foram cuidadosamente separadas da polpa e posteriormente, foram lavadas e desidratadas numa estufa ventilada (Mettler Schwabach 854) à temperatura de 40±5°C até à estabilização do peso (Figura 1. (D)). Após secagem, as sementes foram colocadas em tubos de Falcon e armazenadas no frigorífico a 4±2 °C, para posteriores análises.



**Figura 1.** **A** – Maracujás roxos do Porto; **B** – Maracujás roxos de Barcelos; **C** – Parte interior do maracujá roxo após corte transversal no fruto; **D** – Sementes de maracujá roxo estudadas.

Imediatamente antes de cada análise, foi triturada uma quantidade de sementes suficiente para a determinação do parâmetro a avaliar (Figura 2). Durante a ocorrência dos ensaios as sementes trituradas eram guardadas no frigorífico a 4±2 °C em tubos de Falcon e protegidas da luz até posterior utilização.



**Figura 2.** Sementes de maracujá-roxo lavadas, secas e trituradas

### **3.2.2. Composição centesimal das sementes**

#### **3.2.2.1. Teor de humidade**

O teor de humidade foi determinado, em triplicado, pelo método gravimétrico, utilizando aproximadamente 5 g de amostra triturada. Esta foi colocada numa placa de Petri, previamente desidratada e pesada, e de seguida foi colocada numa estufa (Memmert Schwabach 854, 1994) a  $100 \pm 2$  °C até peso constante, seguindo o método AOAC 925.40 (AOAC, 1995). O teor de humidade foi expresso em percentagem e calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Teor de humidade (\%)} = \frac{P_f - P_s}{\text{Toma de amostra}} \times 100$$

Sendo:

$P_f$ = Peso da placa de Petri com amostra fresca

$P_s$ = Peso final da placa de Petri com amostra seca

#### **3.2.2.2. Teor de cinzas**

A determinação do teor de cinzas foi efetuada segundo o método AOAC 940.26 (AOAC, 2000). Foram colocados cerca de 0,5 g de sementes trituradas em cadinhos de porcelana previamente desidratados e pesados e de seguida foram submetidos a uma incineração completa numa mufla (48000 Furnace, Thermolyne, USA) a  $550 \pm 15$  °C. A determinação foi efetuada em triplicado. O teor de cinzas foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Teor de Cinzas (\%)} = \frac{P_f - P_i}{\text{Toma de amostra}} \times 100$$

Sendo:

Pf= Peso final do cadinho com cinzas

Pi= Peso do cadinho vazio e seco

### **3.2.2.3. Teor de proteína**

O teor de proteína bruta foi determinado segundo o método Kjeldahl, de acordo com o procedimento AOAC 920.152 (AOAC, 2000). Assim, pesou-se 1 g de amostra previamente seca para um tubo de Kjeldahl, adicionou-se uma pastilha de catalisador (Kjetabs, com a composição de 5 g de sulfato de potássio e 0,5 g de sulfato de cobre (II)) e 15 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Os tubos foram colocados a digerir num bloco digestor a uma temperatura de  $400\pm 50$  °C. Após digestão completa das amostras, foram deixadas a arrefecer e colocaram-se os tubos num analisador de Kjeldahl (Velp Scientifica UDK 152), onde foi feita a destilação da amónia, a sua recolha num excesso de ácido bórico e a titulação do ião dihidrogenoborato com ácido clorídrico, obtendo-se assim os valores percentuais de azoto. Através do fator de conversão universal de 6,25, puderam-se converter os valores percentuais de azoto em valores percentuais de proteína bruta.

Os valores foram obtidos em triplicado e expressos em percentagem de proteína bruta.

### **3.2.2.4. Gordura total**

O teor de gordura total foi determinado em triplicado num aparelho de Soxhlet de acordo com o método AOAC 948.22, usando como solvente éter de petróleo com um tempo mínimo de extração de 24 horas (AOAC, 2000). A cerca de 5 g de amostra colocada num almofariz, foi adicionado sulfato de sódio anidro em quantidade suficiente para desidratar e ajudar a macerar a amostra. Seguidamente a amostra foi transferida para um cartucho de papel de filtro que foi colocado no extrator Soxhlet. Adicionou-se o solvente e deu-se início à extração (Figura 3).



Ana Alves, 2011

**Figura 3.** Extração da gordura das sementes em extrator Soxhlet.

Após 24 horas, o solvente foi retirado num evaporador rotativo e por evaporação em estufa a  $50 \pm 2$  °C, até peso constante.

O teor de gordura foi expresso em percentagem de gordura utilizando a seguinte equação:

$$\text{Teor de gordura (\%)} = \frac{\text{Pf} - \text{Pi}}{\text{Toma de amostra}} \times 100$$

Sendo:

Pf= Peso final do balão com gordura

Pi= Peso inicial do balão

#### **3.2.2.5. Hidratos de Carbono**

O teor de hidratos de carbono, incluindo fibras, foi estimado após a determinação das percentagens de humidade, proteína bruta, gordura e cinzas, a partir da seguinte fórmula:

$$\text{Teor de hidratos de carbono(\%)} = 100 - \text{humidade(\%)} - \text{cinzas(\%)} - \text{proteína(\%)} - \text{gordura(\%)}$$

#### **3.2.2.6. Determinação do Valor Energético**

Após a determinação do teor em proteína, gordura e hidratos de carbono foi calculado o valor energético, que foi expresso em quilocalorias por cada 100 gramas (kcal/100 g), usando os fatores de Atwater através da seguinte equação:



$$\text{Valor Energético } \left( \frac{\text{kcal}}{100\text{g}} \right) = 4 \times (\text{hidratos de carbono } (\%) + \text{proteína } (\%)) + 9 \times (\text{gordura } (\%))$$

### 3.2.3. Composição do óleo das sementes

#### 3.2.3.1. Composição em ácidos gordos

Para a análise dos ácidos gordos procedeu-se à extração da gordura de cada amostra, preparando cartuchos, em triplicado, com cerca de 15 g de sementes trituradas e sulfato de sódio anidro. A extração realizou-se em dispositivos de Soxhlet, usando éter de petróleo como solvente e um tempo de extração de 6 horas. Ao solvente foi adicionado 0,01% do antioxidante butil-hidroxi-tolueno (BHT) para a preservação das amostras.

O solvente extrator foi evaporado a vácuo, sem levar o extrato à secura, e o resíduo de éter foi eliminado num evaporador de azoto. Para preparação dos ácidos gordos, assim como os seus ésteres metílicos, procedeu-se a uma transesterificação alcalina a frio, com uma solução de hidróxido de potássio metanólico (ISO 5509, 2000) e extração com n-heptano, conforme consta no anexo II do Regulamento (CEE) nº 2568/91 da Comissão Europeia de 11 de Julho de 1991.

Assim, colocaram-se 2 mL de n-heptano num *vial* de 4 mL, adicionaram-se 50 µL do extrato lipídico e agitou-se para homogeneizar a solução. Adicionaram-se 200 µL de solução de KOH 2M em metanol, agitou-se durante cerca de 1 minuto e deixou-se repousar até que a fase superior ficasse límpida. Transferiu-se cerca de 1 mL da fase orgânica para um *vial* adaptável ao injetor automático do cromatógrafo gasoso.

O perfil em ácidos gordos foi determinado com um cromatógrafo gasoso (GC) (Chrompack, modelo CP-9001) com injetor em sistema split/splitless, com uma relação de split de 1:50, injetor com detetor de ionização por chama (FID) e amostrador automático (modelo Chrompack CP-9050). A separação dos ácidos gordos foi efetuada numa coluna WCOT (Wall Coated Open Tubular) de sílica fundida com fase estacionária CP Sil-88 (100% cianopropilpolisiloxano) com as dimensões 50 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,19 µm de espessura de filme (Varian). O gás de arraste utilizado foi hélio e a pressão interna foi de 110 kPa. As temperaturas do injetor, da coluna e do detetor eram 230 °C, 185 °C e 250 °C, respetivamente. A recolha

e o tratamento dos dados foram realizados pelo programa CP Maitre Chromatography Data System, Version 2.5 (Chrompack International B.V.).

Os resultados foram expressos em percentagem relativa de cada ácido gordo, calculado pela normalização interna da área do pico cromatográfico (ISSO 5508, 1990) e eluído entre os ésteres mirístico, linocérico e metílico. Utilizou-se uma amostra controlo (Olive oil 47118, Supelco) e uma mistura padrão de éster metílico de ácido gordo (Supelco 37 FAME Mix) para identificação e calibração (Sigma-Aldrich®, Espanha).

### **3.2.3.2. Composição em tocoferóis e tocotrienóis**

O teor de vitamina E foi obtido por determinação da composição em tocoferóis e tocotrienóis por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), segundo a norma internacional ISO 9936:2006, com algumas modificações, descritas por Amaral *et al.* (2005).

Os padrões de tocoferóis ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ ) foram obtidos à Calbiochem (La Jolla, San Diego, CA) e Sigma (Espanha), e o padrão interno de 2-metil-2-(4,8,12-trimetiltridecil) cromano-6-ol (tocól) foi obtido à Matreya Inc. (Pleasant Gap, PA).

A preparação das amostras para a análise dos tocoferóis foi igual à utilizada para os ácidos gordos, tendo sido usadas as mesmas extrações de gordura para ambas as análises, em triplicado. A partir das amostras de óleo já filtradas, pesaram-se para “ependorfs” cerca de 30 mg de gordura. Adicionaram-se 20  $\mu$ L da solução de padrão interno (PI) (tocol, 1,0 mg/10 mL, preparada em hexano) e completou-se o volume a 1 mL com hexano. Após homogeneizar a solução, os resíduos insolúveis foram depositados por centrifugação a 13000 rpm, durante 5 minutos, transferiram-se cerca de 800  $\mu$ L para um tubo de vidro do injetor automático e as amostras foram analisadas por HPLC. Todo o procedimento descrito foi realizado no escuro com tubos revestidos de folha de alumínio.

O sistema integrado de HPLC (Jasco, Japão) era constituído por uma unidade de dados LC Jasco - NetII / ADC, bomba inteligente PU-1580, uma unidade de gradiente quaternário LG-1580-04, um desgaseificador DG-1580-54 Four line, e um detetor de fluorescência FP-920 ( $\lambda_{exc} = 290$  nm e  $\lambda_{em} = 330$  nm). A separação cromatográfica foi obtida com uma coluna Supelcosil<sup>TM</sup> LC-SI (3  $\mu$ m) 75 x 3,0 mm (Supelco, Bellefonte,

PA), operando a temperatura ambiente constante (23 °C). Como eluente, foi utilizada uma mistura de n-hexano e 1,4-dioxano (97,5: 2,5), com fluxo de 0,7 mL/min. Os dados foram analisados pelo controle cromatográfico ChromNAV Center JASCO (Japão). Os compostos foram identificados por comparação cromatográfica com padrões autênticos, por co-eluição e pelo seu espectro UV. A quantificação baseou-se no método do padrão interno, usando a resposta do sinal de fluorescência.

Os resultados foram expressos em mg/100 g de óleo.

### **3.2.3.3. Composição em esteróis**

A determinação dos esteróis foi efetuada por cromatografia gasosa e detecção por ionização em chama (GC/FID), após saponificação, separação em cromatografia em camada fina e sililação, segundo a NP EN ISO 12228 (1999).

Os padrões de colestanol, colesterol, campesterol, estigmasterol,  $\beta$ -sitosterol,  $\beta$ -sitostanol e a betulina foram adquiridos à Sigma (St. Louis, MO, USA). Os reagentes de derivatização, 1-metilimidazol e N-metil-N-(trimetilsilil)-heptafluorobutiramida (MSHFBA) foram fornecidos pela Sigma e Macherey-Nagel (Düren, Germany), respetivamente. As placas de sílica e o óxido de alumínio 90 padronizado foram adquiridos à Merck (Darmstadt, Germany). Os restantes reagentes utilizados tinham grau de pureza “Pro analysis”.

A preparação das amostras para a análise dos esteróis foi igual à utilizada para os ácidos gordos e tocoferóis, tendo sido usadas as mesmas extrações de gordura para ambas as análises, em triplicado. Após a adição de 1 mL de betulina (1,0 mg/mL em acetona) como padrão interno a 500 mg de cada amostra pesadas rigorosamente, procedeu-se à saponificação das amostras com 10 mL de solução etanólica de hidróxido de potássio 0,5 M. A fração insaponificável foi obtida por extração em fase sólida com uma coluna de óxido de alumínio. Após eluição com 5 mL de etanol e 30 mL de éter etílico, procedeu-se à concentração do extrato. A fração correspondente aos esteróis totais foi isolada por cromatografia em camada fina, utilizando placas de sílica e n-hexano/éter dietílico (1:1, v/v) como eluente. As bandas separadas foram visualizadas e marcadas após aspensão com metanol, e os compostos foram extraídos (3 vezes) da sílica removida com 1 mL de álcool seguido de 5 mL de éter dietílico. O extrato foi transferido para um pequeno frasco com fundo cónico e levado à secura em corrente de

azoto. Procedeu-se em seguida à sua derivatização. Para tal adicionaram-se 100 ml da mistura de 1-metilimidazol e N-metil-N-(trimetilsilil)-heptafluorobutiramida (MSHFBA) (50 mL + 1 mL, respetivamente), selaram-se os frascos e aqueceu-se a 105°C durante 15 min. O conteúdo dos frascos foi depois analisado por GC/FID e a identificação dos compostos foi efetuada por comparação com os tempos de retenção obtidos para os padrões.

O cromatógrafo gasoso utilizado foi o mesmo que foi utilizado para determinar os ácidos gordos, com coluna capilar diferente. Para separação dos esteróis, utilizou-se uma coluna CP-Sil DB 5 MS, 30m de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno e 0,25µm de espessura de filme (J&W Scientific, Folsom, CA, USA). As condições analíticas definidas foram: temperaturas do injetor e detetor: 320°C; temperatura da coluna: programada para aumentar de 250 °C até 300 °C à velocidade de 2 °C/min, e permanecer a 300 °C durante 12 min; relação de “split”: 1:50; gás vetor: hélio, à pressão interna inicial de 100kPa; volume de injeção: 1,5 mL.

O teor em esteróis foi expresso em mg/100 g de óleo.

#### **3.2.4. Atividade antioxidante do óleo das sementes**

A atividade antioxidante do óleo das sementes dos maracujás-roxos estudados foi avaliada através da determinação da capacidade redutora total pelo método Folin-Ciocalteu, e do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH e ABTS, comumente utilizados para determinar o potencial antioxidante de matrizes alimentares. Estes dois métodos baseiam-se na avaliação da atividade anti-radicalar dos óleos (Malheiro *et al.*, 2012) e foram utilizados de modo a entender melhor a capacidade antioxidante que ambas as amostras exibem.

##### ***3.2.4.1. Capacidade redutora total do óleo***

A capacidade redutora total foi determinada pelo método Folin-Ciocalteu descrito por Capannesi *et al.* (2000), com algumas modificações.

O método de Folin-Ciocalteu foi identificado na maioria dos trabalhos consultados como a determinação, em extratos vegetais, do teor em fenóis totais. Contudo, o reagente não é específico para compostos fenólicos, podendo ser também quantificados compostos redutores ou doadores de eletrões que não sejam

necessariamente compostos fenólicos, como é o caso do ácido ascórbico, dos açúcares redutores e de aminoácidos. Torna-se então inadequado usar o termo compostos fenólicos totais, a menos que sejam removidas ou consideradas as espécies interferentes (Singleton *et al.*, 1999; Prior *et al.*, 2005). Assim, na atualidade os investigadores preferem usar os valores obtidos como “capacidade redutora total”, termo adaptado também neste trabalho.

Obteve-se uma reta de calibração a partir de uma solução mãe de ácido cafeico de 2 mg/mL, da qual foram preparadas soluções padrão que se encontravam num intervalo de concentrações de 0,04 a 0,18 mg/mL. De seguida foram colocados em tubos de 10 mL, 1 mL de cada solução padrão, 1 mL do reagente de Folin-Ciocalteu e 1 mL de uma solução de carbonato de sódio (7,5%), perfazendo-se o tubo com água destilada. A mistura foi refrigerada durante a noite ( $\approx 12$  h) e de seguida foi centrifugada e efetuadas as leituras a 725 nm.

Para determinar a capacidade redutora total, pesaram-se 2,5 g de óleo de cada amostra, que foram dissolvidos em 2,5 mL de n-hexano. Posteriormente foram extraídos três vezes por centrifugações de 5 minutos a 5000 rpm com 2,5 mL de uma mistura de 80% de metanol e 20% de água (v/v). A cada mL de extrato adicionaram-se 1 mL de reagente de Folin-Ciocalteu, 1 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7,5%) e perpez-se com água desionizada até ao volume de 10 mL. A mistura foi refrigerada durante a noite ( $\approx 12$ h), e de seguida centrifugada e lida num espectrofotómetro UV/Visível modelo Genesys™ a 725 nm.

Os resultados foram expressos em mg CAE/kg de óleo.

#### ***3.2.4.2. Determinação do efeito bloqueador de radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH<sup>\*</sup>)***

O efeito bloqueador de radicais livres DPPH é um dos mecanismos mais utilizados na avaliação da capacidade para inibir radicais livres em compostos de natureza hidrofílica e lipofílica. O DPPH é um radical livre estável, com coloração púrpura intensa e que possui um máximo de absorção característico entre os 515 e 517 nm (Oliveira *et al.* 2009). Quando estão presentes num extrato compostos antioxidantes, após aceitação de um eletrão ou de um átomo de hidrogénio torna-se uma molécula diamagnética estável, fazendo com que a sua cor diminua (de purpura para amarelo),

resultando também numa diminuição da absorvância. Assim, quanto menor a sua absorvância, maior será a sua atividade antioxidante.

A determinação do efeito bloqueador de radicais livres DPPH<sup>•</sup> foi efetuada segundo Malheiro *et al.* (2012). Primeiramente, preparou-se uma solução de acetato de etilo com a amostra de óleo (10%, m/v). Num tubo de Falcon de 15 mL devidamente vedado e coberto por papel de alumínio, foi colocado 1 mL da solução de óleo com acetato de etilo e 4 mL de uma solução contendo DPPH<sup>•</sup> ( $1 \times 10^{-4}$  M em acetato de etilo). A mistura foi agitada vigorosamente durante 10 segundos e o tubo foi mantido no escuro durante 30 min. A absorvância da mistura foi medida num espectrofotómetro UV/Visível (Genesys™) a 515 nm contra um ensaio em branco. Foi preparada também uma amostra controle para fins de cálculo. O efeito bloqueador dos radicais DPPH<sup>•</sup> foi calculado pela percentagem de descoloração do DPPH<sup>•</sup>, considerando a equação:

$$\% \text{ Efeito bloqueador} = [(A_{\text{DPPH}^{\bullet}} - A_A) / A_{\text{DPPH}^{\bullet}}] \times 100$$

em que:  $A_A$  é a absorvância da solução com extrato da amostra e  $A_{\text{DPPH}^{\bullet}}$  é a absorvância da solução de DPPH<sup>•</sup>.

#### **3.2.4.3. Determinação do efeito bloqueador do radical ABTS (ABTS<sup>•+</sup>)**

A formação do radical ABTS [2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfónico)] é a base de um dos métodos espectrofotométricos que tem sido aplicado para a medição da atividade antioxidante total das soluções de substâncias puras, misturas aquosas e bebidas. Este método permite medir a atividade antioxidante de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica. O método foi descrito por Re *et al.* (1999), com base na capacidade de uma amostra em inibir o radical ABTS (ABTS<sup>•+</sup>) em comparação com um padrão de referência antioxidante (Trolox). A reação química do ABTS com persulfato de potássio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ), permite a formação dos radicais ABTS<sup>•+</sup>.

Assim, para este método, o ABTS (7mM) foi enriquecido com  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  (140mM), deixando-se repousar no escuro à temperatura ambiente entre 12 a 16 horas. A solução foi preparada com etanol até à obtenção de uma absorvância ( $\lambda=734\text{nm}$ ) de  $0,70 \pm 0,02$ .

A reação realizou-se diretamente na cuvete de quartzo, com a adição de 2mL de ABTS<sup>•+</sup> (Branco) e de 100 $\mu\text{L}$  de amostra de óleo. Os valores de absorvância são

inversamente proporcionais à quantidade de antioxidantes presentes na amostra. As leituras foram efetuadas num espectrofotómetro UV/Visível (Genesys™).

Os resultados foram expressos em % inibição pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ Inibição ABTS}^{\bullet+} = [(A_{\text{branco}} - A_{\text{amostra}}) / A_{\text{branco}}] \times 100$$

em que:  $A_{\text{branco}}$  é a absorvância a 734 nm da solução de  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  e  $A_{\text{amostra}}$  é a absorvância a 734 nm da solução de  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  após 5 min. da adição de 100  $\mu\text{L}$  da solução da amostra.

### 3.2.5. Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo

A estabilidade do óleo à oxidação foi avaliada pelo método de condutividade (Rancimat 743, Methrom Ltd., Suíça). Este método consiste em fazer borbulhar uma corrente de ar, filtrada, limpa e seca (20 L/h) através de uma toma de amostra (3 g óleo) aquecida a  $120 \pm 1,6$  °C. Os compostos de oxidação formados ao longo do tempo, mais polares que os triglicéridos, tais como hidroperóxidos, álcoois e compostos carbonílicos, são arrastados pelo fluxo de ar e borbulham em água destilada, cuja condutividade vai incrementando continuamente. O aparelho mede esta condutividade em contínuo e o período de tempo que decorre até à formação destes produtos de oxidação que provocam o aumento da condutividade da água, traduz a maior ou menor estabilidade do óleo à oxidação e é designado por “Período de Indução”. Este é calculado pelo “software” associado ao aparelho, correspondendo ao intervalo de tempo compreendido entre o início do registo e o ponto de interceção das tangentes à curva.

### 3.2.6. Análise estatística

Para levar a cabo o estudo das sementes de maracujá-roxo provenientes do Porto e de Barcelos bem como do seu óleo, recorreu-se à análise de variâncias *one-way* ANOVA, seguida do teste *post-hoc* HSD de Tukey quando os pressupostos da normalidade e homogeneidade de variâncias se verificaram, ou com correção de Welch, no caso do requisito da homogeneidade de variâncias não ser cumprido, como descrito em Maroco (2010). Nesta situação quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste de Dunnett T3's.

### 3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.3.1. Composição centesimal das sementes

A avaliação da composição centesimal das sementes de maracujá foi feita através da determinação de vários parâmetros como o teor em humidade, proteína bruta, gordura, cinzas, hidratos de carbono e valor energético. Na Tabela 3 estão presentes os resultados obtidos para as amostras de maracujá-roxo provenientes de Barcelos e Porto.

**Tabela 3.** Composição centesimal média (g/100 g) e valor energético (kcal/100 g) das sementes de maracujá roxo provenientes de Barcelos e do Porto (média±desvio padrão).

| Amostra           | Humidade               | Proteína                | Gordura                 | Cinzas                 | Hidratos de Carbono | Valor Energético    |
|-------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|---------------------|---------------------|
| <b>Barcelos</b>   | 3,85±0,03 <sup>b</sup> | 13,22±0,47 <sup>b</sup> | 21,57±4,70 <sup>a</sup> | 1,12±0,01 <sup>a</sup> | 60,23±0,33          | 303,90 <sup>a</sup> |
| <b>Porto</b>      | 2,52±0,03 <sup>a</sup> | 10,41±1,06 <sup>a</sup> | 25,63±1,80 <sup>b</sup> | 1,31±0,02 <sup>b</sup> | 60,12±1,06          | 512,85 <sup>b</sup> |
| <b>Valor de p</b> | <0,001*                | <0,001**                | <0,001*                 | <0,001**               | 0,786**             | <0,001*             |

a-b Os valores médios apresentados em cada coluna, com letras diferentes diferem significativamente,  $p < 0,05$ .

\*Os valores de  $p$  foram obtidos a partir da análise *one-way* ANOVA após se terem verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey ( $p > 0,05$  pelo teste de Levene).

\*\*Os valores de  $p$  foram obtidos a partir da análise *one-way* Welch ANOVA, uma vez que não se verificou uma homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste de Dunnett T3's ( $p < 0,05$  pelo teste de Levene).

A fração maioritária das sementes de maracujá são os hidratos de carbono. Esta fração corresponde a 60,23 e 60,12% nas sementes de maracujá de Barcelos e Porto, respetivamente, mostrando não haver diferenças significativas ( $p = 0,786$ ) entre as duas amostras. No entanto, as amostras apresentam um teor de hidratos de relativamente elevado quando comparado a estudos anteriores para as sementes de maracujá-roxo, amarelo e 'Tainung No. 1', onde se obtiveram valores de 13,19, 26,9 e 48,73%, respetivamente (Jorge *et al.*, 2009; Lui *et al.*, 2008; Malacrida e Jorge, 2009). O elevado teor obtido neste estudo pode estar relacionado com o facto de se considerar no cálculo de hidratos de carbono as fibras enquanto os outros estudos consideram somente hidratos de carbono. Ou ainda devido a diferentes graus de maturação dos frutos, uma vez que segundo Bewley e Black (1978), as sementes tem tendência a aumentar a sua síntese bioquímica ao longo da maturação devido à produção de enzimas, e, no final do processo de maturação, ocorre a redução drástica do metabolismo, causado pela desidratação das sementes, fazendo assim com que haja um menor teor de hidratos de carbono no final do processo de maturação.



A gordura representa a segunda fração maioritária das sementes em estudo. Quanto ao seu teor, as sementes do Porto revelaram uma percentagem média considerável (25,63%), e ligeiramente superior às sementes de Barcelos (21,57%), apresentando diferenças muito significativas ( $p < 0,001$ ). Os resultados conseguidos vão ao encontro dos resultados encontrados noutros estudos para a mesma variedade de maracujá (entre 18,5 e 28,12%) (Nyanzi *et al.*, 2005; Giuffré, 2007; Jorge *et al.*, 2009). Para outras variedades como é o caso da semente do maracujá-amarelo e dos híbridos ‘Tainung No. 1’ e Kawanda, os resultados encontrados foram também semelhantes entre 20,60 e 30,90%; 23,40 e 24,5%; e 21,4%, respetivamente (Nyanzi *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2013; Lopes *et al.*, 2010; Malacrida e Jorge, 2009; Liu *et al.*, 2008; Chau e Huang, 2003). Existem fatores que podem influenciar o teor de gordura das sementes, mesmo dentro da mesma variedade ou subvariedade, como diferenças climáticas, geográficas e áreas de cultivo do maracujá (Fieser e Fieser, 1961). Outro fator que pode influenciar o teor em gordura é o período de armazenamento das sementes antes da extração do óleo, pois, segundo Romero *et al.* (1988), as sementes quando armazenadas no congelador, a quantidade de óleo extraída decresce, mantendo no entanto as suas propriedades e características.

A terceira fração maioritária das sementes é a proteína. O teor médio de proteína bruta apresentou diferenças muito significativas entre as amostras avaliadas ( $p < 0,001$ ), sendo de 13,22% na amostra de Barcelos e 10,41% na amostra do Porto. Estes valores foram semelhantes aos obtidos por outros autores. Jorge *et al.* (2009) relataram um valor médio de 12,57 g/100 g para a mesma variedade de maracujá. Já em sementes de maracujá amarelo e para o híbrido ‘Tainung No. 1’ estudadas por outros autores, os teores médios de proteína bruta variaram de 12,23 a 13,20% (Malacrida e Jorge, 2012; Oliveira *et al.*, 2013) e de 8,25 g/100 g e 10,80%, respetivamente (Liu *et al.*, 2008; Chau e Huang, 2003). Existem vários fatores que podem influenciar o teor de proteína bruta em sementes como por exemplo a adubação da planta com adubos azotados, que aumentam o azoto na planta e por consequência o teor de proteína bruta.

No presente estudo, o teor médio de humidade das sementes apresentou diferenças significativas entre amostras ( $p < 0,001$ ), sendo a percentagem da amostra de Barcelos ligeiramente mais elevada em relação à amostra do Porto (3,85 e 2,52%, respetivamente). Os resultados obtidos são inferiores aos obtidos em estudos anteriores tanto para maracujá roxo, onde se referem valores de 6,89g/100g e 10,75% (Jorge *et al.*,

2009; Kobori e Jorge, 2005; Giuffré, 2007), como para outras variedades de maracujá, como o maracujá amarelo como para sementes de maracujá híbrido ‘Tainung No. 1’, encontrando-se valores de 7,38% para as primeiras (Malacrida e Jorge, 2012) e de 6,60g/100g e 10% para as segundas (Liu *et al.*, 2008; Chau e Huang, 2004). As diferenças no teor de humidade podem estar relacionadas com o facto de noutros estudos as sementes terem sido fornecidas por fábricas de produção de sumo e aquando as análises continham ainda parte da polpa, enquanto as sementes em estudo foram totalmente limpas antes de qualquer análise. Outro fator importante pode estar relacionado com o grau de maturação do fruto e das sementes, uma vez que as sementes vão perdendo a humidade ao longo da maturação. Os fatores climáticos são também de extrema importância no que diz respeito à humidade da semente, uma vez que influencia a maturação do fruto e consequentemente a humidade.

As cinzas são fração minoritária das sementes em estudo. Na análise do seu teor, as amostras apresentaram diferenças muito significativas entre si ( $p < 0,001$ ), onde os valores médios foram de 1,12 e 1,31% (Barcelos e Porto, respetivamente). Os resultados estiveram de acordo com os valores referidos por Jorge *et al.* (2009) para a mesma variedade (1,47%). Relativamente a outras variedades foram também encontrados valores idênticos às amostras deste trabalho sendo de 1,27% em sementes de maracujá amarelo, e 1,34 e 1,46% em sementes do híbrido ‘Tainung No. 1’ (Malacrida e Jorge, 2009; Liu *et al.*, 2008; Chau e Huang, 2003).

O valor energético médio das amostras em estudo também apresentou diferenças muito significativas ( $p < 0,001$ ). Enquanto o valor energético das sementes de Barcelos foi de 303,90 kcal/100 g de peso fresco, o valor das sementes do Porto foi de 512,85 kcal/100 g de peso fresco. Esta diferença tão elevada, deve-se ao facto de as sementes do porto apresentarem maior teor de gordura em relação às sementes de Barcelos.

### **3.3.2. Composição do óleo das sementes**

#### **3.3.2.1. Ácidos gordos**

Na Tabela 4, é apresentada detalhadamente a composição em ácidos gordos, determinado para o óleo das amostras em estudo. Apresenta-se também o teor das diferentes frações que compõem os ácidos gordos, nomeadamente ácidos gordos

saturados (AGS), ácidos gordos monoinsaturados (AGM) e ácidos gordos polinsaturados (AGP).

O ácido gordo maioritário no óleo de sementes de maracujá das amostras estudadas é o ácido linoleico (C<sub>18:2</sub>), havendo diferenças muito significativas entre as duas amostras ( $p < 0,001$ ), com valores médios de 82,07 e 75,18% (Porto e Barcelos, respetivamente). Os valores médios relatados por vários autores para a mesma variedade são semelhantes variando de 68,00 a 74,30% (Ferreira *et al.*, 2011; Giuffré, 2007; Piombo *et al.*, 2006; Nyanzi *et al.*, 2005; Ferrari *et al.*, 2004; Pardauil *et al.*, 2011). Para outras variedades, como o maracujá amarelo, o teor de ácido linoleico encontrado em várias referências variou de 67,40 a 77,2%, (Nyanzi *et al.*, 2005; Malacrida e Jorge, 2009; Lopes *et al.* 2010; Assunção *et al.*, 1984) e nos híbridos ‘Tainung No. 1’ e Kawanda foi de 72,69% e 67,90%, respetivamente (Liu *et al.*, 2008; Nyanzi *et al.*, 2005) sendo também similar ao valor médio das amostras em estudo.

O segundo ácido gordo presente, em termos quantitativos, no óleo das sementes foi diferente de acordo com a proveniência, sendo na amostra de Barcelos o ácido palmítico (C<sub>16:0</sub>) juntamente com o ácido oleico (C<sub>18:1</sub>), obtendo-se percentagens médias de 7,77 e 7,62%, respetivamente, e na amostra do Porto o ácido oleico (C<sub>18:1</sub>), com uma média de 12,94%, seguindo-se o ácido palmítico (C<sub>16:0</sub>) com 8,79%. Esta diferença pode dever-se às diferenças genéticas, climáticas, geográficas e grau de maturação do fruto. No entanto, os resultados obtidos por vários autores para a mesma variedade de maracujá foram similares aos valores obtidos nas amostras em estudo variando o ácido oleico (C<sub>18:1</sub>) de 10,7 a 18,06% e o ácido palmítico (C<sub>16:0</sub>) de 8,8 a 12,8% (Ferreira *et al.*, 2011; Giuffré, 2007; Piombo *et al.*, 2006; Nyanzi *et al.*, 2005; Ferrari *et al.*, 2004; Pardauil *et al.*, 2011). Para outras variedades como é o caso do maracujá amarelo e dos híbridos ‘Tainung No. 1’ e Kawanda, foram obtidos valores ligeiramente superiores para o ácido oleico (C<sub>18:1</sub>), que variam de 13,83 e 16,90% e idênticos para o ácido palmítico (C<sub>16:0</sub>), variando de 8,00 a 11,90% (Nyanzi *et al.*, 2005; Malacrida e Jorge, 2009; Lopes *et al.*, 2010; Assunção *et al.*, 1984; Liu *et al.*, 2008).

O ácido esteárico (C<sub>18:0</sub>) foi o quarto em termos de importância, mas já em quantidades residuais, com um valor de 1,12% no óleo das sementes de Barcelos e 1,79% no do Porto. As percentagens foram similares às obtidas noutros estudos tanto para a mesma variedade como para outras variedades que variaram, respetivamente, de 1,90 a 3,00% e de 1,66 a 3,01% (Ferreira *et al.*, 2011; Giuffré, 2007; Piombo *et al.*,

2006; Nyanzi *et al.*, 2005; Ferrari *et al.*, 2004; Pardauil *et al.*, 2011; Malacrida e Jorge, 2009; Lopes *et al.*, 2010; Assunção *et al.*, 1984; Liu *et al.*, 2008).

Os restantes ácidos gordos detetados não variaram consoante as amostras e não ultrapassaram 1%, à exceção do ácido pentadecenóico (C<sub>15:1</sub>) e do ácido henicosenóico (C<sub>21:0</sub>) que não foram detetados no óleo de sementes do Porto.

**Tabela 4.** Composição em ácidos gordos (%) obtidos do óleo das sementes de maracujá-roxo de Barcelos e do Porto (média±desvio padrão).

| Nome comum                 | Ácido gordo         | Barcelos                | Porto                   | Valor de <i>p</i> |
|----------------------------|---------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------|
| Ác. Mirístico              | C <sub>14:0</sub>   | 0,03±0,01 <sup>a</sup>  | 0,06±0,01 <sup>b</sup>  | <0,001*           |
| Ác. Pentadecanóico         | C <sub>15:0</sub>   | 0,02±0,00               | 0,03±0,01               | 0,260*            |
| Ác. Pentadecenóico         | C <sub>15:1</sub>   | 0,01±0,01               | 0,00±0,01               | 0,124*            |
| Ác. Palmítico              | C <sub>16:0</sub>   | 7,77±0,57 <sup>a</sup>  | 8,78±0,06 <sup>b</sup>  | 0,008**           |
| Ác. Palmitoleico           | C <sub>16:1</sub>   | 0,24±0,03               | 0,26±0,02               | 0,282**           |
| Ác. Margárico              | C <sub>17:0</sub>   | 0,08±0,04               | 0,08±0,01               | 0,855*            |
| Ác. Heptadecenóico         | C <sub>17:1</sub>   | 0,04±0,01 <sup>b</sup>  | 0,03±0,00 <sup>a</sup>  | 0,011*            |
| Ác. Estearico              | C <sub>18:0</sub>   | 1,12±0,27 <sup>a</sup>  | 1,79±0,01 <sup>b</sup>  | <0,001**          |
| Ác. Oleico                 | C <sub>18:1c</sub>  | 7,62±1,06 <sup>a</sup>  | 12,94±0,18 <sup>b</sup> | <0,001*           |
| Ác. Linoleico <i>trans</i> | C <sub>18:2tt</sub> | 0,05±0,02 <sup>a</sup>  | 0,07±0,02 <sup>b</sup>  | <0,001*           |
| Ác. Linoleico <i>cis</i>   | C <sub>18:2cc</sub> | 82,07±1,20 <sup>a</sup> | 75,18±0,18 <sup>b</sup> | <0,001**          |
| Ác. Linolénico             | C <sub>18:3n3</sub> | 0,64±0,09 <sup>b</sup>  | 0,49±0,02 <sup>a</sup>  | <0,001**          |
| Ác. Araquídico             | C <sub>20:0</sub>   | 0,10±0,03 <sup>a</sup>  | 0,14±0,02 <sup>b</sup>  | 0,021*            |
| Ác. Eicosenóico            | C <sub>20:1n9</sub> | 0,02±0,02               | 0,01±0,01               | 0,289**           |
| Ác. Heicosenóico           | C <sub>21:0</sub>   | 0,02±0,02               | 0,00±0,00               | 0,172*            |
| Ác. Beénico                | C <sub>22:0</sub>   | 0,09±0,02               | 0,08±0,03               | 0,513*            |
| Ác. Lignocérico            | C <sub>24:0</sub>   | 0,07±0,02               | 0,07±0,02               | 0,811*            |
| <b>Total</b>               | <b>AGS</b>          | 9,30±0,11 <sup>a</sup>  | 11,02±0,02 <sup>b</sup> | 0,004**           |
|                            | <b>AGM</b>          | 7,93±0,19 <sup>a</sup>  | 13,23±0,04 <sup>b</sup> | <0,001*           |
|                            | <b>AGP</b>          | 82,76±0,04 <sup>b</sup> | 75,74±0,07 <sup>a</sup> | <0,001**          |
|                            | <b>Trans</b>        | 0,05±0,02 <sup>a</sup>  | 0,07±0,02 <sup>b</sup>  | <0,001*           |

a-c Os valores médios apresentados em cada linha, com letras diferentes diferem significativamente,  $p < 0,05$ .

\*Os valores de  $p$  foram obtidos a partir da análise *one-way* ANOVA após se terem verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey ( $p > 0,05$  pelo teste de Levene).

\*\*Os valores de  $p$  foram obtidos a partir da análise *one-way* Welch ANOVA, uma vez que não se verificou uma homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste de Dunnnett T3's ( $p < 0,05$  pelo teste de Levene).

No que diz respeito às diferentes frações que compõem os ácidos gordos, o óleo de maracujá roxo é predominantemente constituído por ácidos gordos polinsaturados

(AGP), havendo diferenças muito significativas entre ambas as amostras ( $p < 0,001$ ). Na amostra de Barcelos representam 82,76% do total dos ácidos gordos e 75,74% na amostra do Porto. Esta composição sugere possíveis problemas com a estabilidade oxidativa destes óleos, uma vez que os ácidos gordos insaturados são os principais alvos de agentes oxidantes. Giuffré (2007) e Piombo *et al.* (2006) obtiveram valores semelhantes para a mesma variedade que variaram de 72,60 a 73,80%, respetivamente. Para outras variedades, como é o caso do maracujá amarelo, Malacrida e Jorge (2009) obtiveram também um valor idêntico (73,55%). Para além do fator genética, a temperatura tem sido identificada como o fator mais importante na biossíntese de ácidos gordos polinsaturados (Nyanzi *et al.*, 2005), podendo assim serem explicadas algumas diferenças.

Quanto aos ácidos gordos monoinsaturados (AGM) a fração foi menor, havendo também diferenças muito significativas nas duas sementes estudadas ( $p < 0,001$ ), sendo de 7,93% na amostra de Barcelos e 13,23% na amostra do Porto. Outros autores obtiveram valores superiores para a mesma variedade, variando de 14,60 a 16,44% (Giuffré, 2007; Piombo *et al.*, 2006). Estas diferenças podem estar relacionadas com as razões descritas anteriormente como diferenças genéticas, climáticas e geográficas, no cultivo do maracujá e grau de maturação do fruto. Para o maracujá amarelo, Malacrida e Jorge (2009), obtiveram um valor de 14,04%, sendo também ligeiramente superior ao das amostras estudadas.

Os ácidos gordos saturados (AGS) das diferentes amostras diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ), sendo de 9,30% na amostra de Barcelos e de 11,02% na amostra do Porto. Giuffré (2007) e Piombo *et al.* (2006) obtiveram valores similares para a mesma variedade de 10,96 e 11,6%, respetivamente. Os valores foram também similares para o maracujá amarelo (12,41%) e para o híbrido ‘Tainung no. 1’ (10,26%) (Malacrida e Jorge, 2009; Liu *et al.*, 2008).

Foram também detetados vestígios de isómeros *trans* em ambas as amostras sendo o valor de 0,05% para a amostra de Barcelos e 0,07% para a amostra do Porto. Estes isómeros são resultantes da degradação da gordura, e o seu aumento envolve uma diminuição dos ácidos gordos polinsaturados (López-López *et al.*, 2011).

### 3.3.2.2. Composição em tocoferóis e tocotrienóis

A quantidade e natureza dos tocois presentes naturalmente nos óleos insaturados têm uma importância crucial para a sua estabilidade oxidativa, Os tocois são antioxidantes naturais com elevada importância nutricional, e, dependendo da sua natureza, podem diferir na sua atividade antioxidante (Rossignol-Castera e Bosque, 1994).

No presente trabalho foram determinados o teor médio de tocoferóis, tocotrienóis e teor médio total de vitamina E nas amostras, que se encontram detalhados na Tabela 5. Em ambos os óleos foram identificados três tocoferóis ( $\alpha$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ - tocoferol) e dois tocotrienóis ( $\gamma$ - e  $\delta$ -tocotrienol).

**Tabela 5.** Teor em tocoferóis, tocotrienóis e de vitamina E total (mg/100g de óleo) do óleo das sementes de maracujá-roxo provenientes de Barcelos e do Porto (média $\pm$ desvio padrão).

| Tocoferóis/Tocotrienóis | Barcelos                       | Porto                          | p-value |
|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------|
| $\alpha$ -Tocoferol     | 2,81 $\pm$ 0,18                | 2,74 $\pm$ 0,09                | 0,317*  |
| $\gamma$ -Tocoferol     | 6,50 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>   | 11,20 $\pm$ 0,83 <sup>b</sup>  | <0,001* |
| $\delta$ -Tocoferol     | 6,86 $\pm$ 0,24 <sup>a</sup>   | 9,93 $\pm$ 0,65 <sup>b</sup>   | <0,001* |
| $\gamma$ -Tocotrienol   | 33,85 $\pm$ 1,38 <sup>b</sup>  | 28,90 $\pm$ 2,09 <sup>a</sup>  | <0,001* |
| $\delta$ -Tocotrienol   | 88,56 $\pm$ 3,94 <sup>b</sup>  | 51,71 $\pm$ 3,95 <sup>a</sup>  | <0,001* |
| <b>Vitamina E total</b> | 138,57 $\pm$ 5,74 <sup>b</sup> | 104,48 $\pm$ 7,45 <sup>a</sup> | <0,001* |

a-b Os valores médios apresentados em cada linha, com letras diferentes diferem significativamente,  $p < 0,05$ .

\*Os valores de  $p$  foram obtidos a partir da análise *one-way* ANOVA após se terem verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey ( $p > 0,05$  pelo teste de Levene).

As amostras mostraram diferenças muito significativas ( $p < 0,001$ ) no teor de tocoferóis, exceto na quantidade de  $\alpha$ -tocoferol ( $p = 0,317$ ). É de notar que o  $\delta$ -tocotrienol é o isómero que prevalece em maior quantidade com 88,56 mg/100 g de óleo na amostra de Barcelos e, significativamente mais baixo, 51,71 mg/100 g de óleo, na amostra do Porto. O segundo isómero relevante é o  $\gamma$ -tocotrienol variando de 28,90 a 33,85 mg/100 g de óleo (amostra do Porto e Barcelos, respetivamente). No que toca aos tocoferóis, a amostra do Porto mostrou ter uma concentração média de  $\gamma$  -tocoferol maior do que de  $\delta$ -tocoferol (11,20 e 9,93mg/100 g de óleo, respetivamente), enquanto que na amostra de Barcelos ambos os tocoferóis apresentam valores similares (6,86 e

6,50 mg/100 g de óleo para o  $\delta$ - e  $\gamma$ -tocoferol, respectivamente). Entre os tocoferóis, o teor de  $\alpha$ -tocoferol foi o mais baixo, sendo muito próximo em ambas as amostras (2,74 mg/100 g de óleo na amostra do Porto e 2,81 mg/100 g de óleo na de Barcelos).

Piombo *et al.* (2006), já haviam estudado a concentração de tocoferóis do óleo de maracujá da mesma variedade, detetando quatro tocoferóis ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ - tocoferol), dos quais o  $\delta$ - tocoferol era o mais abundante (24,3 mg/100 g de óleo), seguindo-se o  $\gamma$ -tocoferol (21,7 mg/100 g de óleo), o  $\alpha$ -tocoferol (0,5 mg/100 g de óleo) e o  $\beta$ -tocoferol em quantidades menores que 0,1 mg/100 g de óleo. Comparativamente, nos óleos aqui em estudo as concentrações médias de  $\gamma$ - e  $\delta$ - tocoferol foram menores mas o  $\alpha$ -tocoferol estava presente em maior quantidade. Já no maracujá-amarelo, Malacrida e Jorge (2012), detetaram  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -tocoferol em concentrações de 5,40, 16,66 e 27,87 mg/100 g de óleo, respectivamente, ou seja, concentrações um pouco superiores às obtidas nos estudos de óleo de sementes de maracujá-roxo. Nas diferenças entre variedades é de notar principalmente a presença de  $\beta$ -tocoferol no óleo de sementes de maracujá-amarelo e na prática ausência no maracujá-roxo.

A vitamina E total mostrou estar em maior concentração na amostra de Barcelos, 138,57 mg/100 g de óleo. Na do Porto, a concentração média encontrada foi de 104,48 mg/100 g de óleo. A vitamina E é importante na saúde humana, visto que atua no desenvolvimento do sistema nervoso em crianças, bem como na prevenção da hemólise em seres humanos (Sokol, 1996). Além disso a ocorrência de aterosclerose é mais elevada quando existe uma baixa ingestão desta vitamina (Rimm *et al.*, 1993).

Comparativamente com outro tipo de frutas, a quantidade de vitamina E presente nas amostras em estudo é bastante próxima à quantidade presente em sementes de amora preta (142 mg/100 g) (Adhikari, *et al.*, 2008).

### **3.3.2.3. Composição em esteróis**

O teor total em esteróis bem como os esteróis individuais presentes no óleo de sementes de maracujá-roxo diferiu significativamente ( $p < 0,001$ ) nas amostras estudadas (Tabela 6). O  $\beta$ -sitosterol foi o esterol presente em maior quantidade com 47,50 e 55,62% nas amostras de Barcelos e do Porto, respectivamente. O segundo esterol maioritário foi um esterol não identificado, estando presente em maior quantidade na amostra de Barcelos (28,60%) e em menor quantidade no óleo das sementes do Porto

(22,32%), seguido do campesterol, também em maior quantidade na amostra de Barcelos (10,26 %) e menor na do Porto (6,56%).

A amostra de Barcelos apresentou maior quantidade de esteróis totais, com um teor de 636,32%. A amostra do Porto apresentou 374,55%.

Os esteróis, em especial o  $\beta$ -Sitosterol, já demonstraram exercer efeitos protetores contra as doenças cardiovasculares, bem como contra muitos tipos de cancro, vários autores afirmam que o  $\beta$ -sitosterol pode proteger contra o *stress* oxidativo através da modulação de enzimas antioxidantes, sendo que estas moléculas poderiam ser utilizadas contra as células de envelhecimento da pele (Awad *et al.*, 2004; Vivancos e Mopeno, 2005). A quantidade significativa de esteróis, em especial do  $\beta$ -sitosterol, mostra o benefício deste óleo para saúde humana, bem como a sua potencial utilização em indústrias de cosmética.

**Tabela 6.** Esteróis totais (mg/100 g óleo) e esteróis principais (% do total de esteróis) do óleo das sementes de maracujá-roxo provenientes de Barcelos e do Porto (média $\pm$ desvio padrão).

| Esteróis principais      | Barcelos                                       | Porto  | Valor de <i>p</i> |
|--------------------------|--|--|-------------------|
| Campesterol              | 10,26 $\pm$ 0,57 <sup>b</sup>                  | 6,56 $\pm$ 0,26 <sup>a</sup>                   | <0,001*           |
| Não identificado         | 28,60 $\pm$ 2,11 <sup>b</sup>                  | 22,32 $\pm$ 0,24 <sup>a</sup>                  | <0,001*           |
| $\beta$ -Sitosterol      | 47,50 $\pm$ 3,26 <sup>a</sup>                  | 55,62 $\pm$ 2,64 <sup>b</sup>                  | <0,001*           |
| <b>Total de esteróis</b> | <b>636,32<math>\pm</math>44,32<sup>b</sup></b> | <b>374,55<math>\pm</math>23,81<sup>a</sup></b> | <b>&lt;0,001*</b> |

a-b Os valores médios apresentados em cada linha, com letras diferentes diferem significativamente,  $p < 0,05$ .

\*Os valores de *p* foram obtidos a partir da análise *one-way* ANOVA após se terem verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey ( $p > 0,05$  pelo teste de Levene).

Piombo *et al.* (2006) estudaram as sementes de maracujá-amarelo, encontrando 209 mg de esteróis totais/100g de óleo, onde foram detetados o  $\beta$ -sitosterol (41,5% do total de esteróis), o estigmasterol (41,7% do total de esteróis), o campesterol (13,5% do total de esteróis) e o  $\delta$ -5 avenasterol (3,3% do total de esteróis). Giuffré (2007) investigou também a composição de esteróis no óleo de maracujá-roxo, onde os três principais esteróis encontrados foram  $\beta$ -sitosterol (42,51% do total de esteróis), estigmasterol (30,87% do total de esteróis) e campesterol (11,14% do total de esteróis).

Os resultados do presente estudo foram ao encontro dos valores anteriores em termos de prevalência de esteróis, exceto em relação ao segundo esterol maioritário, que nas nossas amostras não se confirmou ser o estigmasterol como nos estudos referidos.

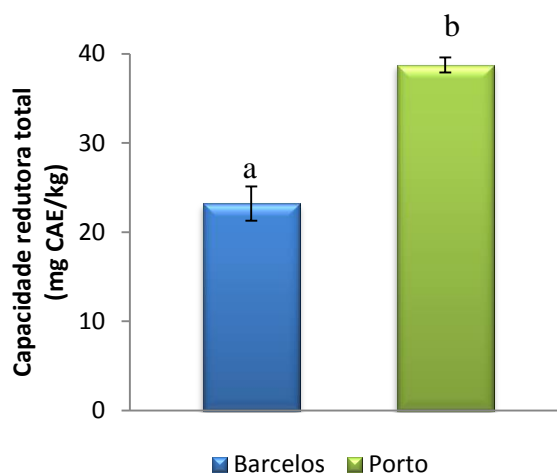


Quantitativamente, as amostras em estudo apresentaram, em geral, maior teor de esteróis individuais em relação aos dois estudos referidos, no entanto, a percentagem de campesterol foi um pouco inferior.

### 3.3.3. Atividade antioxidante do óleo das sementes

#### 3.3.3.1. Capacidade redutora total do óleo

O teor da capacidade redutora total do óleo de maracujá-roxo das amostras estudadas encontra-se na Figura 4. As amostras apresentaram diferenças muito significativas ( $p < 0,001$ ) A amostra do Porto mostrou ter maior teor em relação à amostra de Barcelos sendo, respetivamente de 38,74 e de 23,20 mg CAE/kg.



**Figura 4.** Teor da capacidade redutora total das sementes de maracujá-roxo provenientes de Barcelos e do Porto. <sup>a-b</sup> Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

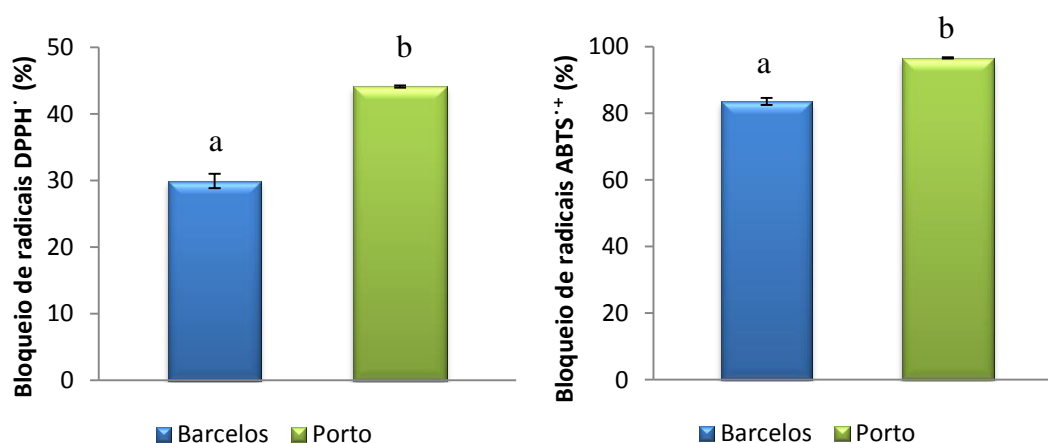
No óleo de sementes de maracujá-amarelo, Malacrida e Jorge (2012), observaram uma capacidade redutora total de 1314,13 mg GAE/kg de óleo, que equivale aproximadamente a 1441,28mg CAE/kg, sendo muito superior ao teor obtido no presente estudo. A capacidade redutora dos extratos de sementes e polpas podem variar mesmo dentro da mesma espécie. Algumas diferenças podem estar relacionadas com diversos fatores como a variedade, grau de maturação, época do ano, modo de cultivo, tipo de solo, clima, fatores genéticos e o modo de processamento industrial (Martínez *et al.*, 2012; Campbell e Padilla-Zakour, 2013).

### 3.3.3.2. Efeito bloqueador de radicais livres DPPH e ABTS do óleo

A Figura 5A e 5B apresentam o efeito bloqueador de radicais livres de DPPH e ABTS, respetivamente, determinados para as amostras de óleo de sementes do Porto e de Barcelos, expresso em percentagem.

A diferença entre as amostras foi muito significativa ( $p < 0,001$ ) em ambos os métodos. A amostra do Porto apresentou 44,1%, de inibição do radical DPPH, sendo superior à percentagem de inibição da amostra de Barcelos (29,94%). Os resultados indicam que o óleo de maracujá-roxo tem uma capacidade para inibir os radicais livres de DPPH intermédia, não chegando a atingir os 50%.

Para o maracujá-amarelo, Malacrida e Jorge (2012), reportaram 48,0% de efeito bloqueador de radicais DPPH, valor um pouco acima do da amostra de Barcelos mas na mesma ordem de grandeza da amostra proveniente do Porto. Estes autores referiram ainda que o valor da concentração efetiva onde se observa 50% de inibição de radicais livres de DPPH ( $EC_{50}$ ) que obtiveram, era inferior ao obtido nos óleos de noz, amêndoa, avelã, amendoim e pistacho (Arranz *et al.*, 2008), no entanto foi similar ao óleo de arroz e menor em comparação ao valor no óleo de soja, girassol, milho e de uva (Siger *et al.*, 2008). Ferreira *et al.* (2011), relatou um valor de  $EC_{50}$  de 16,84 mg/mL no efeito sequestrador de radicais DPPH em óleo de sementes de maracujá-roxo extraído em Soxhlet, atribuindo o alto valor à perda de compostos antioxidantes naturais com o aquecimento, uma vez que conseguiram um valor mais baixo (5,74 mg/mL) num óleo comercial refinado de maracujá.



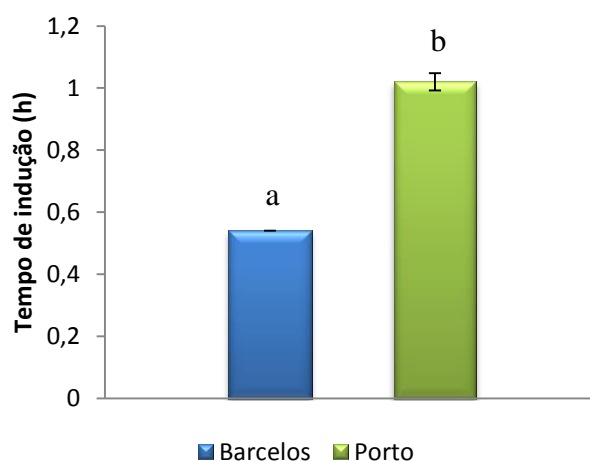
**Figura 5.** Valores para efeito bloqueador de radicais DPPH<sup>•</sup> (A) e de radicais ABTS<sup>•+</sup> (B) do óleo das sementes de maracujá-roxo provenientes de Barcelos e do Porto. <sup>a-b</sup> Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

Relativamente à capacidade das amostras inibirem o radical  $ABTS^{*+}$  (Figura 5B), verificou-se que apresentaram um comportamento idêntico ao do DPPH<sup>\*</sup>, onde a amostra do Porto apresentou maior percentagem de inibição (96,59%) do que a de Barcelos (83,51%). No entanto, a percentagem de inibição do radical  $ABTS^{*+}$  foi claramente superior à percentagem de inibição de radicais DPPH, mostrando que as amostras apresentam elevada capacidade bloqueadora de radicais  $ABTS^{*+}$  (Figura 5B).

### 3.3.4. Estabilidade oxidativa do óleo

A avaliação da estabilidade oxidativa de óleos comestíveis é um parâmetro de elevada importância, uma vez nos indica a sua suscetibilidade à oxidação e, pode assim dar uma noção do seu tempo de prateleira.

Os resultados obtidos para as amostras de óleo de sementes de maracujá-roxo aqui estudadas encontram-se na Figura 6.



**Figura 6.** Valores médios de estabilidade oxidativa (horas) do óleo das sementes de maracujá-roxo provenientes de Barcelos e do Porto. <sup>a-b</sup> Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

As amostras apresentaram diferenças muito significativas ( $p < 0,001$ ). Observou-se que a amostra do Porto (1,02h) apresentou um tempo de indução bastante superior à amostra de Barcelos (0,54h), sendo por isso mais estável. Isto vem ao encontro dos resultados obtidos na determinação da atividade antioxidante visto que também o óleo de sementes do Porto apresentou melhor potencial antioxidante. Assim, a possível maior presença, neste óleo, de compostos com esta atividade aumenta ligeiramente a sua

proteção contra processos de auto-oxidação dos seus lípidos, retardando o aparecimento dos hidroperóxidos e de compostos carbonílicos odoríficos (aldeído, cetonas) e ácidos que condicionam o valor organolético dos óleos e limitam, conseqüentemente, a sua validade. Parte destes resultados poderão estar correlacionados com o teor em compostos fenólicos totais (capacidade redutora total), uma vez que estes compostos exibem um elevado potencial antioxidante, elevando assim a estabilidade oxidativa em óleos de sementes provenientes do Porto.

Já anteriormente se havia constatado que ambas as amostras são ricas em ácidos gordos polinsaturados (AGP), havendo diferenças muito significativas entre ambas as amostras ( $p < 0,001$ ); na amostra de Barcelos representam 82,76% do total dos ácidos gordos e 75,74% na amostra do Porto. Esta pode ser também uma das causas do tempo de indução ser superior na amostra do Porto. Tal facto acresce à menor estabilidade dos óleos provenientes de sementes de Barcelos, visto que os AGP são muito suscetíveis a processos oxidativos.

Adicionalmente, a sua baixa proporção em tocoferóis relativamente a outros óleos vegetais, aliado ao facto do sistema de extração de óleo com um solvente reduzir a transferência da fração polar das amostras para o óleo, vem ao encontro dos resultados obtidos na estabilidade oxidativa, com um tempo de indução pequeno.

Outros autores que determinaram a estabilidade oxidativa para a mesma variedade de maracujá, obtiveram valores superiores variando de 2,46 a 2,68 h (Giuffré, 2007; Pardauil *et al.*, 2011). Esta diferença pode ter acontecido devido a estes autores terem obtido um teor de ácidos gordos polinsaturados inferior ao das amostras em estudo. Por outro lado, pode dever-se a temperaturas de determinação da estabilidade oxidativa diferentes uma vez que Pardauil *et al.* (2011) determinaram a estabilidade oxidativa a uma temperatura de 100°C, ou ainda devido ao fluxo de ar do Rancimat diferente, pois Giuffré (2007) determinou a estabilidade do óleo com um fluxo de ar de 10L/h, valores inferiores aos utilizados no presente estudo e que conferem com toda a certeza valores de resistência à oxidação superiores.

Malacrida e Jorge (2012) fizeram o mesmo estudo para o maracujá-amarelo onde conseguiram 7,89 h de estabilidade, mostrando-se um óleo mais estável que o do maracujá-roxo.

### 3.4. CONCLUSÃO

O estudo de sementes de maracujá-roxo proveniente de Portugal, mostra que estas sementes são essencialmente constituídas por hidratos de carbono, gordura e proteína. A fração lipídica representa cerca de 23% da semente e apresenta uma percentagem elevada de ácidos gordos polinsaturados. Ainda relativamente aos ácidos gordos, o ácido linoleico (C<sub>18:2</sub>), o ácido oleico (C<sub>18:1</sub>) e o ácido palmítico (C<sub>16:0</sub>) prevalecem, sendo por isso uma boa fonte de ácidos gordos essenciais. O óleo apresenta uma razoável quantidade em esteróis e vitamina E. Este óleo apresenta ainda uma considerável atividade anti-radicalar, mas baixa capacidade redutora total. O elevado teor de ácidos gordos polinsaturados condicionou a estabilidade do óleo, sendo necessárias avaliações futuras para avaliar os fatores com influência neste parâmetro.

Assim, o óleo das sementes de maracujá-roxo provenientes de Portugal pode ter diferentes finalidades, desde a indústria alimentar até a aplicações na saúde.

Futuramente, seria interessante avaliar outras características e componentes do óleo como sejam os compostos fenólicos individuais e os carotenóides, entre outros parâmetros, para um conhecimento mais aprofundado acerca do óleo de sementes de maracujá proveniente de Portugal.

### 3.5. BIBLIOGRAFIA

- Adhikari, P., Hwang, K. T., Shin, M. K., Lee, B. K., Kim, S. K., Kim, S. Y., Lee, K.-T., Kim, S. Z. (2008). Tocols in caneberry seed oils. *Food Chemistry*, **111**: 687–690.
- Alonso, L., Fraga, M. J., Juarez, M. (2000). Determination of trans fatty acids and fatty acid profile in margarines marketed in Spain. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **77**: 131–136.
- Amaral, J. S., Casal, S., Oliveira, M. B., Seabra, R. M. (2005) Development and evaluation of a normal phase liquid chromatographic method for the determination of tocopherols and tocotrienols in walnuts. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, **28**: 785–795.
- Assunção, F. P., Bentes, M. H. S., Serruya, H. (1984). A comparison of the stability of oils from Brazil nut, Pará rubber and passion fruit seeds. *Journal of the American Oil Chemistry Society*, Champaign, **61**: 1031-1036.
- AOAC (1995). Official Methods of Analysis, 16th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Arlington, VA.
- AOAC (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th ed.; Horwitz, W., Ed.; AOAC: Arlington, VA, Vol. II (1-3).
- Arranz, S., Cert, R., Pérez-Jiménez, J., Cert, A., Saura-Calixto, F. (2008). Comparison between free radical scavenging capacity and oxidative stability of nut oils. *Food Chemistry*, **110**: 985-90
- Awad, A. B., Downie, A., Fink, C. S., Kim, U. (2000). Dietary phytosterols inhibits the growth and metastasis of MDA-MB-231 human breast cancer cells grown in SCID mice. *Anticancer Research*, **20**: 821–824.
- Awad, A., Toczek, J., Fink, C. S. (2004). Phytosterols decrease prostaglandin release in cultured P338D1/MAB macrophages. *Prostaglandins, Leukotrienes and essential Fatty Acids*, **70**: 511-20.
- Bewley, J. D., Black, A.M. (1978). Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. *New York: Springer-Verlag*, **1**: 306.
- Campbell, O. E., Padilla-Zakour, O. I. (2013). Phenolic and carotenoid composition of canned peaches (*Prunus persica*) and apricots (*Prunus armeniaca*) as affected by variety and peeling. *Food Research International*, **54**: 448-455.
- Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M. (2000). Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils, *Food Chemistry*, **71**: 553-562.
- Chau, C. F., Huang, Y. L. (2004). Characterization of passion fruit seed fibres - a potential fibre source. *Food Chemistry*, **85**: 189-194.
- Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Lognay, G., Blecker, C., Deroanne, G., Attia, H. (2008). Sterol composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) and Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) seed oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, **21**: 162–168.
- de Jong, A., Plat, J., Mensink, R. P., (2003). Metabolic effects of plant sterols. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **14**: 362–369.

- Drużyńska, B., Strzecha, I., Wołosiak, R., & Worobiej, E. (2008). Zawartość wybranych związków biologicznie aktywnych w ekstraktach z suszonych moreli oraz ich właściwości przeciwutleniające. (The contents of selected biologically active compounds in the extracts of the dried apricots and their antioxidant properties). *Żywność Nauka Technologia Jakość*, **6**: 77-87.
- Ferreira, B. S., Almeida, C. G., Faza, L. P., Almeida, A., Diniz, C. G., Silva, V. L., Grazul, R. M., Hyaric, M. (2011). Comparative properties of amazonian oils obtained by different extraction methods. *Molecules*, **16**: 5874-5885.
- Ferrari, R. A., Colussi, F., Ayub, R. A. (2004). Characterization of by-products of passion fruit industrialization utilization of seeds. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **26**: 101-2.
- Fieser, L. F., Fieser, M. Advanced organic chemistry. New York: Van Nostrand Reinhold, 1961 (981-1013).
- Giuffré, A. M. (2007). Chemical composition of purple passion fruit (*Passiflora edulis Sims edulis*) seed oil, *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, **84**: 87-93.
- ISO 5508 (1990). Animal and vegetable fats and oils. Analysis by gas chromatography of methyl esters of fatty acids.
- ISO 5509 (2000). Animal and vegetable fats and oils – Preparation of methyl esters of fatty acids.
- ISO 9936 (2006). Animal and vegetable fats and oils – Determination of tocopherol and tocotrienol contents by high-performance liquid chromatography.
- Jorge, N., Malacrida, C. R., Angelo, P. M., Andreo, D. (2009). Composição centesimal e atividade antioxidante do extrato de sementes de maracujá (*Passiflora edulis*) em óleo de soja. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, **39**: 380-385.
- Kastorini, C. M., Milionis, H. J., Goudevenos, J.A., Panagiotakos, D. B. (2010). Mediterranean diet and coronary heart disease: Is obesity a link? - A systematic review. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, **20**: 536-551.
- Kritchevsky, D., Shirley, C. C. (2005). Phytosterols—health benefits and potential concerns: a review. *Nutrition Research*, **25**: 413-428.
- Kobori, C. N., Jorge, N. (2005). Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. *Ciência e Agrotecnologia*, **29**: 1008-1014.
- Lanza, B., Di Serio, M. G., Iannucci, E., Russi, F., Marfisi, P. (2010). Nutritional, textural and sensorial characterization of Italian table olives (*Olea europaea* L. cv. 'Intosso d'Abruzzo'). *International Journal of Food Science & Technology*, **45**: 67– 74.
- Li, T. S. C., Beveridge, T. H. J., Drover, J. C. G. (2007). Phytosterol content of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil: extraction and identification. *Food Chemistry*, **101**: 1633–1639.
- Liu, S., Yang, F., Li, J., Zhang, C., Ji, H., Hong, P. (2008). Physical and chemical analysis of *Passiflora* seeds and seed oil from China. *International Journal of Food Sciences Nutrition*, **59**: 706-715.

- Lopes, R. M., Sevilha, A. C., Faleiro, F. G., Silva, D. B., Vieira, R. F., Agostini-Costa, T. da S. (2010). Estudo comparativo do perfil de ácidos graxos em sementes de *Passifloras* nativas do cerrado brasileiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **32**: 498-506.
- López-López, A., Cuortés-Delgado, A., Garrido-Fernández, A. (2011). Chemometric characterisation of the fats released during the conditioning processes of table olives. *Food Chemistry*, **126**: 1620-1628.
- Nawirska-Olszańska, A., Kita, A., Biesiada, A., Sokół-Łętowska, A., Kucharska, A. Z. (2013). Characteristics of antioxidant activity and composition of pumpkin seed oils in 12 Cultivars. *Food Chemistry*, **139**: 155–161.
- Malacrida, C. R., Jorge, N. (2012) Yellow Passion Fruit Seed Oil (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*): Physical and Chemical Characteristics. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **55**: 127-134.
- Malheiro, R., Casal, S., Lamas, H., Bento, A., Pereira, J.A. (2012). Can tea extracts protect extra virgin olive oil from oxidation during microwave heating? *Food Research International*, **48**: 148–154.
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez-Álvarez, J. A., Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry*, **135**: 1520-6.
- McLennan, P. L. (1993). Relative effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on cardiac arrhythmias in rats. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **57**: 207-212.
- Nyanzi, S. A., Carstensen, B., Schwack W. (2005). A comparative study of fatty acid profiles of *Passiflora* seed oils from Uganda., *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **82**: 41-44.
- NP EN ISO 12228 de 1999 – Óleos e gorduras de origem animal e vegetal – Determinação dos teores totais e individuais de esteróis. Método por cromatografia gasosa; termo de homologação nº92/2001, de 29-03-2001; Instituto Português da Qualidade.
- Oliva, P. B., Menezes, H. C., Ferreira, V. L. P. (1996). Estudo da estabilidade do néctar de acerola. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **16**: 228-223.
- Oliveira, L. F., Nascimento, M. R. F., Borges, S.V., Ribeiro, P. C. N., Ruback, V. R. (2002). Aproveitamento alternativo da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) para produção de doce em calda. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **3**: 259-262.
- Oliveira, R. C., Barros, S. T. D., Gimenes, M. L. (2013). The extraction of passion fruit oil with green solvents. *Journal of Food Engineering*, **117**: 458-463.
- Ostlund Jr., R. E. (2004). Phytosterols and cholesterol metabolism. *Current Opinion in Lipidology*, **15**: 37–41.
- Pardauil, J. J. R., Souza L. K. C., Molfetta F. A., Zamian J. R., Filho G. N. R., da Costa C. E. F. (2011). Determination of the oxidative stability by DSC of vegetable oils from the Amazonian area. *Bioresource Technology*, **102**: 5873 – 5877.



- Prior, R.L., Wu, X.L., Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **53**: 4290–4302.
- Pritchard J. L. R. (1991). Em: Rossel, J. B., Pritchard, J. I. R.. Analysis of oil seeds, fats and fatty foods. Oxford: Elsevier Science, 1991 (305-308).
- Piombo, G., Barouh, N., Barea, B., Boulanger, R., Brat, P., Pina, M., Villeneuve, P. (2006). Characterization of the seed oils from kiwi (*Actinidia chinensis*), passion fruit (*Passiflora eulis*) and guava (*Psidium guajava*). *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, **13**: 195-199.
- Regulamento (CEE) N° 2568/91 da Comissão de 11 de Julho de 1991, relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como aos métodos de análise relacionados.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, **26**: 1231–1237.
- Rimm, E. B., Stampfer, M. J., Aschero, A., Giovannucci, E., Golditz, G. A., Willet, W. C. (1993). Vitamine E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *The New England Journal of Medicine*, **328**: 450–1456.
- Romero, F., Doblado, J., Cota, J. (1988). Characterization of bitter orange (*Citrus aurantium* L.) seed oil. *Grasas y Aceites*, **39**: 353-358.
- Rossignol-Castera, A., Bosque, F. (1994). Nouvelle approche des anti-oxydants - A new approach to anti-oxidants, *Oléagineux, corps gras, lipids*, **1**: 131-143.
- Schmidt, S., Pokorný, J. (2005). Potential application of oilseeds as source of antioxidants for food lipids – a review. *Czech Journal of Food Sciences*, **23**: 93-102.
- Siger A, Nogala-Kalucka M, Lampart-Szczapa E. (2008) The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. *Journal of Food Lipids*, **15**: 137-49.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Análise de fenóis e outros substratos de oxidação e antioxidantes, por meio de reagente de Folin-Ciocalteu. *Methods Enzymol*, **299**, 152 -178.
- Sokol, R. J.. Em: Ziegler, E. E., Filer, L. J.. Present knowledge in nutrition. Washington, DC: ILSI Press., 1996 (130–136).
- Stein, W. I., Slabauch, P. G. e Plumer, A. P. Em: Seeds of woody plants in the United States. Washington, Department of Agriculture, 1974 (98-125).
- Stuchlík, M., Žák, S. (2002). Vegetable lipids as components of functional foods. *Biomedical Papers*, **146**: 3–10.
- Vivancos, M., Mopeno, J. J. (2005).  $\beta$ -sitosterol modulates antioxydant enzyme response in RAW 264. 7 macrophages. *Free Radialc Biology Medicine*, **39**: 91-97.
- Wassell, P., Young, N. W. G. (2007). Food applications of trans fatty acid substitutes. *International Journal of Food Science and Technology*, **42**: 503–517.





## *CAPÍTULO 4*

Atividade biológica de  
diferentes partes de  
*Passiflora edulis* Sims  
*edulis*





Para além dos antioxidantes naturais, os géneros alimentícios apresentam, frequentemente, antioxidantes sintéticos. Estes, utilizam-se como aditivos alimentares para preservar e estabilizar a frescura, o valor nutritivo, sabor e cor dos alimentos (de Oliveira *et al.*, 2009). Alguns antioxidantes sintéticos como o BHA (hidroxianisol butilado), o BHT (hidroxitolueno butilado) e o TBHQ (butilhidroquinona terciário) são usados para o processamento industrial e são considerados muito eficazes; no entanto, têm sido gradualmente restringidos devido às suspeitas sobre a sua toxicidade e efeitos carcinogénicos nos humanos (Prasad *et al.*, 2009; Sazaki *et al.*, 2002; Anagnostopoulou *et al.*, 2006).

Assim, começa a haver uma procura cada vez maior de fontes de antioxidantes não-tóxicos de origem naturais para incorporar em preparações alimentares com o intuito de proteger o organismo humano de radicais livres, retardando o aparecimento de diversas doenças crónicas, assim como para proteger os alimentos, substituindo os antioxidantes sintéticos. Numerosos estudos têm mostrado que os produtos de origem vegetal, especialmente frutas e hortícolas, são ricos em compostos antioxidantes como vitaminas A, C e E, carotenoides, minerais, flavonoides e outros compostos fenólicos (Boots *et al.*, 2008; Valko *et al.* 2006; Bianchi e Antunes, 1999). Este grupo de alimentos tornaram-se assim importantes na nutrição humana e nas indústrias alimentar e farmacêutica.

As propriedades antioxidantes do maracujá foram já alvo de estudo por parte de alguns investigadores, os quais encontraram forte atividade antioxidante nas flores (Masteikova, 2008), na casca (Zeraik *et al.*, 2012), nas folhas (Sunitha e Devaki, 2009; Rudnicki *et al.*, 2007; da Silva *et al.*, 2013), na polpa (de Oliveira *et al.* 2009) e nas sementes (Jorge *et al.*, 2009), atribuídas em grande parte à quantidade de compostos fenólicos presentes nas várias partes do fruto. O maracujá pode assim constituir uma fonte natural alternativa de antioxidantes, para além de, como alimento ou ingrediente alimentar, contribuir para a proteção face ao *stress* oxidativo. Uma vantagem adicional na utilização deste fruto como fonte de antioxidantes naturais será a diminuição dos constrangimentos ambientais que resultam da acumulação de sementes e cascas visto que este fruto é muito utilizado na indústria alimentar na produção de sumo, polpas enlatadas, geleias, entre outros (de Oliveira *et al.*, 2009).

Os compostos responsáveis pela atividade antioxidante de alimentos vegetais, como a vitamina C, os tocoferóis, os carotenóides e os compostos fenólicos (sendo estes

os principais responsáveis) atuam através de mecanismos diferentes como, por exemplo, inibindo radicais livres e inibindo a peroxidação lipídica ou então atuando como agentes quelantes de metais e singuletos de oxigênio. Por isso, é necessário mais do que um método para determinar a atividade antioxidante de um produto vegetal (Javanmardi *et al.*, 2003; Pizzale *et al.* 2002). Mesmo que uma amostra exiba elevada quantidade de antioxidantes através de um método, não quer dizer que através de outro método diferente se obtenha a mesma capacidade, podendo esta ser menor (Arabshahi-Delouee e Urooj, 2007). Esta atividade está também dependente das condições de extração da amostra como, por exemplo, da polaridade do solvente, o qual poderá aumentar a solubilidade dos compostos antioxidantes, dependendo da respectiva polaridade (Allothman *et al.*, 2009).

Desta forma, no presente capítulo, o objetivo foi avaliar a capacidade antioxidante de diferentes partes de maracujá-roxo (*Passiflora edulis Sims edulis*): sementes, polpa, casca, flores e folhas. Para tal, determinou-se a capacidade redutora total, o efeito bloqueador de radicais livres de DPPH e o poder redutor em extratos obtidos pela utilização de três solventes de extração com polaridades diferentes (acetona, etanol e metanol). A atividade antioxidante em cada parte da planta estudada, foi determinada no extrato obtido com o solvente mais adequado.

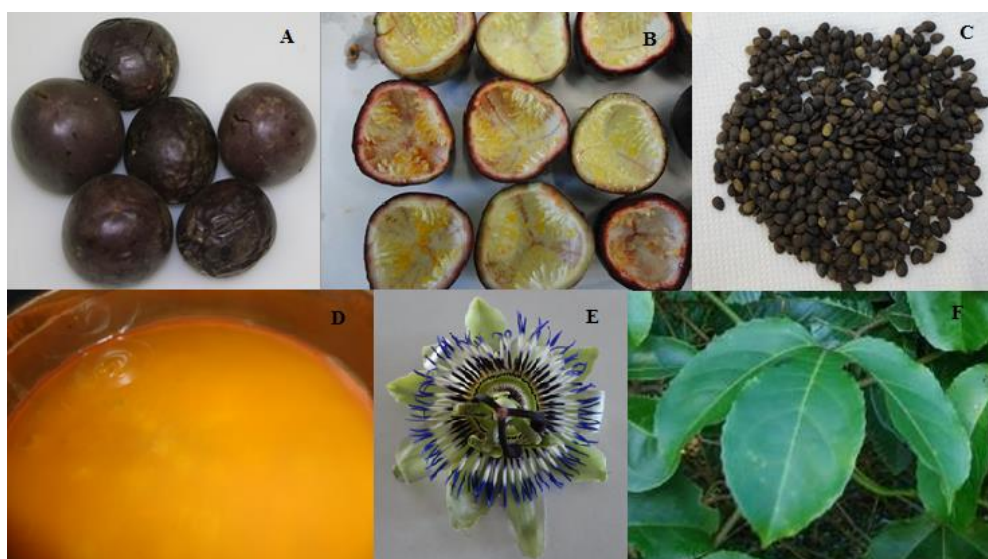
## 4.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1. Padrões e reagentes

Os reagentes e padrões acetona, etanol, metanol, 2-2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH), ácido gálico e cloreto de ferro (II) foram adquiridos à Sigma (St. Louis, MO, EUA). O di-hidrogenofosfato de sódio hidratado, o hexacianoferrato de potássio (III), o ácido tricloroacético, e o reagente de Folin-Ciocalteu foram obtidos da Merck (Darmstadt, Alemanha). O ácido clorídrico, o carbonato de sódio anidro, e o hidrogenofosfato dissódico desidratado foram obtidos à Panreac (Barcelona, Espanha).

### 4.2.2. Amostras

Foram colhidos maracujás roxos, folhas e flores do mesmo maracujazeiro em Barcelos, no ano de 2011 (Figura 8). Em laboratório, os maracujás foram cuidadosamente separados em casca, polpa e sementes e estas diferentes partes foram imediatamente congeladas a -21 °C até à sua utilização.



Ana Alves, 2011

**Figura 8.** Partes do maracujá-roxo estudadas: **A** - Frutos inteiros; **B** - Cascas dos frutos; **C** - Sementes; **D** - Polpa; **E** - Flor; **F** – Folha.

No capítulo anterior ficou evidenciado que o óleo de sementes originárias do Porto, apresentava maior atividade antioxidante nas condições de extração ensaiadas. Por isso, foram estas sementes que foram utilizadas para fazer os estudos de seleção do



solvente mais apropriado na obtenção de extratos para posterior determinação da atividade antioxidante.

#### **4.2.3. Preparação dos extratos**

Imediatamente antes da utilização as amostras foram liofilizadas e posteriormente trituradas de modo a reduzi-las a um pó fino. Numa balança eletrónica modelo Acculab ALC-210.4, foram pesadas tomas de aproximadamente 1,5g da amostra em pó, as quais foram extraídas sob três condições diferentes, conforme Oliveira *et al.* (2009), com algumas alterações, como se descreve em seguida:

Foram testados três solventes diferentes – acetona, etanol (96%) e metanol. Cada parte do fruto foi extraída, por triplicado, em 45 mL do solvente à temperatura ambiente e sob agitação a 350 rotações por minuto durante 60 minutos. As amostras foram depois filtradas através de papel de filtro Whatman Nº. 4. De seguida, cada solvente foi evaporado a vácuo (evaporador rotativo Buchi R-210) e, após o extrato ter sido levado à secura numa estufa à temperatura de 40±5 °C, foi dissolvido no solvente respetivo de modo a obter uma concentração de 50 mg/mL. A partir da solução obtida prepararam-se soluções com diferentes concentrações.

#### **4.2.4. Rendimento de extração**

O rendimento de extração das amostras foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ rendimento} = \frac{\text{Pf} - \text{Pi}}{\text{Toma de amostra}} \times 100$$

Sendo:

Pf= Peso final do balão volumétrico com o extrato após ter sido levado à secura

Pi= Peso do balão

#### **4.2.5. Atividade antioxidante**

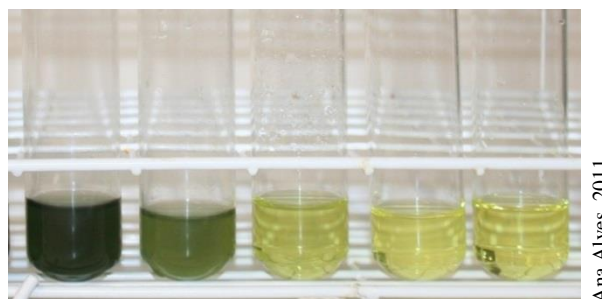
A atividade antioxidante das diversas amostras, foi obtida por diferentes métodos químicos: avaliação do poder redutor, avaliação do efeito bloqueador de

radicais livres de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) e determinação da capacidade redutora total pelo método Folin-Ciocalteu.

#### **4.2.5.1. Determinação da capacidade redutora total**

Esta determinação baseou-se na estimativa da capacidade redutora total por método colorimétrico, de acordo com a metodologia descrita por Singleton e Rossi (1965). Assim, foi misturado 1mL de várias concentrações de extrato de cada amostra com 1mL do reagente de Folin Ciocalteu. A mistura reagiu durante aproximadamente 3 minutos. Posteriormente adicionou-se 1mL da solução saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  e 7 mL de água destilada. A solução reagiu no escuro durante 90 minutos após o que foi lida imediatamente a respetiva absorvância num espectrofotómetro de ultravioleta e visível (Genesys™ 10 UV) a 725 nm.

A reta de calibração foi obtida utilizando ácido gálico como padrão (0,294–1,47 mM;  $y = 1,0112x - 0,2737$ ;  $R^2=0,9993$ ). Os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de extrato (mg GAE/g extrato).



**Figura 9.** Exemplo de uma análise da capacidade redutora total numa amostra a várias concentrações de extrato.

#### **4.2.5.2. Determinação do efeito bloqueador de radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH<sup>\*</sup>)**

A capacidade para bloquear os radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH<sup>\*</sup>) foi estudada de acordo com o método descrito por Hatano *et al.* (1988). Desse modo, 0,3 mL de várias concentrações de extrato de cada amostra foram misturados com 2,7 mL de uma solução metanólica contendo radicais de DPPH<sup>\*</sup> ( $6 \times 10^{-5}$  mol/L).

Após agitação, a mistura foi colocada a repousar no escuro durante 60 minutos, até se obterem valores estáveis de absorvância a 517 nm.

A redução do radical DPPH<sup>•</sup> foi medida pelo decréscimo da absorvância a 517 nm, lida num espectrofotómetro de ultravioleta e visível (Genesys™ 10 UV). O efeito bloqueador do DPPH<sup>•</sup> foi calculado como uma percentagem da descoloração do DPPH<sup>•</sup>, usando-se a seguinte equação:

$$\% \text{ Efeito bloqueador} = [(A_{\text{DPPH}^{\bullet}} - A_A) / A_{\text{DPPH}^{\bullet}}] \times 100$$

em que  $A_A$  é a absorvância da solução com extrato da amostra e  $A_{\text{DPPH}^{\bullet}}$  é a absorvância da solução de DPPH<sup>•</sup>. A concentração de extrato a que corresponde 50% de inibição ( $EC_{50}$ ) foi calculada a partir da representação gráfica da percentagem do efeito bloqueador em função da concentração de extrato.



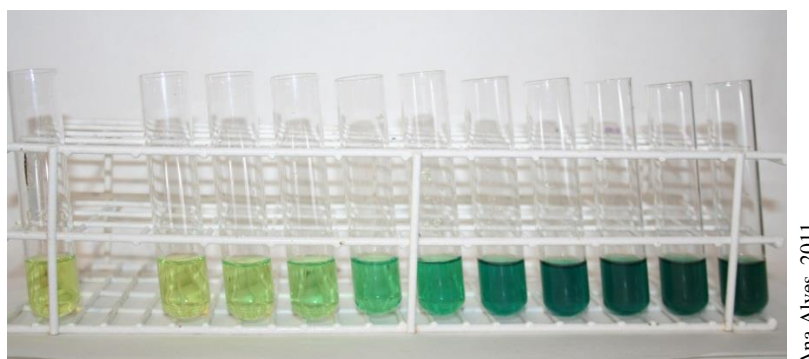
Ana Alves, 2011

**Figura 10.** Exemplo de uma análise de bloqueio de radicais livres de DPPH numa amostra a várias concentrações de extrato.

#### 4.2.5.3. Determinação do poder redutor

O poder redutor foi determinado de acordo com o procedimento descrito por Berker et al. (2007). Assim, 1 mL das diferentes concentrações de extrato de cada amostra foram misturados com 2,5 mL de tampão de fosfato de sódio 200 mmol/L (pH 6,6) e 2,5 mL de ferricianeto de potássio a 1%. A mistura foi incubada a 50 °C durante 20 minutos. Depois de arrefecer foram adicionados 2,5 mL de ácido tricloroacético a 10% (m/v) e a mistura foi centrifugada a 1000 rpm (Centorion K24OR-2003) durante 8 minutos. Retiraram-se 2,5 mL de sobrenadante que foram misturados com 2,5 mL de água destilada e 0,5 mL de 0,1% de cloreto de ferro (III). A absorvância foi medida no espectrofotómetro de ultravioleta e visível (Genesys™ 10 UV) a 700 nm. Quanto maior a absorvância maior é o poder redutor da amostra. A partir do gráfico que relaciona a absorvância a 700 nm *versus* concentração de extrato determinaram-se também as

concentrações que originaram uma absorvância igual a 0,5, correspondente ao valor do  $EC_{50}$ .



**Figura 11.** Exemplo de uma análise do poder redutor a várias concentrações de extrato.

#### 4.2.6. Análise estatística

Para avaliar se o tipo de solvente afetou significativamente a atividade antioxidante das matrizes estudadas, recorreu-se à análise de variâncias *one-way* ANOVA, seguida do teste *post-hoc* HSD de Tukey quando os pressupostos da normalidade e homogeneidade de variâncias se verificaram, ou com correção de Welch, no caso do requisito da homogeneidade de variâncias não ter sido cumprido, como descrito em Maroco (2010). Nesta situação quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste de Dunnett T3's.

### **4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

É sabido que as condições de extração condicionam a composição dos extratos, por isso, será de admitir que a atividade antioxidante dos extratos das diferentes partes do maracujá-roxo irá depender em grande parte dessas condições de extração, assim como dos métodos utilizados para determinar essa atividade. Deste modo, neste estudo, optou-se por utilizar diferentes solventes de extração - acetona, etanol (96%) e metanol, na tentativa de encontrar procedimentos de extração apropriados para este fim em cada fração de maracujá-roxo considerada. De seguida, fez-se a comparação da atividade antioxidante obtida nas melhores condições de extração das amostras já referidas.

#### **4.3.1. Seleção do solvente de extração das sementes**

##### ***4.3.1.1. Rendimento de extração e capacidade redutora total***

Na Tabela 7, encontra-se a informação detalhada a cerca dos resultados do rendimento de extrato e da capacidade redutora total obtida para os três tipos de extração. É claro que o rendimento do extrato acetónico é superior aos restantes (19,57%), havendo diferenças muito significativas entre os outros extratos ( $p < 0,001$ ). O solvente que menos rendimento ofereceu foi o metanol com 4,68%. Apesar disso, a capacidade redutora total foi superior no extrato obtido com este solvente (64,01 mg GAE/g de extrato), mostrando que os compostos redutores presentes nas sementes de maracujá-roxo do Porto têm mais afinidade com este solvente. O extrato metanólico apresentou diferenças muito significativas neste parâmetro relativamente aos extratos acetónico e etanólico ( $p < 0,001$ ), enquanto estes dois não mostraram ter diferenças significativas entre si (29,34 e 29,54 mg GAE/g de extrato, respetivamente).

**Tabela 7.** Rendimento de extração (%) e capacidade redutora total (mg GAE/g de extrato) de extratos obtidos com diferentes solventes de sementes de maracujá-roxo proveniente do Porto (média±desvio padrão).

| <b>Solventes</b>  | <b>Rendimento (%)</b>   | <b>Capacidade redutora total (mg GAE/g de extrato)</b> |
|-------------------|-------------------------|--|
| <b>Acetona</b>    | 19,57±1,45 <sup>c</sup> | 29,34±0,64 <sup>a</sup>                                |
| <b>Etanol</b>     | 12,62±0,39 <sup>b</sup> | 29,52±2,24 <sup>a</sup>                                |
| <b>Metanol</b>    | 4,68±0,29 <sup>a</sup>  | 64,01±3,13 <sup>b</sup>                                |
| <b>Valor de p</b> | <0,001**                | <0,001*  |

a-c Os valores médios apresentados em cada coluna, com letras diferentes diferem significativamente,  $p < 0,05$ .

\*Os valores de  $p$  foram obtidos a partir da análise *one-way* ANOVA após se terem verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey ( $p > 0,05$  pelo teste de Levene).

\*\*Os valores de  $p$  foram obtidos a partir da análise *one-way* Welch ANOVA, uma vez que não se verificou uma homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste de Dunnett T3's ( $p < 0,05$  pelo teste de Levene).

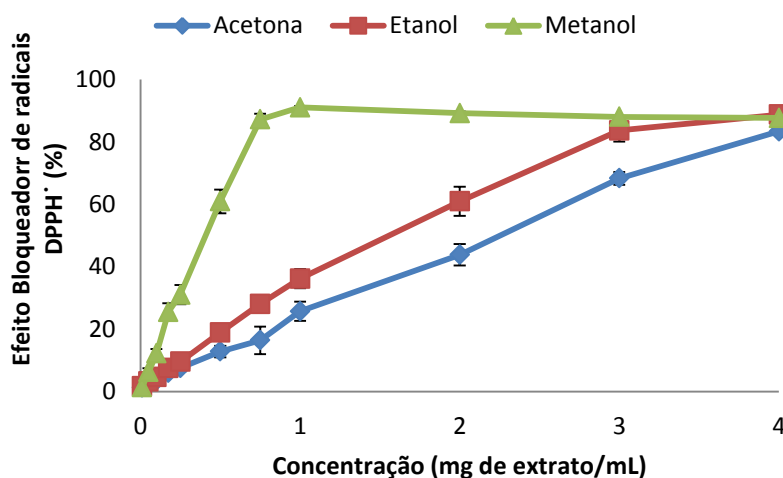
A concentração e natureza dos compostos bioativos presentes nos produtos vegetais, bem como os seus efeitos biológicos, dependem de vários fatores, que podem dar origem a variações na atividade antioxidante, mesmo dentro da mesma variedade, normalmente pela influência da síntese de metabolitos secundários (Jaacola e Hohtola, 2010; Kumazawa *et al.*, 2004). As diferenças devem-se principalmente à área geográfica de produção, ao grau de maturação, época do ano e a diferenças nos fatores ambientais, genéticos e de processamento (Martínez *et al.*, 2012; Jaacola e Hohtola, 2010; Kumazawa *et al.* 2004).

Por exemplo, num estudo realizado em sementes de *Tamarinus indica* L., foram obtidos resultados semelhantes, em que no extrato metanólico houve maior capacidade redutora total sendo, dos polares, o solvente com maior constante dielétrica (Razali *et al.*, 2012). Já Liu e Yao (2007), em extratos de sementes de cevada, obtiveram o teor mais elevado no extrato acetónico a 70%, seguindo do etanólico a 70% e do metanólico a 70%. Ou seja, não há um solvente que seja recorrentemente o que permite a obtenção de extratos mais ricos em compostos redutores em diferentes matrizes.

#### **4.3.1.2. Efeito bloqueador de radicais livres de DPPH**

O efeito bloqueador de os radicais livres de DPPH é um dos mecanismos mais utilizados na avaliação da capacidade para inibir radicais livres em várias partes de plantas como folhas frutos, flores, entre outros.

Na figura 12, observamos a inibição de radicais livres de DPPH em relação à concentração dos extratos obtidos com os três solventes distintos.



**Figura 12.** Percentagem de bloqueio de radicais livres de DPPH de extratos obtidos a partir de diferentes solventes de sementes de maracujá-roxo proveniente do Porto (média±desvio padrão).

É evidente o aumento da inibição à medida que aumenta a concentração da amostra para todos os casos, mostrando haver atividade biológica das sementes. Repara-se também que foi no extrato metanólico que se conseguiu melhor atividade antioxidante, mostrando ter elevado efeito bloqueador de DPPH. A 0,75 e 1 mg de extrato/mL observaram-se efeitos bloqueadores na ordem dos 60 e 90%, respetivamente. Os extratos etanólico e acetónico, às mesmas concentrações, apresentavam percentagens de inibição relativamente baixas sendo na ordem dos 25 e 35% para o etanólico e 10 e 20% para a acetona. Assim, a acetona foi o solvente mais fraco na extração de bloqueadores de DPPH.

Quanto aos EC<sub>50</sub>, valor da concentração efetiva onde se observa 50% de inibição de radicais livres de DPPH, estão detalhados na Tabela 8. Verificaram-se diferenças muito significativas nos valores de EC<sub>50</sub> em relação ao tipo de extrato ( $p < 0,001$ ). O extrato acetónico foi o que necessitou uma concentração mais elevada para este efeito de inibição (EC<sub>50</sub> = 2,24 mg/mL), mostrando ter menor atividade anti-radicalar para o DPPH que os restantes extratos. O extrato em que se obteve menor EC<sub>50</sub> e, por consequência, maior atividade bloqueadora, foi o metanólico (EC<sub>50</sub> = 0,41mg de extrato/mL), seguido do etanólico (EC<sub>50</sub> = 1,57 mg/mL). O metanol mostrou-se mais

uma vez o solvente com maior capacidade de extração de compostos bloqueadores de DPPH<sup>·</sup>.

**Tabela 8.** Valores de EC<sub>50</sub> (mg/mL) do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH e do poder redutor extratos obtidos com diferentes solventes de sementes de maracujá-roxo proveniente do Porto (média±desvio padrão).

| Solventes         | DPPH<br>(EC <sub>50</sub> <sup>1</sup> ) | Poder redutor<br>(EC <sub>50</sub> <sup>2</sup> ) |
|-------------------|--|---|
| Acetona           | 2,24±0,11 <sup>c</sup>                   | 2,25±0,11 <sup>b</sup>                            |
| Etanol            | 1,57±0,14 <sup>b</sup>                   | 4,04±0,09 <sup>c</sup>                            |
| Metanol           | 0,41±0,03 <sup>a</sup>                   | 1,03±0,06 <sup>a</sup>                            |
| Valor de <i>p</i> | <0,001*                                  | <0,001**  |

<sup>1</sup> EC<sub>50</sub> (mg/mL): concentração efetiva a 50% de inibição de radicais de DPPH.

<sup>2</sup> EC<sub>50</sub> (mg/mL): concentração efetiva a 0,5 de absorvância.

a-c Os valores médios apresentados em cada coluna, com letras diferentes diferem significativamente, *p* < 0,05.

\*Os valores de *p* foram obtidos a partir da análise *one-way* ANOVA após se terem verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo (*p*<0,05) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey (*p*>0,05 pelo teste de Levene).

\*\*Os valores de *p* foram obtidos a partir da análise *one-way* Welch ANOVA, uma vez que não se verificou uma homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo (*p*<0,05) foi aplicado o teste de Dunnett T3's (*p*<0,05 pelo teste de Levene).

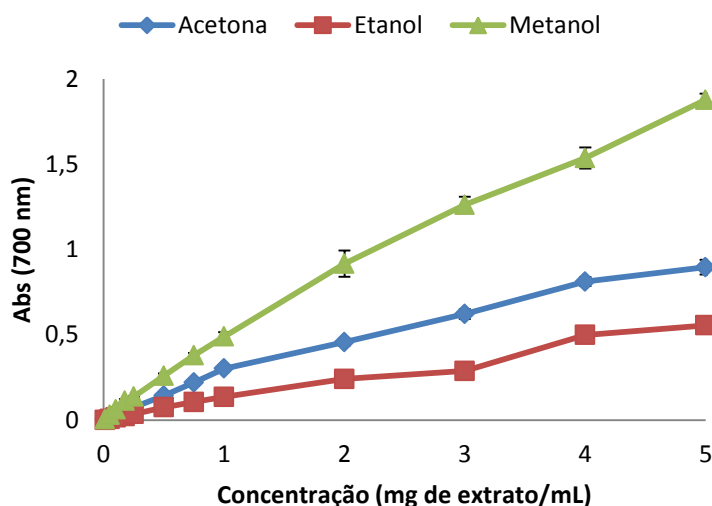
Também Moure *et al.* (2001), encontraram diferenças nos extratos obtidos por diferentes solventes, mostrando que nas sementes de *Rosa rubiginosa* os extratos etanólico (96%) e acetónico eram os que apresentavam maior percentagem de inibição de DPPH<sup>·</sup>. Mas, tal como no presente capítulo, Razali *et al.* (2012), obteve melhores resultados nos extratos metanólicos de sementes de *Tamarindus indica* L..

#### 4.3.1.3. Poder Redutor

Neste ensaio, a presença de redutores (antioxidantes) nos extratos faz com que haja redução do complexo ferrocianeto (Fe<sup>3+</sup>) à sua forma ferrosa (Fe<sup>2+</sup>), o que resulta na alteração da cor das soluções de amarelo para várias tonalidades, entre verde e azul. Esta mudança de cor, bem como a rapidez com que ocorre, dependerá da concentração e do tipo de compostos redutores presentes nos extratos. Assim, através da leitura a 700nm, pode medir-se a concentração de Fe<sup>2+</sup> presente, que quanto maior for, maior será o poder de redução (Oliveira *et al.*, 2009). Este método pode servir de forma clara, como indicador da atividade antioxidante de um produto vegetal (Meir *et al.*, 1995).



A atividade antioxidante dos diferentes extratos estudados nas sementes do Porto e medida pelo poder redutor, aumentou à medida que aumentou a concentração de extrato, mostrando existir uma relação de dependência entre a concentração de extrato e a sua atividade biológica (Figura 13).



**Figura 13.** Poder redutor das sementes de maracujá-roxo proveniente do Porto em extratos obtidos com diferentes solventes de extração (média  $\pm$  desvio padrão).

Observou-se também que o extrato metanólico apresenta maiores valores de absorvância do que os outros extratos, ou seja, mais uma vez é o extrato de metanol o que exibe maior atividade antioxidante. Curiosamente, o extrato acetónico mostrou um poder superior ao etanólico, perfil diferente do obtido com os outros parâmetros (efeito bloqueador de radicais de DPPH e capacidade redutora total), o que também foi seguido no indicador  $EC_{50}$  (Tabela 8). Esta diferença pode ter acontecido devido aos compostos antioxidantes extraídos pela acetona terem maior poder redutor do que de inibição de radicais livres e o contrário ter sucedido com o etanol. Outro facto que possa ter ocorrido é que talvez os compostos bloqueadores de DPPH' desta amostra, sejam menos polares que os compostos com poder redutor, visto que a polaridade dos solventes tem uma relação direta com a polaridade dos compostos extraídos (Chew *et al.*, 2011).

A Tabela 8 detalha o  $EC_{50}$  do poder redutor obtido em cada extrato - concentração efetiva em que se observa uma absorvância de 0,5 nos extratos. Os resultados revelam existir diferenças muito significativas nos valores de  $EC_{50}$  ( $p < 0,001$ ), mostrando a influência dos solventes na extração de compostos redutores do

ferro férrico. Os extratos metanólicos mostraram mais uma vez ter maior atividade biológica, ( $EC_{50} = 1,03 \text{ mg/mL}$ ).

#### **4.3.2. Atividade antioxidante dos extratos metanólicos das sementes**

Depois de perceber que o metanol foi o melhor solvente de extração para os compostos antioxidantes presentes nas sementes de maracujá-roxo do Porto, aplicou-se então o mesmo método de extração nas sementes de Barcelos e fez-se o estudo comparativo entre diferentes origens.

O rendimento de extração de ambas as amostras encontra-se detalhado na Tabela 9, e mostra que existem diferenças muito significativas entre as duas amostras ( $p < 0,001$ ). O rendimento de extração foi superior na amostra do Porto, obtendo-se uma percentagem de 4,68%, enquanto na de Barcelos a percentagem foi de 3,79%.

Apesar de não existirem diferenças significativas entre as amostras ( $p = 0,420$ ) quanto à capacidade redutora total, esta mostrou ser mais elevada nas sementes do Porto do que nas sementes de Barcelos (64,01 e 62,69 mg GAE/g extrato, respetivamente) (Tabela 9). Todavia, observa-se claramente na Figura 14 que o extrato das sementes do Porto têm globalmente maior atividade antioxidante. Esta amostra tem maior poder bloqueador de radicais livres de DPPH, apresentando sempre percentagens superiores em todas as concentrações. No extrato de sementes do Porto, a uma concentração de 0,75mg/mL notou-se uma percentagem de inibição na ordem dos 90%, indicando assim que estas sementes inibem fortemente radicais livres de DPPH. À mesma concentração, a amostra de Barcelos exibiu uma percentagem de inibição apenas na ordem dos 30% e só a 3mg/mL apresentou uma percentagem na ordem dos 80%. Viu-se também um aumento da atividade bloqueadora de radicais DPPH à medida que aumentou a concentração, mostrando haver atividade biológica nas amostras.

**Tabela 9.** Rendimento de extração (%), valor de  $EC_{50}^1$  de DPPH $\cdot$ , valor de  $EC_{50}^2$  do poder redutor (mg/mL) e capacidade redutora total (mg GAE/g extrato) de extratos metanólicos das sementes de maracujá-roxo provenientes do Porto e de Barcelos (média±desvio padrão).

|   | Barcelos               | Porto                  | Valor de <i>p</i> |
|---|------------------------|------------------------|-------------------|
| <b>Rendimento de extração (%)</b>                   | 3,79±0,12 <sup>a</sup> | 4,68±0,29 <sup>b</sup> | <0,001**          |
| <b>Capacidade redutora total (mg GAE/g extrato)</b> | 62,69±3,59             | 64,01±3,13             | 0,420*            |
| <b>DPPH (<math>EC_{50}^1</math>)</b>                | 1,18±0,13 <sup>b</sup> | 0,41±0,03 <sup>a</sup> | <0,001**          |
| <b>Poder redutor (<math>EC_{50}^2</math>)</b>       | 1,67±0,10 <sup>b</sup> | 1,03±0,06 <sup>a</sup> | <0,001*           |

<sup>1</sup> $EC_{50}$  (mg/mL): concentração efetiva a 50% de inibição de radicais de DPPH.

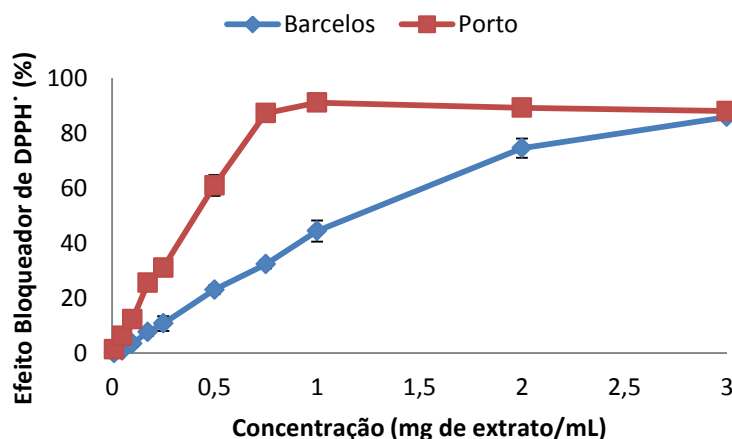
<sup>2</sup> $EC_{50}$  (mg/mL): concentração efetiva a 0,5 de absorvância.

a-b Os valores médios apresentados em cada linha, com letras diferentes diferem significativamente,  $p < 0,05$ .

\*Os valores de *p* foram obtidos a partir da análise *one-way* ANOVA após se terem verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey ( $p > 0,05$  pelo teste de Levene).

\*\*Os valores de *p* foram obtidos a partir da análise *one-way* Welch ANOVA, uma vez que não se verificou uma homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste de Dunnett T3's ( $p < 0,05$  pelo teste de Levene).

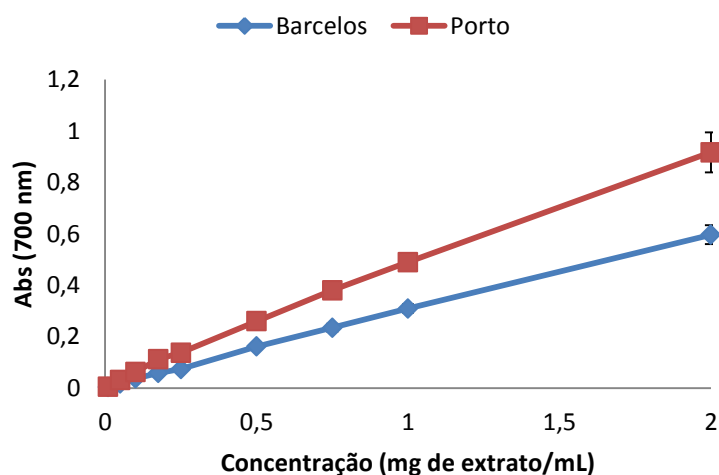
Quanto aos valores de  $EC_{50}$ , o valor mais baixo foi de 0,41 mg/mL nas sementes do Porto, enquanto as de Barcelos apresentaram um valor de  $EC_{50}$  de 1,18 mg/mL (Tabela 9), vindo ao encontro dos resultados dos parâmetros anteriores.



**Figura 14.** Efeito bloqueador de radicais livres de DPPH $\cdot$  de extratos metanólicos de sementes de maracujá-roxo provenientes de Barcelos e do Porto (média±desvio padrão).

No poder redutor, o resultado foi idêntico (Figura 15). À medida que aumentaram as concentrações, aumentou a absorvância das amostras, sendo sempre superior na amostra do Porto. A amostra do Porto mostrou maior poder redutor porque a uma concentração de 2 mg/mL esta amostra teve quase o dobro de absorvância que a

amostra de Barcelos. Os valores de  $EC_{50}$  foram de 1,03 e 1,67 mg/mL para as amostras do Porto e Barcelos, respectivamente, indicando mais uma vez maior poder redutor das sementes do Porto ( $EC_{50}$  mais baixo) (Tabela 9).



**Figura 15.** Poder redutor de extratos metanólicos de sementes de maracujá-roxo provenientes de Barcelos e do Porto (média±desvio padrão).

O facto das sementes de Barcelos exibirem menor atividade antioxidante que as sementes do Porto neste estudo, apesar da idêntica capacidade redutora total, pode dever-se principalmente a diferenças na composição, descritas anteriormente como devidas à área geográfica onde se encontra o maracujazeiro, a fatores genéticos, fatores ambientais como humidade, solo e temperatura, a época do ano em que se encontram no momento da colheita e ao grau de maturação (Martínez *et al.*, 2012; Jaacola e Hohtola, 2010; Kumazawa *et al.*, 2004). Além disso parte dos compostos antioxidantes que se encontram nos óleos das sementes poderão também ter um papel decisivo nos resultados verificados.

#### **4.3.3. Efeito do solvente de extração nas várias partes de maracujá-roxo e sua atividade antioxidante.**

Neste ponto foi comparada a atividade antioxidante de sementes, polpa, cascas, flores e folhas do maracujá-roxo. A fim de perceber qual o melhor solvente na extração de compostos antioxidantes das várias matrizes estudadas, foram então utilizados três solventes de polaridade diferente (acetona, etanol a 96% e metanol).

Já se tinha verificado que para as sementes, o melhor solvente de compostos antioxidantes era o metanol, as sementes com maior atividade eram as sementes do Porto, por isso, no final, a comparação da atividade antioxidante das diversas partes do maracujá-roxo estudadas foi feita com o extrato metanólico das sementes do Porto.

É de referir também que não foi possível comparar extratos acetónicos das flores nos três métodos de análise da atividade antioxidante, tendo sido apenas possível obter o rendimento de extração. Este facto deveu-se ao rendimento de extração com acetona ser muito baixo e de não se dispor de flores em quantidade suficiente para a elaboração destas análises.

#### 4.3.2.1. Rendimento de extração

O rendimento dos extratos obtidos nas diferentes partes estudadas do maracujazeiro está representado na Tabela 10. Observaram-se diferenças muito significativas relativamente ao rendimento obtido com os diferentes solventes utilizados em cada parte do maracujá ( $p < 0,001$ ), mostrando assim diferenças nos compostos extraídos e provavelmente na composição dos seus extratos. Observando a Tabela 10, repara-se que os melhores rendimentos de cada amostra foram obtidos na extração metanólica, variando de 8,58 a 44,63% (cascas e polpa, respetivamente). Os rendimentos mais baixos na polpa, cascas, flores e folhas foram os das extrações acetónicas e oscilaram de 0,56 a 2,88%.

**Tabela 10.** Rendimento de extração (%) de várias matrizes de maracujá-roxo com extração por diferentes solventes (média±desvio padrão).

| <b>Matriz</b>   | <b>Acetona</b>                | <b>Etanol</b>           | <b>Metanol</b>                | <b>Valor de <math>p</math></b> |
|-----------------|-------------------------------|-------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| <b>Sementes</b> | <b>19,57±1,45<sup>c</sup></b> | 12,62±0,39 <sup>b</sup> | 4,68±0,29 <sup>a</sup>        | <0,001**                       |
| <b>Polpa</b>    | 2,20±0,21 <sup>a</sup>        | 18,15±2,59 <sup>b</sup> | <b>44,63±2,88<sup>c</sup></b> | <0,001*                        |
| <b>Cascas</b>   | 0,56±0,12 <sup>a</sup>        | 3,46±0,25 <sup>b</sup>  | <b>8,58±0,33<sup>c</sup></b>  | <0,001**                       |
| <b>Flores</b>   | 1,39±0,01 <sup>a</sup>        | 15,82±0,83 <sup>b</sup> | <b>30,40±1,51<sup>c</sup></b> | <0,001**                       |
| <b>Folhas</b>   | 2,88±0,09 <sup>a</sup>        | 10,33±2,20 <sup>b</sup> | <b>18,58±0,37<sup>c</sup></b> | <0,001*                        |

a-c Os valores médios apresentados em cada linha, com letras diferentes diferem significativamente,  $p < 0,05$ .

\*Os valores de  $p$  foram obtidos a partir da análise *one-way* ANOVA após se terem verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey ( $p > 0,05$  pelo teste de Levene).

\*\*Os valores de  $p$  foram obtidos a partir da análise *one-way* Welch ANOVA, uma vez que não se verificou uma homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste de Dunnett T3's ( $p < 0,05$  pelo teste de Levene).

Relativamente aos rendimentos máximos, a polpa foi a que apresentou maior rendimento (44,63%) seguindo-se as flores (30,40%). O menor rendimento foi obtido na casca (8,58%). As diferentes partes do maracujá-roxo mostraram diferenças muito significativas em relação ao rendimento de extração obtido ( $p < 0,001$ ). O elevado rendimento da polpa e das flores pode estar associado à presença de quantidades elevadas de açúcares solúveis que normalmente estão associadas a estas partes das plantas. Janzantti *et al* (2012), por exemplo, relata uma quantidade de 5,23 a 5,26 g glucose/100 mL de polpa de maracujá.

#### **4.3.2.2. Capacidade Redutora Total**

A capacidade redutora total dos extratos obtidos de cada parte do maracujá-roxo encontra-se detalhada na Tabela 11. A extração com diferentes solventes revelou diferenças muito significativas na capacidade redutora total em quase todas as amostras ( $p < 0,001$ ) e significativas nas flores ( $p < 0,05$ ), mostrando haver diferenças nos extratos (Tabela 11). O melhor solvente de extração de compostos redutores totais nas cascas e polpa (141,43 e 13,68 mg GAE/g extrato, respetivamente) foi o metanol. Nas flores, o melhor resultado foi obtido no extrato etanólico (22,21 mg GAE/g extrato), em comparação apenas com os extratos metanólicos, uma vez que não foi possível fazer esta análise em extratos acetónicos. Nas folhas foi o etanol a mostrar-se o melhor solvente de extração (178,45 mg GAE/g extrato).

Alothman *et al.* (2009), já tinham estudado os compostos fenóis totais de polpas de várias frutas extraídas com diferentes solventes, nomeadamente metanol, etanol e acetona, a várias concentrações, tendo observado que em banana e em goiaba, o melhor solvente destes compostos era a acetona a 90%, enquanto em ananás, o melhor solvente de extração era o etanol a 70%.

Em cascas e folhas de *Tamarindos indica* L., o metanol mostrou ser o melhor solvente destes compostos em comparação ao acetato de etilo e ao hexano (Razali *et al.*, 2012). Arabhahi-Delouee (2007), obteve o mesmo resultado em folhas de amoreira, comparativamente à acetona e água. Já Oliveira *et al.* (2009), mostrou que nas folhas de medronheiro o melhor solvente de compostos fenólicos totais era o etanol.

Liu *et al.* (2009), concluiu no seu estudo que em flores de *Passiflora incarnata*, a acetona extraiu mais compostos fenólicos totais que o metanol e a água. Mas Masteikova *et al.* (2008), obteve melhor resultado com etanol comparativamente à água.

**Tabela 11.** Capacidade redutora total (mg GAE/g de extrato) de extratos obtidos por diferentes solventes em diferentes matrizes de maracujá-roxo (média±desvio padrão).

| <b>Matriz</b>   | <b>Acetona</b>                  | <b>Etanol</b>                 | <b>Metanol</b>                  | <b>Valor de p</b> |
|-----------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|-------------------|
| <b>Sementes</b> | 29,34±0,64 <sup>a</sup>         | 29,52±2,24 <sup>a</sup>       | <b>64,01±3,13<sup>b</sup></b>   | <0,001*           |
| <b>Polpa</b>    | 5,34±0,07 <sup>a</sup>          | 6,70±0,17 <sup>b</sup>        | <b>13,68±0,67<sup>c</sup></b>   | <0,001*           |
| <b>Cascas</b>   | 110,29±2,12 <sup>a</sup>        | 106,62±3,99 <sup>a</sup>      | <b>141,43±11,23<sup>b</sup></b> | <0,001*           |
| <b>Flores</b>   | -                               | <b>22,21±0,52<sup>b</sup></b> | 21,18±0,80 <sup>a</sup>         | 0,026*            |
| <b>Folhas</b>   | <b>178,45±14,91<sup>c</sup></b> | 74,89±0,88 <sup>a</sup>       | 105,69±2,86 <sup>b</sup>        | <0,001**          |

a-c Os valores médios apresentados em cada linha, com letras diferentes diferem significativamente,  $p < 0,05$ .

\*Os valores de  $p$  foram obtidos a partir da análise *one-way* ANOVA após se terem verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey ( $p > 0,05$  pelo teste de Levene).

\*\*Os valores de  $p$  foram obtidos a partir da análise *one-way* Welch ANOVA, uma vez que não se verificou uma homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste de Dunnett T3's ( $p < 0,05$  pelo teste de Levene).

Comparando os teores mais altos de cada amostra, as folhas foram as que apresentaram maior capacidade redutora total (178,45 mg GAE/g extrato), seguido das cascas (141,43 mg GAE/g extrato). A polpa foi a amostra que apresentou menor valor (13,68 mg GAE/g extrato). As amostras apresentaram diferenças muito significativas entre si ( $p < 0,001$ ).

Pabón *et al.* (2011), obteve uma capacidade redutora total na ordem dos 136,684 mg GAE/100 g de extrato em polpa de maracujá-roxo. Noutro estudo, Rudnicki *et al.* (2001), obtiveram uma capacidade redutora total ainda mais baixa para a mesma variedade (92,5 µg ácido tânico/mg extrato).

Oliveira *et al.* (2009), relataram, tal como nós, teores elevados em folhas de medronheiro, que variaram entre 14,93 e 192,66 mg GAE/g de extrato. Por outro lado, da Silva *et al.* (2013), obtiveram um teor de 8,3 mg GAE/g de extrato para folhas de *Passiflora edulis*, valor muito inferior aos alcançados aqui.

Kuskoski *et al.* (2005), encontraram um teor de 20,0 mg GAE/100g, em polpa de *Passiflora sp.*, sendo mais baixo que o teor encontrado na polpa do maracujá estudado no presente trabalho.

Este estudo está também de acordo com alguns estudos anteriores que relatam que a capacidade redutora total nas folhas é superior a outras partes da planta como em

*Cucumis melo*, *Arbutus unedo* L., *Tamarindus indica* L. e *Passiflora*, à exceção de um estudo em que as folhas de *Cassia fistula* L. foram a segunda parte com maior teor, sendo a primeira a casca do tronco (matriz não estudada neste trabalho). Nos trabalhos em que também foi estudada a polpa do fruto, esta foi sempre a matriz que apresentou menor capacidade redutora total (Razali *et al.*, 2010; Ismail *et al.*, 2010; Mendes *et al.*, 2011; Sddhuraju *et al.*, 2002, Pabón *et al.*, 2011, Mendes *et al.* 2011).

#### **4.3.2.4. Efeito bloqueador de radicais livres de DPPH**

A utilização de diferentes solventes resultou em diferenças muito significativas ( $p < 0,001$ ) na inibição de radicais DPPH<sup>\*</sup> na maioria das partes de maracujá-roxo estudadas, mostrando assim diferenças na composição dos extratos. A exceção foram as flores, que não apresentaram diferenças significativas entre os dois extratos estudados ( $p > 0,05$ ). Na Tabela 12 está representado o EC<sub>50</sub> das amostras extraídas com os diferentes solventes. Pode notar-se que o extrato metanólico foi aquele onde se obtiveram melhores resultados, apresentando valores de EC<sub>50</sub> (polpa, folhas, flores) mais baixos do que com os restantes solventes. Na polpa, o valor de EC<sub>50</sub> da extração metanólica (12,09 mg/mL) praticamente não diferiu do valor de EC<sub>50</sub> do extrato acetónico (12,87/mg/mL) enquanto nas cascas o melhor resultado foi alcançado na extração etanólica (0,29 mg/mL), apesar de não ser significativamente diferente do resultado obtido na extração metanólica (0,31 mg/mL).

As matrizes que apresentaram melhor capacidade de inibição, por ordem decrescente, foram as cascas, as folhas e as sementes, atingindo EC<sub>50</sub> a 0,29, 0,35 e 0,41mg/mL, respetivamente. O menor efeito bloqueador de radicais livres de DPPH foi obtido na polpa, onde se obteve um EC<sub>50</sub> = 12,09 mg/mL (Tabela 12).

Em grande parte, os resultados obtidos estão relacionados com a elevada capacidade redutora total obtida nos extratos das folhas e cascas e ao valor bastante menor encontrado na polpa.

Apesar de ter um efeito bloqueador baixo, a polpa de maracujá estudada (12,09 mg/mL) mostra ter um efeito bloqueador idêntico à polpa de meloa estudada por Ismail *et al.* (2010) (11,9 mg/mL). Por outro lado, apresenta menor efeito bloqueador do que por exemplo o fruto do medronho estudado por Mendes *et al.* (2011) (0,79 mg/mL).



**Tabela 12.** Valores de EC<sub>50</sub><sup>1</sup> do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH (mg de extrato/mL) em extratos obtidos com diferentes solventes de várias matrizes de maracujá-roxo (média±desvio padrão).

| Amostra         | Acetona                 | Etanol                       | Metanol                       | Valor de p |
|-----------------|-------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------|
| <b>Sementes</b> | 2,24±0,11 <sup>c</sup>  | 1,57±0,14 <sup>b</sup>       | <b>0,41±0,03<sup>a</sup></b>  | <0,001*    |
| <b>Polpa</b>    | 12,87±1,29 <sup>a</sup> | 15,60±0,97 <sup>b</sup>      | <b>12,09±0,61<sup>a</sup></b> | <0,001**   |
| <b>Cascas</b>   | 0,43±0,06 <sup>b</sup>  | <b>0,29±0,04<sup>a</sup></b> | 0,31±0,04 <sup>a</sup>        | <0,001**   |
| <b>Flores</b>   | -                       | 2,42±0,01                    | <b>2,35±0,09</b>              | 0,232**    |
| <b>Folhas</b>   | 0,58±0,03 <sup>c</sup>  | 0,46±0,02 <sup>b</sup>       | <b>0,35±0,02<sup>a</sup></b>  | <0,001*    |

<sup>1</sup> EC<sub>50</sub> (mg/mL): concentração efetiva a 50% de inibição de radicais de DPPH.

a-c Os valores médios apresentados em cada linha, com letras diferentes diferem significativamente,  $p < 0,05$ .

\*Os valores de  $p$  foram obtidos a partir da análise *one-way* ANOVA após se terem verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey ( $p > 0,05$  pelo teste de Levene).

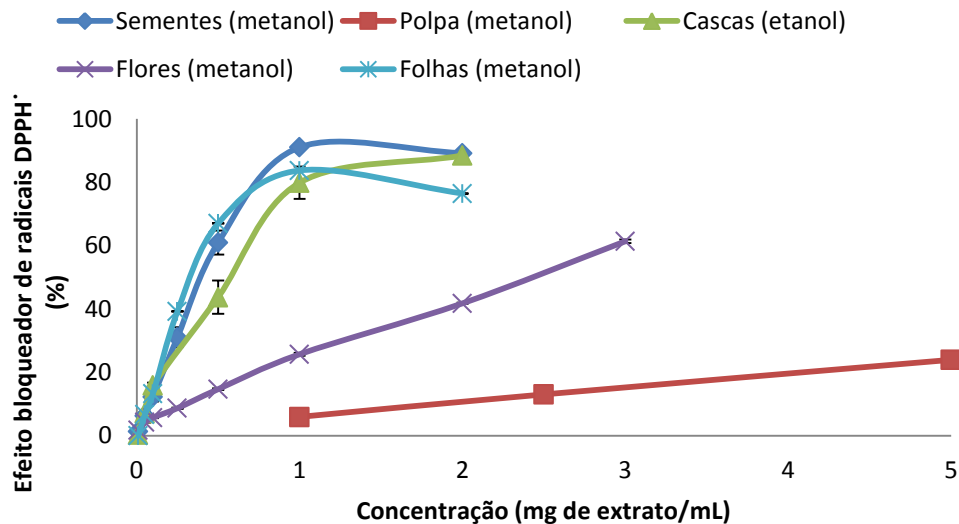
\*\*Os valores de  $p$  foram obtidos a partir da análise *one-way* Welch ANOVA, uma vez que não se verificou uma homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste de Dunnett T3's ( $p < 0,05$  pelo teste de Levene).

Relativamente às cascas, podemos comparar o valor EC<sub>50</sub> obtido com o de um estudo recente em que se compararam cascas de maracujá-amarelo saudável com cascas de maracujá-amarelo com sintomas de contaminação com o vírus do maracujá (Zeraik *et al.*, 2012), e se atingiu, para cascas saudáveis, um valor EC<sub>50</sub> de 25,93 mg/mL, o que é bastante mais elevado do que o destas cascas de maracujá-roxo. Ou seja, as cascas da variedade roxa poderão ser mais ricas em compostos com efeito anti-radicalar.

Já quanto às flores, Masteikova *et al.* (2008), conseguiram uma considerável percentagem bloqueadora de radicais livres tanto de DPPH<sup>·</sup> (na ordem dos 70%) como de ABTS<sup>·</sup> (na ordem dos 60%) em extratos etanólicos de flores de *Passiflora incarnata*, enquanto nos extratos aquosos, a percentagem de inibição foi menor, na ordem dos 30% e 20%, para bloqueio de radicais DPPH<sup>·</sup> e ABTS<sup>·</sup>, respetivamente.

Quanto às folhas de *Passiflora edulis*, da Silva *et al.* (2013), tinham obtido EC<sub>50</sub> de 1,10 mg/mL, correspondendo a menor atividade que nas folhas estudadas neste trabalho.

As diferenças relativamente aos resultados aqui apresentados poderão dever-se à diferente metodologia de obtenção dos extratos, incluindo o solvente utilizado, que, como já se constatou neste estudo, origina composições de extrato diversas.



**Figura 16.** Percentagem de bloqueio de radicais livres de DPPH nos extratos com maior efeito de inibição nas matrizes estudadas (média  $\pm$  desvio padrão).

A Figura 16 mostra que houve atividade biológica em todas as matrizes, uma vez que aumentou a percentagem de inibição à medida que aumentou a concentração dos extratos. É de notar que as sementes, as folhas e as cascas foram as amostras que tiveram melhor atividade, tendo atingido percentagens de inibição na ordem dos 80 a 90% a uma concentração de 1 mg/mL. A polpa, uma concentração de 5 mg/mL apenas tinha alcançado percentagens de inibição na ordem dos 20%.

#### 4.3.2.4. Poder Redutor

Os solventes mostraram influenciar significativamente o poder redutor de todas as amostras ( $p < 0,001$ ), resultado de diferenças na composição com os extratos obtidos dos diferentes solventes. Nas flores, só foi possível comparar entre extratos etanólicos e metanólicos. Na Tabela 13 estão detalhados os valores de  $EC_{50}$  para o poder redutor nas amostras consideradas. Os valores de  $EC_{50}$  mais baixos foram obtidos nos extratos metanólicos, à exceção das folhas, em que a acetona se mostrou o melhor solvente de compostos redutores do ferro (0,75 mg/mL), não muito longe do valor de  $EC_{50}$  do extrato metanólico (0,82 mg/mL). Os resultados mais elevados foram obtidos com etanol, mostrando ser de entre os três, o solvente mais fraco na extração de compostos com poder redutor nas várias partes de maracujá-roxo.

As cascas, as folhas e as sementes foram as amostras que apresentaram, por ordem decrescente, melhor poder de redução, com valores de EC<sub>50</sub> na ordem dos 0,70, 0,82 e 1,03 mg/mL, respetivamente. O valor mais elevado foi de novo observado na polpa, com um EC<sub>50</sub> de 4,70mg/mL, mostrando baixo poder de redução (Tabela 13).

Os valores de EC<sub>50</sub> da inibição de radicais DPPH<sup>·</sup> foram mais baixos do que o EC<sub>50</sub> do poder redutor, à exceção da polpa, o que pode significar que os extratos apresentam mais compostos que inibem os radicais livres do que compostos capazes de reduzir o ferro ferroso. Na polpa era de esperar que este facto acontecesse uma vez que esta fruta é conhecida por possuir um elevado teor de Vitamina C (agente redutor) e de açúcares, podendo ser açúcares redutores como a frutose.

**Tabela 13.** Valores de EC<sub>50</sub><sup>1</sup> do poder redutor (mg de extrato/mL) de extratos obtidos com diferentes solventes de várias matrizes de maracujá-roxo (média±desvio padrão).

| <b>Matriz</b>   | <b>Acetona</b>               | <b>Etanol</b>           | <b>Metanol</b>               | <b>Valor p</b> |
|-----------------|------------------------------|-------------------------|------------------------------|----------------|
| <b>Sementes</b> | 2,25±0,11 <sup>b</sup>       | 4,04±0,09 <sup>c</sup>  | <b>1,03±0,06<sup>a</sup></b> | <0,001**       |
| <b>Polpa</b>    | 10,33±0,82 <sup>b</sup>      | 22,16±0,75 <sup>c</sup> | <b>4,7±0,23<sup>a</sup></b>  | <0,001*        |
| <b>Cascas</b>   | 0,75±0,03 <sup>a</sup>       | 1,05±0,11 <sup>b</sup>  | <b>0,70±0,03<sup>a</sup></b> | <0,001*        |
| <b>Flores</b>   | -                            | 3,77±0,17 <sup>b</sup>  | <b>2,49±0,05<sup>a</sup></b> | <0,001**       |
| <b>Folhas</b>   | <b>0,75±0,06<sup>a</sup></b> | 1,24±0,04 <sup>b</sup>  | 0,82±0,05 <sup>a</sup>       | <0,001**       |

<sup>1</sup>EC<sub>50</sub> (mg/mL): concentração efetiva a 0,5 de absorvância.

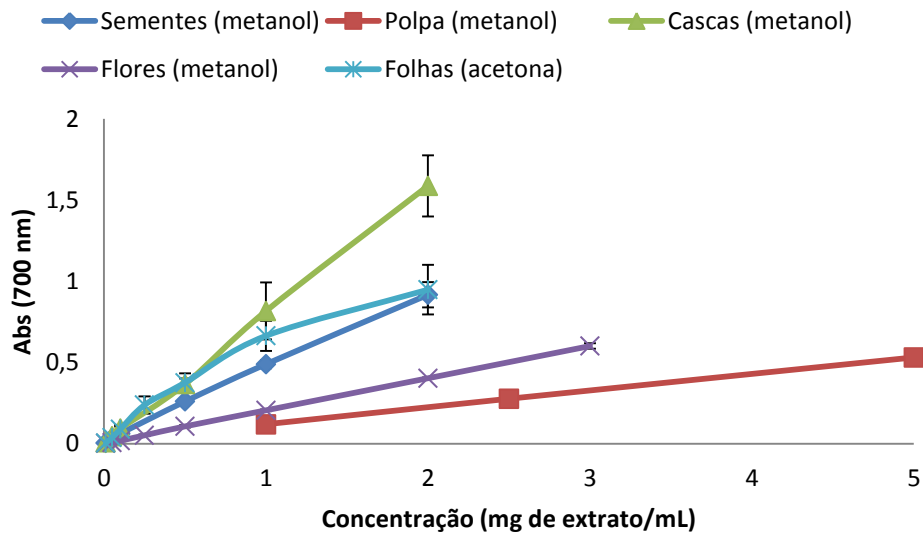
a-c Os valores médios apresentados em cada linha, com letras diferentes diferem significativamente,  $p < 0,05$ .

\*Os valores de  $p$  foram obtidos a partir da análise *one-way* ANOVA após se terem verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey ( $p > 0,05$  pelo teste de Levene).

\*\*Os valores de  $p$  foram obtidos a partir da análise *one-way* Welch ANOVA, uma vez que não se verificou uma homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste de Dunnett T3's ( $p < 0,05$  pelo teste de Levene).

Em estudos anteriores com maracujás de diferentes variedades verificou-se que as polpas apresentavam maior poder redutor do que efeito bloqueador de radicais DPPH<sup>·</sup>, tal como no presente estudo (Martínez *et al.*, 2012, Pabón *et al.*, 2011).

Apesar de se ter obtido um rendimento elevado na extração metanólica da polpa, a atividade antioxidante foi a mais baixa de todas as matrizes. Este facto pode estar associado aos açúcares normalmente presentes na polpa, nomeadamente mono e dissacarídeos, os quais podem gerar agentes pró-oxidantes; o mesmo poderia ter acontecido com as flores (Barthakur *et al.*, 1995; Siddhauraju *et al.*, 2002).



**Figura 17.** Poder redutor dos extratos com poder redutor mais elevado nas matrizes estudadas, e o respetivo solvente (média±desvio padrão).

A Figura 17 mostra claramente que existe atividade biológica em todas as matrizes estudadas, havendo um aumento do poder redutor à medida que aumenta a concentração dos extratos das amostras. As cascas destacaram-se com o melhor poder redutor com absorvância superior a 1,5 na concentração de 2 mg/mL, seguido das flores e sementes que à mesma concentração apresentaram uma absorvância perto de 1. A polpa foi a matriz com menor poder redutor pois na concentração de 5 mg/mL a absorvância foi cerca de 0,5.

### 4.3. CONCLUSÃO

Neste capítulo ficou claro que a atividade antioxidante dos extratos obtidos das várias partes do maracujá é muito influenciada pelo tipo de solvente utilizado na extração. As informações acerca de estudos anteriores, mostram que não existe nenhum solvente que seja o melhor a extrair compostos antioxidantes, nem nenhum solvente específico para extrair compostos antioxidantes de alguma fração de um produto vegetal. A atividade antioxidante dos extratos obtidos por solventes, depende da polaridade destes e da polaridade dos compostos presentes no extrato, bem como da afinidade do solvente para com esses compostos, sendo cada extrato diferente do outro, mesmo em matrizes idênticas.

Em geral, o metanol mostrou ser o melhor solvente de extração de compostos antioxidantes nas amostras estudadas. Os resultados obtidos demonstram que *Passiflora edulis* Sims *edulis* tem boas propriedades antioxidantes. O maior poder antioxidante foi apresentado pelo extrato das cascas, seguindo-se as folhas, sementes, flores e por último a polpa. A elevada capacidade antioxidante dos extratos de cascas e folhas e sementes mostram que estas têm potencial para serem usadas como antioxidantes naturais, podendo fortemente tornar-se numa alternativa aos antioxidantes sintéticos, bem como no uso de medicamentos para combater o *stress* oxidativo. O resultado dos extratos das flores e polpa foram menos encorajadores, talvez pela presença nestas partes da planta de alguns açúcares que poderiam ter reduzido a atividade antioxidante dos compostos presentes nos extratos.

Às sementes com origens distintas (Porto e Barcelos), vieram corroborar os resultados de outros autores, na atividade antioxidante, pese embora serem da mesma variedade de planta e da mesma matriz (sementes), o que pode ser resultado de vários fatores como, por exemplo, a área geográfica, o modo de cultivo, fatores ambientais, o grau de maturação, entre outros.

No futuro é importante isolar os compostos bioativos presentes nas várias partes do maracujá roxo, a fim de determinar o potencial antioxidante de cada composto, nomeadamente compostos fenólicos, vitaminas C e E, carotenóides, antocianinas, entre outros.

#### 4.4. BIBLIOGRAFIA

- Alothman, M., Bhat, R., Karim, A. A. (2009). Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, **115**: 785–788.
- Anagnostopoulou, M. A., Kefalas, P., Papageorgiou, V. P., Assimepoulou, A. N., Boskou, D., (2006). Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). *Food Chemistry*, **94**: 19–25.
- Anderson, D., (1999). Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. *Mutation Research*, **350**: 103–108.
- Arabshahi-Delouee, S., Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chemistry*, **102**: 1233–1240.
- Aruoma, O. (1996). Assessment of potential prooxidant and antioxidant actions. *JAOCs*, **73**: 1617-1625.
- Barthakur, N. N., Arnold, N. P., Alli, I. (1995). The Indian laburnum (*Cassia fistula* L.) fruit: an analysis of its chemical constituents. *Plant Foods for Human Nutrition*, **47**: 55–62.
- Berker, K., Güçlü, K., Tor, I., Apak, R. (2007). Comparative evaluation of Fe (III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP) and ferricyanide reagents. *Talanta*, **72**: 1157-1165.
- Bianchi, M. L. P., Antunes, L. M. G. (1999). Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Revista de Nutrição Campinas*, **12**: 123-130.
- Boots, A. W., Haenen, G. R. M. M., Bast, A. (2008). Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology*, **585**: 325–337.
- Chew, K. K., Khoo, M. Z., Ng, S. Y., Thoo, Y. Y., Wan Aida, W. M., Ho, C. W., (2011). Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphon stamineus* extracts. *International Food Research Journal*, **18**: 1427–1435.
- da Silva, J. K., Cazarin, C. B. B., Colomeu, T. C., Batista, A. G., Meletti, L. M. M., Paschoal, J. A. R., Bogusz Júnior, S., Furlan, M. F., Reyes, F. G. R., Augusto, F., Maróstica Júnior, M. R., de Lima Zollner, R., (2013). Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: In vitro and in vivo study. *Food Research International*, **53**: 882-890.
- de Oliveira, A. C., Valentim, I. B., Silva, C.A., Bechara, E. J. H., de Barros, M. P., Mano, C. M., Goularta, M. O. F. (2009). Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. *Food Chemistry*, **115**: 469-475.
- de Oliveira, A. C., Valentim, I. B., Goulart, M. O. F., Silva, C. A., Bechara, E. J. H., Trevisan, M. T. S. (2009). Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Química Nova*, **32**: 689-702.
- Dhawan, K., Dhawan, S., Sharma, A. (2004). *Passiflora*: A review update. *Journal of Ethnopharmacology*, **94**: 1-23.

- Fernandez-Agullo, A., Pereira, E., Freire, M. S., Valentao, P., Andrade, P. B., Gonzalez-Alvarez, J., Pereira, J. A. (2013). Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts. *Industrial Crops & Products*, **42**: 126-132.
- Ferreira, I., Abreu, R. (2007). *Stress Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. Bioanálise IV*, 32-39.
- Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., Okuda, T. (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and scavenging effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **36**: 2090-2097.
- Halliwell, B. (1995). Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochemical Pharmacology*, **49**: 1341-1348.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine*, 4<sup>th</sup> ed., Oxford University Press: Oxford, **53**: 426-497.
- Imlay, J. A. (2008). Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide. *Annual Review of Biochemistry*, **77**: 755-776.
- Ismail, H., Chan, K., Mariod, A., Ismail, M. (2007). Teor de fenólicos e atividade antioxidante de melão (*Cucumis melo*) extratos metanólicos. *Food Chemistry*, **119**: 643-647.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., & Vivanco, J. M. (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions. *Food Chemistry*, **83**: 547-550.
- Jaakola, L., Hohtola, A. (2010). Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. *Plant, Cell & Environment*, **33**: 1239-1247.
- Janzantti, N. S., Macoris, M. S., Garruti, D. S., Monteiro, M. (2012). Influence of the cultivation system in the aroma of the volatil compounds and total antioxidante activity of passion fruit. *Food Science and Technology*, **46**: 511-518.
- Jorge, N.; Malacrida, C. R.; Angelo, P. M.; Andreo, D. (2009). Composição centesimal e atividade antioxidante do extrato de sementes de maracujá (*Passiflora edulis*) em óleo de soja. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, **39**: 380-385.
- Kumazawa, S., Hamasaka, T., Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*, **84**: 329-339.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., Fett, R. (2005) Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **25**: 726-732.
- Liu Q., Yao H. (2007). Antioxidant activities of barley seeds extracts. *Food Chemistry*. **102**: 732-737.
- Liu, S. C., Lin, J. T., Wang, C. K., Chen H. Y., Yang, D. J. (2009). Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) flowers. *Food Chemistry*, **114**: 577-581.
- Magalhães, L. M., Segundo, M. A., Lima, J. L. F. C. (2008) Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta*, **613**: 1-19.

- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez-Álvarez, J. A., Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry*, **135**: 1520-1526.
- Masteikova, R., Bernatoniene, J., Bernatoniene, R., Velziene, S. (2008). Antiradical activities of the extract of *Passiflora incarnata*. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, **65**: 577-583.
- Meir, S., Kanner, J., Akiri, B., & Hadas, S. P. (1995). Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **43**: 1813–1815.
- Mendes, L., Freitas, V., Baptista, P., Carvalho, M., (2011). Comparative antihemolytic and radical scavenging activities of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaf and fruit. *Food and Chemical Toxicology*, **49**: 2285-2291.
- Moure, A., Franco, D., Sineiro, J., Dominguez, H., Núñez, M. J., Lema, J. M. (2001) Antioxidant activity of extracts from *Gevuina avellana* and *Rosa rubiginosa* defatted seeds. *Food Research International*, **34**: 103-109.
- Oliveira, I., Baptista, P., Malheiro, R., Casal, S., Bento, A., Pereira, J. A. (2011). Influence of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruit ripening stage on chemical composition and antioxidant activity. *Food Research International*, **44**: 1401-1407.
- Oliveira, I., Coelho, V., Baltasar, R., Pereira, J. A., Baptista, P. (2009). Scavenging capacity of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves on free radicals. *Food and Chemical Toxicology*, **47**: 1507-1511.
- Pizzale, L., Bortolomeazzi, R., Vichi, S., Uberegger, E., & Conte, L. S. (2002). Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) and oregano (*Origanum onites* and *O. indercedens*) extracts related to their phenolic compound content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **82**: 1645–1651.
- Pabón, L. M. C., Turbay, S., Rojano, B., Álvarez, L. M., Restrepo, S. L., Álvarez, J. M., Bonilla, K. C., Ochoa O, C., Sánchez, N. (2011). Algunas especies de *Passiflora* y su capacidad antioxidante. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, **16**: 354-363.
- Prasad, K., Yang, B., Yang, S., Chen, Y., Zhao, M., Ashraf, M., Jiang, W. (2009). Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityrosinase activities from litchi (*Litchi sinensis* Sonn.) seeds. *Food Chemistry*, **116**: 1-7.
- 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.
- Razali, N., Mat-Junit, S., Abdul- Muthalib, A. F., Subramaniam, S., Abdul- Aziz, A. (2012). Effect of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from the leaves, seeds, veins and skins of *Tamarindus indica* L. *Food Chemistry*, **131**: 441-448.
- Rudnicki, M., de Oliveira, M. R., da Veiga Pereira, T., Reginatto, F. H., Dal- Pizzol, F., Moreira, J. C. F. (2007). Antioxidant and antiglycation properties of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* extracts. *Food Chemistry*; **100**: 719 – 24.



- Sasaki, Y., Kawaguchi, S., Kamaya, A., Ohshita, M., Kabasawa, K., Iwamaa, K., Taniguchi, K., Tsuda, S. (2002). The comet assay with 8 mouse organs: Results with 39 currently used food additives. *Mutation Research*, **519**: 103–119.
- Shukla, S., Mehta, A., Bajpai, V. K., Shukla, S. (2009). In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. *Food Chemistry Toxicology*, **47**, 2338-2343.
- Siddhurajua, P., Mohanb, P.S., Becker, K. (2002). Studies on the antioxidant activity of Indian Laburnum (*Cassia fistula* L.): a preliminary assessment of crude extracts from stem bark, leaves, flowers and fruit pulp. *Food Chemistry*, **79**, 61–67.
- Sunithae, M., Devaki, K. (2009). Antioxidant activity of *Passiflora edulis* Sims leaves. *Indian Journal of Pharmacological Sciences*, **71**, 310-311.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. Jr. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, **16**, 144-158.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, **160**, 1–40.
- Zeraik, M. L., Yariwake, J. H., Wauters, J., Tits, M., Angenot, L (2012). Analysis of passion fruit rinds (*Passiflora edulis*): isorientin quantification by hptlc and evaluation of antioxidant (radical scavenging) capacity. *Quimica Nova*, **35**, 541-545.





## *CAPÍTULO 5*

Comparação da atividade  
antioxidante de polpa  
fresca e de polpa  
comercial de maracujá



## 5.1. INTRODUÇÃO

O consumo de frutas e legumes na dieta humana é considerado um fator relevante para manter um estilo de vida saudável, apresentando propriedades funcionais que trazem benefícios para a proteção da saúde. Este consumo tem sido associado à prevenção de certo tipo de doenças, como o cancro, doenças cardiovasculares e outras doenças graves, devido à presença de substâncias antioxidantes, em especial dos compostos fenólicos (Steinmetz e Potter, 1996).

No entanto, existem vários produtos de origem vegetal que são sazonais ou crescem apenas em determinadas zonas do globo e em condições específicas de humidade e temperatura, e, muitos desses produtos, têm vida útil de poucos dias, tornando-se indesejáveis e impróprios para consumo (Rickman *et al.*, 2007).

O maracujá, para além de possuir excelentes propriedades organoléticas, é rico em minerais, vitaminas e compostos fenólicos, incluindo flavonoides e antocianinas, tornando este fruto uma boa fonte natural de antioxidantes (Wenlkam, 1990; Casimir, *et al.*, 1981; Suntornsuk, *et al.*, 2002; Dhawan, *et al.*, 2004).

Embora este fruto se consiga produzir em certas regiões de Portugal sazonalmente, os frutos encontrados no mercado são importados e, para além do seu custo elevado, muitas vezes os frutos chegam já deteriorados, tornando-se indesejáveis e inseguros para consumo. No entanto, existem alternativas que podem levar este fruto a todo o mundo, independentemente da sua sazonalidade, com segurança e maior tempo de vida útil, como o congelamento, a desidratação e a conservação (Rickman *et al.*, 2007).

Neste tipo de transformações, os alimentos passam por processos indispensáveis que visam preservar a frescura e a integridade física do produto, bem como a segurança do seu consumo, de modo a que o produto tenha uma qualidade superior. No entanto, estes processos podem, de certa forma, ser prejudiciais no que toca a manter a qualidade do produto fresco (Schmidt *et al.*, 2005; Rickman *et al.*, 2007).

O branqueamento e a esterilização são processos térmicos, utilizados no processamento de produtos vegetais. Nos produtos congelados, o branqueamento é utilizado para inativar enzimas que possam continuar ativas no produto congelado, visto que a temperatura de congelamento geralmente utilizada durante o armazenamento (-18 °C) não inibe totalmente a atividade enzimática. Nas frutas, este processo não é

utilizado, visto que podia ser destruída a qualidade e frescura. Em vez disso, antes de congelar o produto, a fruta é envolvida numa calda de açúcar leve, ou, noutros casos, em ácido ascórbico, ácido cítrico ou dióxido de enxofre. Em produtos de conserva, o branqueamento é feito antes do fecho, de modo a retirar o ar do produto e do espaço livre das embalagens, melhorando o empacotamento (Rickman *et al.*, 2007). A esterilização nos produtos enlatados, é utilizada para inativar todos os microrganismos patogénicos, organismos deterioradores e enzimas endógenas que possam crescer sob condições normais de armazenamento. Os alimentos comercialmente estéreis podem conter um pequeno número de esporos bacterianos termorresistentes, que não se multiplicam no alimento. A maior parte dos alimentos enlatados é comercialmente estéril, tendo uma vida de prateleira de pelo menos dois anos. A deterioração destes produtos, ocorre, geralmente, devido a alterações não microbiológicas (Potter e Hotchkiss, 1995).

O branqueamento e a esterilização, sendo processos térmicos, e a acidificação de frutas congeladas, são especialmente prejudiciais para compostos bioativos sensíveis, como compostos fenólicos, vitamina C e tiamina, fazendo com que haja alteração ou redução desses compostos (Hamama e Nawar, 1991; Rickman *et al.* 2007; Campbell e Padilla-Zakour, 2013; Seybold *et al.*, 2004; Durance, 1997). Para além das alterações que possam ocorrer com o branqueamento, o processo de armazenamento e transporte são também responsáveis pela oxidação dos compostos bioativos presentes nos produtos, quer transformados, quer não-transformados.

Neste capítulo, levou-se a cabo um estudo comparativo entre polpas e sementes comerciais de maracujá e as polpas e sementes frescas de maracujá provenientes do norte de Portugal e utilizadas nos estudos anteriores, designadamente ao nível da respetiva atividade antioxidante, pH, sólidos solúveis totais e humidade. Desta forma tenta-se verificar o possível efeito dos processamentos tecnológicos da indústria transformadora na polpa e sementes de maracujá.

## 5.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.2.1. Padrões e Reagentes

Os reagentes e padrões metanol, 2-2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH) e ácido gálico e cloreto de ferro (II) adquiridos à Sigma (St. Louis, MO, EUA). Dihidrogenofosfato de sódio hidratado hexacianoferrato de potássio (III), ácido tricloroacético e reagente de Folin-Ciocalteu foram obtidos da Merck (Darmstadt, Alemanha). Os reagentes ácido clorídrico, carbonato de sódio anidro e hidrogenofosfato dissódico desidratado foram obtidos a partir de Panreac (Barcelona, Espanha).

### 5.2.2. Amostras

Neste estudo, as amostras consistiram em várias latas de polpas de maracujá de conserva, de cinco marcas comerciais distintas e adquiridas em supermercados de Bragança, as quais foram identificadas como amostra 1, 2, 3, 4, e 5.

O rótulo destas polpas apresentava algumas informações relevantes a considerar neste estudo:

- Amostra 1 – Ingredientes: Polpa de maracujá (89,5%) e açúcar; Origem: Tailândia.
- Amostra 2 – Ingredientes: Polpa de maracujá, açúcar, água e goma guar; Origem: Tailândia.
- Amostra 3 – Ingredientes: Polpa de maracujá, água, açúcar e espessante E-415 (goma xantana); Origem: Tailândia.
- Amostra 4 – Ingredientes: Polpa de maracujá e açúcar; Origem: Tailândia.
- Amostra 5 – Ingredientes: Polpa de maracujá, água, açúcar e espessante E-415 (goma xantana); Origem: Tailândia.

Em laboratório, foram separadas as sementes da polpa respetiva, exceto na amostra 2, uma vez que o conteúdo da lata não apresentava sementes. Ambas as matrizes foram congeladas para posterior liofilização, retirando antes uma parte da polpa para avaliação do pH e do teor de sólidos solúveis totais.

Parte da polpa e das sementes que mostraram melhor atividade antioxidante no capítulo anterior, foram utilizadas para comparação e identificadas como amostra controle.



**Figura 18.** A – Polpas em conserva estudadas; B – Aspetto de uma das polpas em conserva com sementes.

### 5.2.3. Caracterização das amostras

#### 5.2.3.1 Teor de humidade

O teor de humidade foi feito em triplicado e determinado a partir do rendimento de liofilização.

#### 5.2.3.2. pH

A determinação do pH foi efetuada em triplicado por potenciometria, utilizado um potenciómetro com eléctrodo de penetração, modelo pH 210, HANNA Instruments, Rhode Island, USA. A calibração do equipamento foi realizada com soluções tampão comerciais de pH=7,01 e pH=4,01 à temperatura ambiente.

#### 5.2.3.3. Sólidos solúveis totais

O teor de sólidos solúveis totais (SST), expressos em °Brix, corresponde à percentagem, de sólidos dissolvidos num produto (açúcares, polissacarídeos, proteínas, minerais), tendo sido determinado nas diversas polpas de maracujá. Os SST foram



determinados por refratometria, num refratómetro de Abbe. Primeiramente ajustou-se o aparelho ao valor zero da escala Brix. Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur colocaram-se algumas gotas das polpas sobre o prisma inferior, limpo e seco. O prisma foi fechado, e procurou-se na ocular a linha de separação entre a região iluminada e a região escura, e quando a linha de separação se posicionou a divisão entre as duas regiões, exatamente no centro do retículo, procedeu-se à leitura.

#### **5.2.4. Preparação dos extratos e extração metanólica**

A extração das sementes e da polpa das amostras comerciais foi levada a cabo de acordo com a metodologia descrita na secção 4.2.3. do Capítulo 4, sendo usado o metanol como solvente de extração uma vez que tanto polpa como sementes demonstraram maior capacidade redutora total e atividade antioxidante com este solvente (Capítulo 4).

#### **5.2.5. Atividade antioxidante**

A atividade antioxidante das amostras, foi analisada por diferentes métodos químicos: avaliação do poder redutor, avaliação do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) e determinação da capacidade redutora total pelo método Folin-Ciocalteu.

##### ***5.2.5.1. Determinação da capacidade redutora total***

A metodologia seguida foi a já descrita anteriormente no ponto 3.2.5.1., no capítulo 3.

##### ***5.2.5.2. Determinação do efeito bloqueador de radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH<sup>•</sup>)***

A metodologia seguida foi a já descrita anteriormente no ponto 3.2.5.2., no capítulo 3.

### **5.2.5.3. Poder Redutor**

A metodologia seguida foi a já descrita anteriormente no ponto 3.2.5.3., no capítulo 3.

### **5.2.6. Análise estatística**

Para levar a cabo este estudo comparativo entre as polpas e sementes comerciais e as polpas e sementes frescas provenientes do norte de Portugal e utilizadas nos estudos anteriores, designadamente ao nível da respetiva atividade antioxidante, pH, SST e humidade das matrizes estudadas, recorreu-se à análise de variâncias *one-way* ANOVA, seguida do teste *post-hoc* HSD de Tukey quando os pressupostos da normalidade e homogeneidade de variâncias se verificaram, ou com correção de Welch, no caso do requisito da homogeneidade de variâncias não ser cumprido, como descrito em Maroco (2010). Nesta situação quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste de Dunnett T3's.

## 5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.3.1. Caracterização das polpas e sementes comerciais

A Tabela 14 mostra que nos parâmetros avaliados – teor de humidade das sementes e das polpas, teor de sólidos solúveis totais e pH das polpas – foram observadas diferenças muito significativas entre as diversas amostras ( $p < 0,001$ ). Comparativamente à percentagem média de humidade das sementes controlo (2,52%), verificou-se que as sementes da amostra 4 apresentaram um teor médio de humidade próximo (5,32%). As sementes da amostra 5 foram as segundas com mais humidade (15,74%), seguindo-se as da amostra 1 (9,37%), e, com a menor percentagem, as da amostra 3 (8,50%).

O diferente grau de maturação dos frutos no momento em que foram colhidos, pode ser uma influência na quantidade de água que a semente apresenta, visto que as sementes têm tendência à perda de humidade à medida que vão amadurecendo. Sabe-se que os fatores atmosféricos são importantes no que toca à humidade da semente, influenciando a maturação e por consequência a humidade (Stein et al., 1974). O modo de cultivo pode também influenciar na diferença do teor de humidade, bem como a variedade do maracujá. Alguns autores (Malacrida e Jorge, 2012; Kobori e Jorge, 2005; Giuffré, 2007; Ferrari et al., 2003; Liu et al., 2008), estudaram, entre outros parâmetros, o teor de humidade de sementes de maracujá de várias variedades e de vários locais, incluindo a *P. edulis Sims edulis*, onde obtiveram resultados superiores às sementes controlo, mas idênticos às amostras 1 e 3 e inferiores às amostras 4 e 5, variando de 7,38 a 10,80%.

Relativamente à polpa, apesar de ter havido diferenças muito significativas entre amostras na percentagem média de humidade, esta diferença não foi tão grande quanto a das sementes. A polpa controlo apresentou a maior percentagem média, não apresentando diferenças em relação à polpa da amostra 4 (83,56 e 83,77%, respetivamente). As restantes polpas apresentaram valores que variaram entre 68,71 e 78,00%, sendo a menor percentagem média a da amostra 5. Jiménez et al. (2011) estudaram este parâmetro em *Passiflora edulis Sims edulis* provenientes da Colômbia durante a maturação, onde as percentagens médias de humidade variaram entre 82,1 e

85,3%, estando assim em consonância com as polpas controlo e da amostra 4 estudadas no presente trabalho.

**Tabela 14.** Humidade (%) das sementes e das polpas controlo e comerciais, teor de sólidos solúveis totais (°Brix) e pH das polpas comerciais (média ± desvio padrão).

| Amostra           | Sementes                     | Polpa                         |                               |                              |
|-------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
|                   | Humidade (%)                 | Humidade (%)                  | SST (°Brix)                   | pH                           |
| <b>Controlo</b>   | <b>2,52±0,03<sup>a</sup></b> | <b>83,56±0,58<sup>d</sup></b> | <b>14,37±0,06<sup>a</sup></b> | <b>2,61±0,01<sup>a</sup></b> |
| <b>1</b>          | 9,37±0,23 <sup>d</sup>       | 78,00±0,20 <sup>c</sup>       | 20,20±0,36 <sup>c</sup>       | 3,44±0,01 <sup>d</sup>       |
| <b>2</b>          | n.c.                         | 72,40±0,04 <sup>b</sup>       | 32,90±0,00 <sup>f</sup>       | 3,34±0,00 <sup>c</sup>       |
| <b>3</b>          | 8,50±0,41 <sup>c</sup>       | 77,01±0,24 <sup>c</sup>       | 21,07±0,06 <sup>d</sup>       | 3,45±0,00 <sup>d</sup>       |
| <b>4</b>          | <b>5,32±0,43<sup>b</sup></b> | <b>83,77±0,02<sup>d</sup></b> | <b>14,93±0,06<sup>b</sup></b> | <b>3,20±0,00<sup>b</sup></b> |
| <b>5</b>          | 15,74±0,02 <sup>e</sup>      | 68,71±0,80 <sup>a</sup>       | 30,80±0,00 <sup>e</sup>       | 3,76±0,00 <sup>e</sup>       |
| <b>Valor de p</b> | <0,001*                      | <0,001**                      | <0,001**                      | <0,001*                      |

n.c. não continha.

a-f Os valores médios apresentados em cada coluna, com letras diferentes diferem significativamente,  $p < 0,05$ .

\*Os valores de  $p$  foram obtidos a partir da análise *one-way* ANOVA após se terem verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey ( $p > 0,05$  pelo teste de Levene).

\*\*Os valores de  $p$  foram obtidos a partir da análise *one-way* Welch ANOVA, uma vez que não se verificou uma homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste de Dunnett T3's ( $p < 0,05$  pelo teste de Levene).

Quanto aos SST, a polpa controlo apresentou teor médio mais baixo, 14,37 °Brix, comparativamente às polpas comerciais. Destas, a polpa da amostra 4 foi a que apresentou o menor valor de SST (14,93 °Brix), seguida da polpa da amostra 1 (20,20 °Brix), a polpa da amostra 3 (21,07 °Brix), e, com os teores mais elevados, a polpa da amostra 5 (30,80 °Brix) e a polpa da amostra 2 (32,90 °Brix). Estas diferenças podem ter relação com o diferente grau de maturação dos frutos processados, uma vez que, normalmente, em indústrias transformadoras de géneros alimentícios produtoras de polpas de frutas, sumos, néctares, concentrados de frutas, entre outros, os produtos de origem vegetal utilizados encontram-se no pico da maturação, e ao longo da maturação os frutos tendem a apresentar maior teor de sólidos solúveis totais. Jiménez *et al.* (2011), por exemplo, verificaram que o teor em sólidos solúveis totais era proporcional ao grau de maturação, aumentando o primeiro à medida que aumentou o estágio de maturação. Eles atribuíram este fato ao comportamento dos hidratos de carbono durante o amadurecimento, ao ocorrer a hidrólise do amido em açúcares.

O modo de cultivo é também um fator a considerar no teor de sólidos solúveis totais. A maioria das polpas de frutas comerciais processadas por indústrias alimentares,

são produzidas a partir de frutas cultivadas de modo convencional, de maneira a maximizar a produção e os lucros. Vários estudos apontaram o cultivo convencional como sendo aquele que resulta num maior teor de SST comparativamente ao modo de produção biológico, tendo variado o primeiro de 13,49 a 15,42 °Brix e o segundo de 11,90 a 13,80 °Brix (Amaro e Monteiro, 2001; Janzantti *et al.*, 2012; Macoris *et al.*, 2011). No presente estudo, a polpa controlo e a polpa da amostra 4 estiveram de acordo com os valores de SST obtidos pelos mesmos autores para o cultivo convencional, apesar de a polpa controlo ter sido obtida de maracujás produzidos em modo de cultivo biológico. Este resultado pode ser influência de um conjunto de fatores. A época do ano é apontada como fator condicionante deste parâmetro (Amaro e Monteiro, 2001; Medeiros *et al.*, 2009), bem como a variedade e genótipo do maracujá (Medeiros *et al.*, 2009). Medeiros *et al.* (2009), verificaram no seu estudo que o teor de sólidos solúveis totais foi superior nos frutos de maracujá-roxo do que nos frutos de maracujá-amarelo havendo diferenças também nos diferentes genótipos dentro da mesma variedade, e, como já foram referidos, o grau de maturação a região de cultivo e por consequência, o tipo de solo e clima, são também importantes na avaliação deste parâmetro. Na polpa das amostras 1, 2, 3 e 5 os valores de SST foram bastante superiores mesmo em relação aos valores alcançados por outros autores no cultivo convencional do maracujá (Amaro e Monteiro, 2001; Janzantti *et al.*, 2012; Macoris *et al.*, 2011). O teor de SST elevado na maioria das polpas comerciais, pode ter relação com a adição de açúcar. Outro facto a considerar, é a adição de espessantes na polpa das amostras 2, 3 e 5, que foram as polpas com maior teor de SST, levando possivelmente ao seu incremento.

O pH da amostra controlo, com um valor médio de 2,61, mostrou ser mais baixo do que o de qualquer outra polpa comercial. As polpas enlatadas apresentaram valores médios que variaram entre 3,20 (polpa da amostra 4) e 3,76 (polpa da amostra 5). A polpa das amostras 1 e 3 não variaram significativamente entre si, tendo valores médios de 3,44 e 3,45, respetivamente.

Algumas diferenças neste parâmetro podem estar relacionadas com fatores como a maturação, visto que as frutas utilizadas para conserva apresentam normalmente um elevado grau de maturação, apresentando assim maior pH que as frutas com menor grau de maturação. Jiménez *et al.* (2011), confirmaram no seu trabalho que a polpa de *P. edulis* Sims *edulis* apresentou menor pH quando mais verdes (2,45), comparativamente aos mais maduros (2,77). Amaro e Monteiro (2001) obtiveram uma conclusão idêntica.

A adição de água referida em alguns nos rótulos das polpas comerciais, pode também ter ocasionado estas diferenças de pH, fazendo com que este subisse, como foi o caso da amostra 5. No entanto, na amostra 3, apesar de também ter sido adicionada a água à polpa, o pH foi idêntico ao da polpa da amostra 1, onde não foi adicionada a água. Esta contradição, pode estar relacionada com outros fatores com o mesmo nível de importância, que, tal como influenciam os SST, podem também influenciar o valor do pH das polpas. Esses fatores podem ser o modo de cultivo, a variedade, o genótipo e a época do ano, influenciado talvez pelas diferenças climáticas.

No modo de cultivo, embora alguns autores apontem o convencional como sendo aquele que apresenta maior valor de pH comparativamente ao modo de cultivo biológico (Macoris *et al.*, 2011; Janzantti *et al.*, 2012), outros autores alcançaram resultados contrários (Amaro & Monteiro, 2001). No entanto, os resultados mesmo estando de acordo em relação ao modo de cultivo, variam de estudo para estudo. Enquanto os primeiros autores revelaram valores médios que variaram de 3,29 a 3,53 na polpa de maracujá cultivado convencionalmente e entre 3,16 e 3,36 cultivado de acordo com o modo de produção biológico, os segundos autores, apesar de ter sucedido o contrário, obtiveram valores de pH mais baixos, que variaram de 2,63 a 2,76 em cultivo convencional e de 2,64 a 2,95 em cultivo biológico. Assim sendo, torna-se difícil comparar os nossos resultados com os destes autores porque para além de não haver informações acerca do modo de cultivo dos maracujás das polpas enlatadas, os resultados são muito diversos e contraditórios.

Medeiros *et al.* (2009), verificaram também diferenças nos vários genótipos das variedades de maracujá-roxo e maracujá-amarelo, tendo os valores médios oscilado entre 2,74 e 3,44. Apesar destes autores não terem verificado diferenças do valor de pH em diferentes épocas, Amaro e Monteiro (2001), constataram que, em geral, a polpa de maracujás-amarelos provenientes de São Paulo, Brasil, no mês de maio, apresentou maior valor de pH comparado com o mês de abril e junho.

Um facto também a considerar, é que em algumas polpas foram adicionados espessantes, como a goma xantana na polpa da amostra 3 e da amostra 5, e a goma guar, na polpa da amostra 2. Estes espessantes podem perder a sua estabilidade em pH muito baixo obrigando assim ao acerto do pH nas polpas em que é adicionado espessante. Por exemplo, a estabilidade da goma xantana é afetada a pH < 2,5 (Pettitt, 1982).

### 5.3.2. Atividade antioxidante

#### 5.3.2.1. Rendimento de extração e capacidade redutora total

##### 5.3.2.1.1. Sementes

Na Tabela 15 encontram-se detalhadas as percentagens médias de rendimento de extração relativamente às sementes das polpas controlo e comerciais. Foram observadas diferenças muito significativas no rendimento de extração das várias sementes ( $p < 0,001$ ), que variaram entre 3,90 e 5,42%, sendo a menor percentagem correspondente aos extratos das sementes da amostra 3 e a maior nas sementes da amostra 5. O rendimento de extrato das sementes controlo encontrou-se dentro do intervalo do das sementes comerciais, com uma percentagem de 4,68%.

**Tabela 15.** Rendimento de extração (%) e valores da capacidade redutora total (mg GAE/g de extrato) das sementes e polpas controlo e comerciais (média±desvio padrão).

| Amostras          | Sementes               |   | Polpa                   |   |
|-------------------|------------------------|---|-------------------------|---|
|                   | Rendimento (%)         | Capacidade redutora total (mg GAE/g de extrato) | Rendimento (%)          | Capacidade redutora total (mg GAE/g de extrato) |
| Controlo          | 4,68±0,29 <sup>c</sup> | 64,01±3,13 <sup>d</sup>                         | 44,63±2,88 <sup>a</sup> | 13,68±0,67 <sup>f</sup>                         |
| 1                 | 4,34±0,19 <sup>b</sup> | 42,24±0,81 <sup>a</sup>                         | 83,45±1,18 <sup>d</sup> | 2,50±0,02 <sup>d</sup>                          |
| 2                 | n.c.                   | n.c.  | 78,85±1,15 <sup>c</sup> | 1,26±0,03 <sup>a</sup>                          |
| 3                 | 3,90±0,16 <sup>a</sup> | 44,76±1,25 <sup>b</sup>                         | 83,98±0,27 <sup>d</sup> | 1,89±0,01 <sup>c</sup>                          |
| 4                 | 4,29±0,34 <sup>b</sup> | 58,63±1,41 <sup>c</sup>                         | 72,38±1,93 <sup>b</sup> | 7,03±0,05 <sup>e</sup>                          |
| 5                 | 5,42±0,13 <sup>d</sup> | 43,58±1,34 <sup>a,b</sup>                       | 78,65±1,44 <sup>c</sup> | 1,37±0,02 <sup>b</sup>                          |
| Valor de <i>p</i> | <0,001*                | <0,001*   | <0,001*                 | <0,001**  |

n.c. não continha.

a-e Os valores médios apresentados em cada coluna, com letras diferentes diferem significativamente,  $p < 0,05$ .

\*Os valores de *p* foram obtidos a partir da análise *one-way* ANOVA após se terem verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey ( $p > 0,05$  pelo teste de Levene).

\*\*Os valores de *p* foram obtidos a partir da análise *one-way* Welch ANOVA, uma vez que não se verificou uma homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste de Dunnett T3's ( $p < 0,05$  pelo teste de Levene).

A capacidade redutora total destes extratos mostrou ter diferenças muito significativas entre si ( $p < 0,001$ ). Na Tabela 15, detalham-se os teores médios dos extratos das sementes das polpas enlatadas. As sementes controlo foram as que

apresentaram maior capacidade redutora total com 64,01 mg GAE/g de extrato, seguindo-se as sementes da amostra 4, com um teor médio de 58,63 mg GAE/g de extrato. Os teores médios foram conseguidos, por ordem decrescente, nos extratos das sementes das amostras 3, 5 e 1, com valores que não diferiram muito entre si (44,76; 43,58 e 42,24 mg GAE/g de extrato, respetivamente).

#### **5.3.2.1.2. Polpa**

Nas polpas, tanto no rendimento como na capacidade redutora total, as diferenças entre amostras foram muito significativas ( $p < 0,001$ ) (Tabela 15). O maior rendimento foi obtido na extração da polpa da amostra 3 (83,98%), que não se diferenciou do rendimento de extração da polpa da amostra 1 (83,45%), seguido da amostra 2, (78,85%), da amostra 5 (78,65%) e da amostra 4 (72,38%).

O facto de as amostras das polpas exibirem um rendimento de extrato muito elevado, pode estar relacionado com a elevada quantidade de açúcares solúveis presentes nas polpas que, será ainda maior nas polpas em conserva uma vez que lhes é adicionado açúcar. A adição de espessantes nas polpas das amostras 2, 3 e 5, ajudou também ao aumento do rendimento.

As polpas comerciais apresentaram capacidade redutora total entre 7,03 e 1,26 mg GAE/g extrato, o que foi muito inferior ao teor médio da amostra controlo (13,68 mg GAE/g extrato). Para além disso, nas polpas constata-se que apesar do rendimento de extração ser muito menor na polpa controlo (não processada), a capacidade redutora total é muitíssimo superior à das polpas comerciais. A explicação para tal deve prender-se com o facto de o processamento térmico afetar os compostos com propriedades antioxidantes das polpas comerciais, alterando ou reduzindo esses compostos (Rickman *et al.*, 2012) enquanto na polpa fresca (controlo) os extratos serão mais ricos nestes compostos.

A capacidade redutora dos extratos de sementes e polpas podem variar mesmo dentro da mesma espécie. Algumas diferenças podem estar relacionadas com diversos fatores como a variedade, grau de maturação, época do ano, modo de cultivo, tipo de solo, clima, fatores genéticos e o modo de processamento industrial (Martínez *et al.*, 2012; Campbell e Padilla-Zakour, 2013). A baixa quantidade de compostos redutores na polpa, talvez esteja também relacionada com a presença de pró oxidantes gerados pela

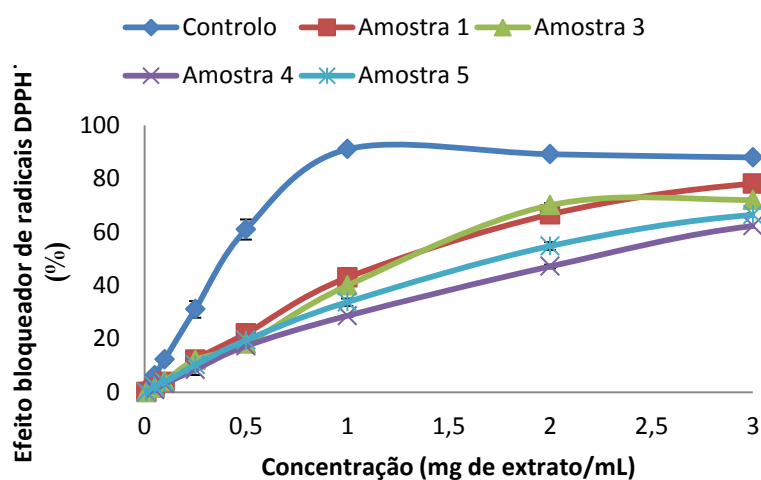


elevada quantidade de açúcares presentes na polpa dos frutos, particularmente mono e dissacarídeos (Barthakur *et al.*, 1995; Siddhuraju *et al.*, 2002).

### 5.3.2.2. Efeito bloqueador de radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH<sup>•</sup>)

#### 5.3.2.2.1. Sementes

O efeito bloqueador de radicais livres de DPPH dos extratos das sementes das várias amostras aumentou com a concentração de extrato, mostrando a sua atividade biológica (Figura 19). Em todas as concentrações os extratos das sementes enlatadas apresentaram inibições mais baixas do que a polpa controlo. As sementes das amostras 1 e 3 foram as que mostraram melhores percentagens de efeito inibição. Pelo contrário, as sementes da amostra 5 foram as que apresentaram menor percentagem.



**Figura 19.** Valores do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH obtidos para diferentes concentrações de extratos preparados a partir das diferentes amostras de sementes de maracujá (média±desvio padrão).

Quanto aos EC<sub>50</sub> obtidos, foram observadas diferenças muito significativas ( $p < 0,001$ ) entre as diferentes amostras de sementes (Tabela 16). As sementes controlo apresentaram um valor de EC<sub>50</sub> bastante mais baixo (0,41 mg/mL), tendo por isso maior efeito bloqueador.

As sementes das amostras 1 e 3 não diferiram significativamente, e foram, das amostras comerciais, as que apresentaram melhor efeito bloqueador, tendo o valor de EC<sub>50</sub> mais baixo (1,30 e 1,33 mg/mL, respetivamente). As sementes com maior EC<sub>50</sub> e portanto com menor efeito bloqueador foram, as das amostras 4 e 5 com valores respetivos de 1,77 e 2,19 mg/mL.

Tais resultados indicam que as sementes contidas nas polpas enlatadas têm menor efeito bloqueador que as sementes *in natura*.

**Tabela 16.** Valores de EC<sub>50</sub> (mg de extrato/mL) do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH e do poder redutor das sementes de maracujá e valores de EC<sub>25</sub> (mg de extrato/mL) do efeito bloqueador sobre os radicais livres de DPPH e do poder redutor das polpas de maracujá, em extratos obtidos com diferentes solventes (média±desvio padrão).

| Amostras          | Sementes                              |  | Polpa                                 |  |
|-------------------|---------------------------------------|--|---------------------------------------|--|
|                   | DPPH (EC <sub>50</sub> <sup>1</sup> ) | Poder redutor (EC <sub>50</sub> <sup>2</sup> ) | DPPH (EC <sub>25</sub> <sup>3</sup> ) | Poder redutor (EC <sub>25</sub> <sup>4</sup> ) |
| Controlo          | 0,41±0,03 <sup>a</sup>                | 1,03±0,06 <sup>a</sup>                         | 5,28±0,22 <sup>a</sup>                | 2,25±0,11 <sup>a</sup>                         |
| 1                 | 1,30±0,03 <sup>b</sup>                | 1,98±0,02 <sup>c</sup>                         | 24,27±0,47 <sup>c</sup>               | 17,92±1,00 <sup>c</sup>                        |
| 2                 | n.c.                                  | n.c.   | 49,54±0,64 <sup>f</sup>               | 34,57±1,42 <sup>f</sup>                        |
| 3                 | 1,33±0,03 <sup>b</sup>                | 2,31±0,02 <sup>e</sup>                         | 27,01±1,36 <sup>d</sup>               | 19,96±0,29 <sup>d</sup>                        |
| 4                 | 2,19±0,04 <sup>d</sup>                | 1,76±0,07 <sup>b</sup>                         | 6,59±0,12 <sup>b</sup>                | 3,17±0,24 <sup>b</sup>                         |
| 5                 | 1,77±0,07 <sup>c</sup>                | 2,17±0,07 <sup>d</sup>                         | 31,48±0,41 <sup>e</sup>               | 23,82±0,43 <sup>e</sup>                        |
| Valor de <i>p</i> | <0,001**                              | <0,001**                                       | <0,001**                              | <0,001**                                       |

<sup>1</sup> EC<sub>50</sub> (mg/mL): concentração efetiva a 50% de inibição de radicais de DPPH.

<sup>2</sup> EC<sub>50</sub> (mg/mL): concentração efetiva a 0,5 de absorvância.

<sup>3</sup> EC<sub>25</sub> (mg/mL): concentração efetiva a 25% de inibição de radicais de DPPH.

<sup>4</sup> EC<sub>25</sub> (mg/mL): concentração efetiva a 0,25 de absorvância.

n.c. não continha.

a-f Os valores médios apresentados em cada coluna, com letras diferentes diferem significativamente, *p*<0,05.

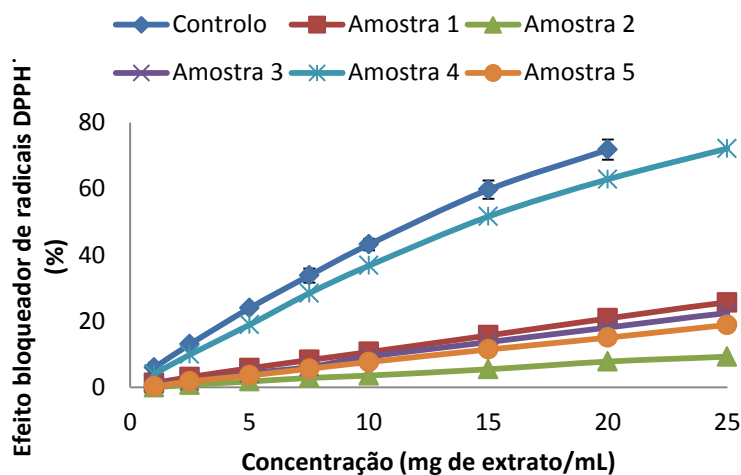
\*Os valores de *p* foram obtidos a partir da análise *one-way* ANOVA após se terem verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo (*p*<0,05) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey (*p*>0,05 pelo teste de Levene).

\*\*Os valores de *p* foram obtidos a partir da análise *one-way* Welch ANOVA, uma vez que não se verificou uma homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo (*p*<0,05) foi aplicado o teste de Dunnett T3's (*p*<0,05 pelo teste de Levene).

#### 5.3.2.2.2. Polpa

As amostras das polpas estudadas mostraram ter atividade biológica, uma vez que quando aumentou a concentração, aumentou também a percentagem de inibição. Mais uma vez, a polpa controlo foi aquela que melhor percentagem de inibição teve. A polpa da amostra 4 foi a que se aproximou mais das percentagens da polpa controlo, enquanto as das amostras 1, 3, 5 e 2 apresentaram percentagens de inibição muito baixas

em concentrações mais elevadas. Enquanto que a 20 mg/mL as polpas controlo e da amostra 4 apresentaram percentagens na ordem dos 70 e 60%, respetivamente, as restantes amostras apresentavam à mesma concentração percentagens na ordem dos 5 a 20%.



**Figura 20.** Efeito bloqueador de radicais DPPH' obtidos para diferentes concentrações de extratos preparados a partir das diferentes amostras de polpa de maracujá (média±desvio padrão).

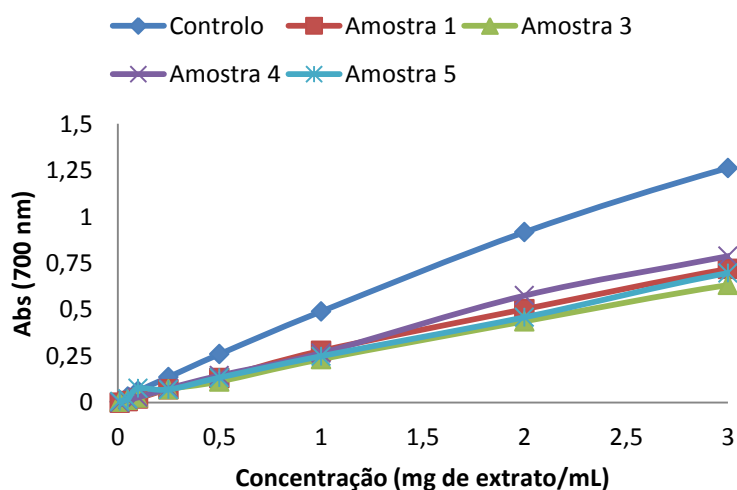
Relativamente aos valores de EC<sub>25</sub>, as amostras apresentaram diferenças muito significativas ( $p < 0,001$ ) entre si (Tabela 16). A polpa controlo apresentou maior atividade antioxidante, tendo o valor de EC<sub>25</sub> mais baixo (5,28 mg/mL). A polpa da amostra 4 apresentou um EC<sub>25</sub> próximo da polpa controlo (6,59 mg/mL) e foi, das polpas enlatadas, a que mostrou ter melhor efeito bloqueador. Pelo contrário, a polpa das amostras 1, 3, 5 e 2 foram por ordem decrescente as que apresentaram menor efeito bloqueador de radicais DPPH', tendo então maiores valores de EC<sub>25</sub> (24,27; 27,01; 31,48 e 49,54, respetivamente).

### 5.3.2.3. Poder Redutor

#### 5.3.2.3.1. Sementes

Na Figura 21 podemos observar que o aumento da concentração das soluções implicou um aumento do poder redutor, mostrando haver atividade biológica em todos os extratos das sementes estudadas. O poder redutor do extrato das sementes controlo

foi superior aos restantes extratos. Relativamente às sementes das diferentes amostras, o poder redutor não foi muito variável. O extrato de sementes que revelou ter maior poder redutor foi o da amostra 4, enquanto o menor mostrou ser o da amostra 3. No entanto, não se verificaram grandes alterações entre as diferentes amostras estudadas.



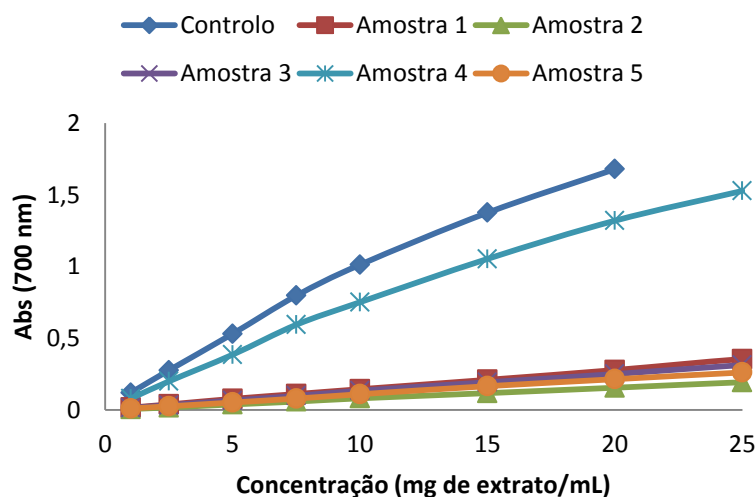
**Figura 21.** Poder redutor das diferentes concentrações de extratos preparados a partir das diferentes amostras de sementes de maracujá (média±desvio padrão).

Os valores de  $EC_{50}$  dos diferentes extratos variaram significativamente ( $p < 0,001$ ). Estes valores, vieram confirmar que o extrato das sementes controlo foi o aquele que mostrou ter o maior poder redutor pois teve o valor mais baixo de  $EC_{50}$  (1,03 mg/mL). Dos restantes, o extrato da amostra 4 teve o menor valor entre eles (1,76 mg/mL), sendo mais uma vez, dos comerciais, o extrato com melhor atividade antioxidante avaliada por este indicador, e a pior, a amostra 5 (2,17 mg/mL). Com os valores de  $EC_{50}$  obtidos, verificamos que os extratos das sementes das várias amostras comerciais não mostraram ter um forte poder redutor.

#### 5.3.2.3.2. Polpa

Verificou-se que as amostras 1, 2, 3 e 5 apresentaram um poder redutor semelhante, não se detetando grandes variações entre elas. Mesmo em concentrações elevadas, os extratos da polpa destas marcas mostraram ter um poder redutor baixo, onde a 25mg extrato/mL, não tinham ainda atingido a absorvância de 0,5 aos 700nm. O extrato da polpa da amostra 4, revelou valores mais interessantes em relação às amostras anteriormente referidas. A uma concentração de 7,5 mg extrato/mL, o extrato desta

amostra já tinha atingido a absorvância de 0,5 a 700 nm e, às 25 mg extrato/mL a sua absorvância foi na ordem dos 1,5, sendo bastante superior em relação às outras amostras. O extrato da polpa da amostra 4, foi também o mais próximo do extrato da polpa controlo, a uma concentração de 20 mg/mL apresentavam diferenças de aproximadamente 0,5 Abs. (Figura 22).



**Figura 22.** Poder redutor das diferentes concentrações de extratos preparados a partir das diferentes amostras de polpas de maracujá (média±desvio padrão).

Os valores de  $EC_{50}$  determinados para as diferentes amostras de polpa (Tabela 16), verificou-se que o valor conseguido na amostra 4 (3,17 mg/mL) foi mais próximo do da polpa controlo (2,25 mg/mL). As restantes amostras apresentaram valores de  $EC_{25}$  muito superiores, logo com um poder redutor muito mais baixo variando de 17,92 mg/mL, na amostra 1, a 34,57 mg/mL, na amostra 2.

Como já foi referido, as polpas comerciais passam por processos térmicos que são bastante prejudiciais ao nível da destruição e redução dos compostos bioativos dos frutos. O maracujá é uma fonte de vitamina C, que, como sendo um composto muito termolábil, provavelmente foi um dos antioxidantes destruídos durante o processamento térmico, e por isso, o poder redutor das polpas foi baixo.

## 5.4. CONCLUSÃO

Este estudo mostrou que as sementes de maracujá estudadas, apesar de processadas, apresentam uma fração significativa de compostos antioxidantes em relação às sementes frescas. No entanto, o teor de humidade foi mais elevado, e talvez tenha sido alterado com os processos de conservação. A polpa enlatada, indicou ser bastante diferente da polpa fresca tanto em relação aos SST e pH, como em relação aos compostos antioxidantes, não sendo observada uma atividade antioxidante relevante. As polpas enlatadas sofreram processos térmicos que resultam em perdas significativas dos seus compostos bioativos. O transporte e armazenamento destas frutas podem ter também contribuído na oxidação dos mesmos compostos. No entanto, a polpa da amostra 4 foi, em geral, a mais próxima da polpa controlo, sendo por possível que haja polpas de várias amostras, não estudadas aqui, que podem estar bastante próximas da polpa fresca a nível de antioxidantes, tornando-se por isso uma alternativa ao seu consumo. Quanto às sementes, as da amostra 3 foram as que tiveram valores mais próximos das sementes frescas.

Existe uma diversidade enorme de polpas enlatadas no mercado, não só pelos diferentes ingredientes, mas também se pode comprovar com as diferenças de SST, pH atividade antioxidante. Nesse sentido, as diferenças podem estar relacionadas não só com o tipo de processamento e ingredientes, como também com a variedade, modo de cultivo, maturação dos frutos, região de cultivo, solo e clima.

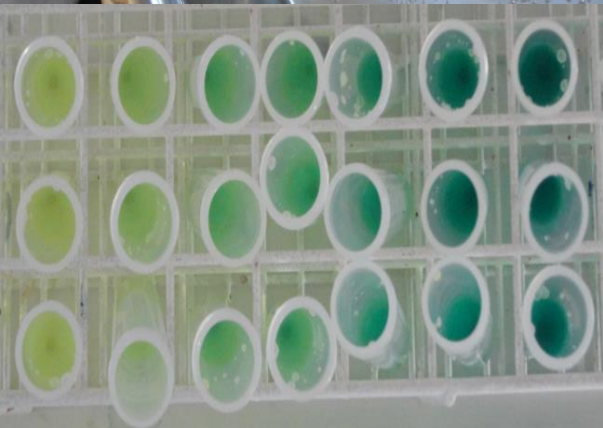
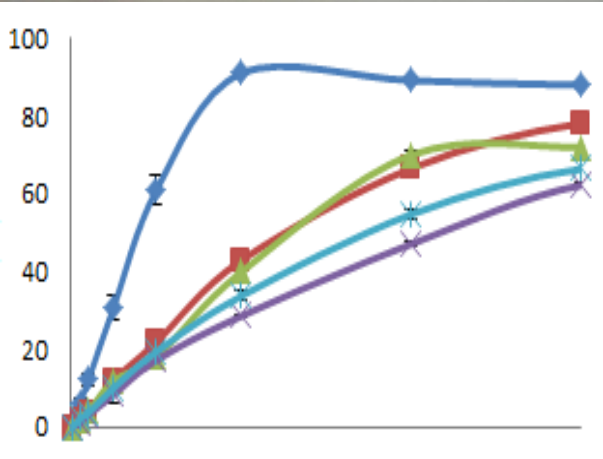
No futuro, seria importante realizar um estudo idêntico, mas com maracujás colhidos ao mesmo tempo e do mesmo maracujazeiro, de modo a poder-se comparar de uma forma mais precisa estes parâmetros, visto que existem diversos fatores que podem afetar a composição química do maracujá. Outra análise importante, seria estudar a melhor forma de processamento de modo a que a polpa não perdesse as suas características originais.

## 5.5. BIBLIOGRAFIA

- Amaro, A. P., Monteiro, M. (2001). Rendimento de extração da polpa de características físico-químicas do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) produzido por cultivo orgânico e convencional em relação à cor da casca. *Brazilian Journal of Food and Nutrition*, **12**: 171-184.
- Barthakur, N. N., Arnold, N. P., Ali, I. (1995). The Indian laburum (*Cassia fistula* L.) fruit: an analysis of its chemical constituents. *Plant Foods for Human Nutrition*, **47**: 55-62.
- Campbell, O. E., Padilla-Zakour, O. I. (2013). Phenolic and carotenoid composition of canned peaches (*Prunus persica*) and apricots (*Prunus armeniaca*) as affected by variety and peeling. *Food Research International*, **54**: 448-455.
- Casimir, D., Keffor, J., Whittfield, F. (1981). Tecnology and flavor, chemistry of passion fruit juices and concentrates. *Advances in Food Research*, **27**: 243-295.
- Dharman, K., Dharman, S., Sharma, A. (2004). *Passiflora*: a review update. *Journal of Ethno-pharmacology*, **94**, 1-12.
- Dhawan, K., Dhawan, S., Sharma, A. (2004). *Passiflora*: A review update. *Journal of Ethnopharmacology*, **94**: 1-23.
- Durance, T. D. (1997). Improving canned food quality with variable retort temperature 460 processes. *Trends in Food Science and Technology*, **8**: 113-118.
- Ferrari, R. A., Colussi, F., Ayub, R. A. (2004). Characterization of by-products of passion fruit industrialization utilization of seeds. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **26**: 101-2.
- Giuffré, A. M. (2007). Chemical composition of purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims var. *edulis*) seed oil, *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, **84**: 87-93.
- Hamama, A.A., e Nawar, W. W. (1991). Thermal decomposition of some phenolic antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **39**: 1063–1069.
- Janzantti, N. S., Macoris, M. S., Garruti, D. S., Monteiro, M. (2012). Influence of the cultivation system in the aroma of the volátil compounds and total antioxidante activity of passion fruit. *Food Science and Technology*, **46**: 511-518.
- Jiménez, A. M., Sierra, C. A., Rodríguez-Pulido, F. J., González-Miret, M. L., Heredia, F. J., Osorio, C. (2011). Physicochemical characterisation of gulupa (*Passiflora edulis* Sims. F. *edulis*) fruit from Colombia during the ripening. *Food Research International*, **44**: 1912 –1918.
- Kobori, C. N., Jorge, N. (2005). Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. *Ciência e Agrotecnologia*, **29**: 1008-1014.
- Liu, S., Yang, F., Li, J., Zhang C., Ji, H., Hong P. (2008). Physical and chemical analysis of *Passiflora* seeds and seed oil from China. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **58**: 706-715.
- Macoris, M. S., Janzantti, N. S., Garruti, D. S., Monteiro, M. (2011). Volatile compounds from organic and conventional passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) pulp. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **31**: 430-435

- Malacrida, C. R., Jorge, N. (2012) Yellow Passion Fruit Seed Oil (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*): Physical and Chemical Characteristics. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **55**: 127-134.
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez-Álvarez, J. A., Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry*, **135**: 1520-6.
- Medeiros, S. A. F. de, Yamanishi, O. K., Peixoto, J. R., Pires, M. de C., Junqueira, N. T. V., Ribeiro, J. G. B. L. (2009). Caracterização físico-química de progênies de maracujá-roxo e maracujá-azedo cultivados no Distrito Federal. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **31**: 492-499.
- Pettitt, D. J. (1982). Em: Glicksman, M.. Food Hydrocolloids. Volume I. Boca Raton, Ed. CRC Press, 1982 (127-149).
- Potter, N. N., Hotchikiss, J. H.. Food Science. New York, Chapman & Hall, 1995.
- Rickman, J. C., Bruhn, C. M., & Barrett, D.M. (2007a). Review: Nutritional comparison of fresh, frozen, and canned fruits and vegetables. Part 1. Vitamins C and B and phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **87**: 930–944.
- Seybold, C., Fröhlich, K., Bitsch, R., Otto, K., & Böhm, V. (2004). Changes in Contents of Carotenoids and Vitamin E during Tomato Processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 7005–7010.
- Schmidt, B. M., Erdman Jr., J. W., Lila, M. A. (2005). Effects of food processing on Blueberry antiproliferation and antioxidant activity. *Journal of Food Science*, **70**, 389-394.
- Siddhurajua, P., Mohanb, P.S., Becker, K. (2002). Studies on the antioxidant activity of Indian Laburnum (*Cassia fistula* L.): a preliminary assessment of crude extracts from stem bark, leaves, flowers and fruit pulp. *Food Chemistry*, **79**: 61–67.
- Słupski, J. e Lisiewska, Z. (2012). Tocopherol retention and vitamin E activity in frozen and canned immature seeds of five cultivars of common bean. *Journal os Science Food Agriculture*, **93**: 1326-1330.
- Stein, W. I., Slabauch, P. G. e Plumer, A. P. Em: Seeds of woody plants in the United States. Washington, Department of Agriculture, 1974 (98-125).
- Steinmetz, K. A.; Potter, J. D. (1996). Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *Journal of the American Dietetic Association*, **96**: 1027-1039.
- Suntornsuk, L., Gritsanapun, W., Nilkamhank, S., Paochom, A. (2002). Quantitation of vitamin C content in herbal juice using direct titration. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **28**, 849-855.
- Wenkam, N. S.. Food of Hawaii and the pacific basin, fruit and fruit products. Raw, processed and prepared, Volume 4, Honolulu: University of Hawaii, 1990.





## *CAPÍTULO 6*

Conclusões Gerais



## 6.1. CONCLUSÕES GERAIS

Este estudo mostrou que o maracujá apresenta características que podem ser bastante benéficas à saúde humana. O óleo de sementes é rico em ácidos gordos polinsaturados, onde predomina a presença de ácido linoleico, ácido oleico e ácido palmítico, sendo também fonte de vitamina E e de esteróis, principalmente de  $\beta$ -sitosterol, mostrando ter potencial para uso na indústria cosmética, alimentar e farmacêutica. O óleo apresenta ainda uma atividade antiradicalar relativa. No entanto, a capacidade redutora total do óleo é baixa, bem como a sua estabilidade oxidativa.

Dos solventes utilizados para extrair compostos antioxidantes, o metanol mostrou, em geral, ser o melhor na extração destes compostos. Os extratos das cascas, das folhas e das sementes demonstraram que na sua composição existe uma quantidade considerável de compostos redutores, e uma notável capacidade de bloqueio de radicais livres. Tal não aconteceu nos extratos de flores e polpa, que apresentaram uma atividade antioxidante baixa.

Este trabalho permitiu compreender que a polpa enlatada apresenta características diferentes da polpa fresca, nomeadamente no teor de humidade, sólidos solúveis totais e valor de pH. Em relação à atividade antioxidante, a polpa *in natura* apresenta uma atividade antioxidante bastante mais elevada do que as polpas enlatadas. No entanto, existe uma grande variedade de polpas enlatadas, e, pelo menos uma delas aproximou-se bastante da polpa fresca em relação à quantidade de compostos fenólicos e à capacidade bloqueadora de radicais livres, mostrando que é possível haver polpas enlatadas com propriedades muito próximas às polpas *in natura*. Em relação às sementes que estavam envolvidas nas polpas enlatadas, notou-se que conservaram uma fração muito significativa de compostos antioxidantes, porém, o teor de humidade foi bastante diferente.

Por último, torna-se evidente que ainda são necessários mais estudos sobre os constituintes químicos das diversas partes dos frutos do maracujá, bem como do óleo das sementes.

