

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E DESENVOLVIMENTO
NA REGIÃO CENTRO-OESTE**

GABRIELA MARCELINO

**EFEITO DO ESTÁDIO DE MATURAÇÃO NA COMPOSIÇÃO E ESTABILIDADE
LIPÍDICA DE FRUTOS DE *Byrsonima cydoniifolia* A. Juss.**

Campo Grande - MS

2019

GABRIELA MARCELINO

**EFEITO DO ESTÁDIO DE MATURAÇÃO NA COMPOSIÇÃO E ESTABILIDADE
LIPÍDICA DE FRUTOS DE *Byrsonima cydoniifolia* A. Juss.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, área de concentração Metabolismo e Nutrição, para obtenção do título de Mestre pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

Orientadora: Dra. Rita de Cássia Avellaneda Guimarães.

Coorientadora: Dra. Juliana Rodrigues Donadon.

Campo Grande - MS

2019

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus que me guiou e protegeu em todos os momentos, dando toda a força necessária para trilhar este caminho. “Nunca foi sorte, sempre foi Deus”. Aos meus pais, Laelda e Valdemar, fica a minha eterna gratidão pois me permitiram chegar até aqui por meio de muito esforço e amor. Mais do que minha essa conquista é de vocês! Agradeço também ao meu companheiro Willian, que se fez presente em todos os momentos, que sofreu ao meu lado e celebrou todas as minhas conquistas. Sem você e todo o seu amor essa caminhada seria muito mais difícil. Obrigada meu amor!

Aos amigos agradeço especialmente à Isadora e Thays que desde a graduação não me deixaram desistir, obrigada por toda a compreensão pelos momentos de ausência. Aos colegas de pós-graduação que dividiram comigo a loucura do mestrado e me deram a alegria de compartilhar momentos. Ao grupo Bolsistas CAPES que compartilharam suas angústias e conhecimentos nestes dois anos. Continuem lutando colegas!

Aos técnicos de laboratório da Unidade de Tecnologia de Alimentos (UTA-FACFAN) que sempre foram pacientes e solícitos durante as longas horas de laboratório. Obrigada, em especial, ao mestre Osmar que compartilhou um pouco de todo o seu conhecimento e vivência acadêmica, sendo sempre uma ótima companhia. Obrigada a todos os colaboradores que apoiaram o meu projeto e sempre se mostraram abertos para compartilharem o seu conhecimento comigo. Em especial cito minha coorientadora Juliana Donadon, os colaboradores da universidade Priscila Hiane, Anderson Caires, Lincoln Oliveira e Arnildo Pott e os colaboradores externos Iriani Maldonade, Ângela Nunes e Mário Maróstica. Vocês foram essenciais para a realização do meu sonho!

Agradeço, com muito amor e carinho, a minha orientadora Rita de Cássia que se fez presente desde o início do meu projeto, me apoiando em todos os momentos e me orientando maravilhosamente. Que sorte a minha aprender e compartilhar momentos com você. Obrigada por toda a dedicação, que nossa parceria seja longa!

Por fim, agradeço ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste pela oportunidade de realizar este sonho e à CAPES pela bolsa de pesquisa que se fez tão essencial para o desenvolvimento do projeto.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> em três estádios de maturação.	57
Tabela 2. Atividade Antioxidante e compostos bioativos dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> em três estádios de maturação.	59
Tabela 3. Parâmetros de cor dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> em três estádios de maturação. ...	64
Tabela 4. Parâmetros de cor dos óleos extraídos dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> em três estádios de maturação.	65
Tabela 5. Perfil de ácidos graxos (%) dos óleos extraídos dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> em três estádios de maturação.	68
Tabela 6. Índices de qualidade e identidade dos óleos extraídos dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> em três estádios de maturação.	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> durante o amadurecimento.	16
Figura 2. Maturação fisiológica de frutos.	17
Figura 3. Mecanismo de ação dos antioxidantes primários: R•; ROO• radicais; AH antioxidantes; A• radical inerte.	20
Figura 4. Atividade antioxidante pelo método DPPH.	21
Figura 5. Estrutura básica dos ácidos fenólicos.	22
Figura 6. Estrutura dos taninos condensados (A) e hidrolisáveis (B).	24
Figura 7. Ácido L-ascórbico.	25
Figura 8. Redução do radical ascorbato.	25
Figura 9. Estrutura básica do licopeno.	27
Figura 10. Estrutura básica da luteína (A) e zeaxantina (B).	27
Figura 11. Estrutura básica do β-caroteno.	28
Figura 12. Mecanismo de ação do β-caroteno com oxigênio tripleto.	28
Figura 13. Espaço de cor CIE L*a*b*.	30
Figura 14. Estrutura básica dos ácidos graxos saturados (A) e insaturados (B).	32
Figura 15. Estrutura do ácido graxo oleico (C18:1).	33
Figura 16. Estrutura dos ácidos graxos linoleico (1) e α-linolênico (2).	34
Figura 17. Formação do isômero trans.	35
Figura 18. Extração direta com solvente (éter de petróleo) do óleo dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> em três estádios de maturação (maduro, intermediário e imaturo, respectivamente).	36
Figura 19. Etapas da auto-oxidação lipídica. RH: ácido graxo insaturado; R•: radical livre; ROO•: radical peróxido; ROOH: radical hidroperóxido.	38
Figura 20. Espectro da luz visível.	41
Figura 21. Princípio do funcionamento do equipamento Rancimat e seus componentes.	43
Figura 22. Configuração básica de uma termobalança.	45
Figura 23. Curva típica TGA/DTG.	45
Figura 24. Frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> nos estádios imaturo, intermediário e maduro, respectivamente.	48
Figura 25. Curvas DPPH IC ₅₀ do extrato metanólico dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> no estágio imaturo e maduro.	60
Figura 26. Cromatograma dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> no estágio maduro.	63
Figura 27. Cromatograma dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> nos estádios imaturo e intermediário, respectivamente.	63

Figura 28. Óleos extraídos dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> em três estádios de maturação (maduro, intermediário e imaturo) após extração direta com solvente éter de petróleo.	66
Figura 29. Cromatogramas dos óleos extraídos dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> nos estádios imaturo, intermediário e maduro.	67
Figura 30. Espectro de absorção UV-Vis dos óleos extraídos dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> em três estádios de maturação, obtidos entre 350-750 nm em temperatura ambiente.	71
Figura 31. Mapa de emissão-excitação dos óleos extraídos dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> em três estádios de maturação obtidos quanto excitados entre 250 e 550 nm e coletados entre a faixa de emissão de 270 e 750 nm.	72
Figura 32. Condutividade elétrica versus tempo determinado pelo método de Rancimat dos óleos extraídos dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> em três estádios de maturação.	73
Figura 33. Curvas TG/DTG dos óleos extraídos dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> nos estádios imaturo e intermediário.	74
Figura 34. Curvas TG/DTG do óleo extraídos dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i> no estágio maduro.	75

RESUMO

Os frutos nativos apresentam importantes propriedades nutricionais, como as fibras, minerais e compostos bioativos, que se mostram benéficos à saúde devido as suas propriedades funcionais. Dentre as espécies nativas está a *Byrsonima cydoniifolia*, popularmente conhecida como canjiqueira ou murici. Esta espécie é localmente consumida em sua forma *in natura* ou em preparações como sucos e infusões, sendo nutricionalmente rica em bioativos e lipídeos. Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar os compostos químicos de frutos de *B. cydoniifolia*, em três estádios de maturação, bem como determinar o perfil de ácidos graxos e comportamento oxidativo de seus óleos. Os frutos foram separados em três estádios de maturação, de acordo com a coloração de sua casca. Eles foram caracterizados quanto as características físico-químicas (umidade, sólidos solúveis totais, acidez titulável total, pH, relação sólidos solúveis totais e acidez titulável total (ratio), carboidratos solúveis totais e lipídeos), compostos bioativos (fenóis totais, taninos, ácido ascórbico, carotenoides totais e suas frações), atividade antioxidante (método DPPH e ORAC) e coloração. Os óleos foram caracterizados quanto ao seu perfil de ácidos graxos e índices de qualidade e identidade (índice de acidez, peróxido, refração, iodo e saponificação) e coloração. A qualidade dos óleos também foi avaliada por meio de técnicas ópticas de espectroscopia de absorção na região UV-Vis e fluorescência, a estabilidade oxidativa foi verificada por meio do método de Rancimat e análises térmicas (Termogravimetria/Termogravimetria Diferencial). Os resultados reportaram que o amadurecimento foi responsável por alterar os parâmetros químicos tanto dos frutos quanto dos óleos. Os frutos apresentaram diminuição de alguns parâmetros durante o amadurecimento como no teor dos sólidos solúveis totais, pH e carboidratos totais, sendo estes resultados devido ao uso dos açúcares e ácidos orgânicos para suprimento energético. Por outro lado, observou-se um aumento no teor de lipídeos durante este processo. Em relação aos compostos bioativos pode-se observar que os frutos imaturos apresentaram maiores quantidades de fenóis totais ($1582 \pm 1,17$ mgAGE/100 g) e uma maior atividade antioxidante, tanto pelo método DPPH quanto ORAC, enquanto que os frutos maduros apresentaram maior teor de carotenoides totais (4,59 mg/100 g). Em relação aos óleos, todos os estádios apresentaram perfil de ácidos graxos semelhantes, sendo o ácido graxo oleico (51,19-55,84%), palmítico (20,91-21,23%) e linoleico (16,78-19,54%), as principais frações. O óleo do estágio maduro foi o que se mostrou mais estável ao processo oxidativo pelo método de Rancimat, sendo atribuído à presença dos carotenoides, conforme observado nos resultados da espectroscopia UV-Vis e de fluorescência. Dessa forma, concluiu-se que os frutos de *B. cydoniifolia* apresentam características nutricionais promissoras para o uso como ingrediente funcional e que o óleo do estágio maduro, quando refinado, tem grande potencial para ser utilizado como óleo vegetal comestível ou até mesmo para outros usos pela indústria.

Palavras-chave: Compostos bioativos. Ácidos graxos. Estabilidade oxidativa. Estabilidade térmica.

ABSTRACT

Native fruits have important nutritional properties, such as fiber, minerals and bioactive compounds, which are beneficial to health due to its functional properties. Among the native species is *Byrsonima cydoniifolia*, popularly known as *canjiqueira* or *murici*. This species is locally consumed in its *in natura* form or in preparations such as juices and infusions, being nutritionally rich in bioactive and lipids. Thus, the objective of this work was to determine the chemical compounds of *B. cydoniifolia* fruits at three ripening stages, as well as to determine the fatty acid profile and oxidative behavior of their oils. The fruits were separated in three stages of ripening, according to the coloration of their peel. They were characterized as physical-chemical characteristics (moisture, total soluble solids, total titratable acidity, pH, total soluble solids ratio and total titratable acidity, total soluble carbohydrates and lipids), bioactive compounds (total phenols, tannins, ascorbic acid, total carotenoids and their fractions), antioxidant activity (DPPH and ORAC method) and staining. The oils were characterized as to their fatty acid profile and indices of quality and identity (index of acidity, peroxide, refraction, iodine and saponification) and coloration. The quality of the oils was also evaluated by means of optical techniques of absorption spectroscopy in the UV-Vis region and fluorescence, the oxidative stability was verified by the method of Rancimat and thermal analysis (Thermogravimetry/Differential Thermogravimetry). The results reported that ripening was responsible for changing the chemical parameters of both fruits and oils. The fruits showed a decrease of some parameters during ripening, such as in the total soluble solids content, pH and total carbohydrates, these results being due to the use of sugars and organic acids for energetic supply. On the other hand, an increase in lipid content was observed during this process. In relation to the bioactive compounds, it is possible to observe that the immature fruits presented higher amounts of total phenols (1582 ± 1.17 mgAGE/100 g) and a higher antioxidant activity, both by DPPH and ORAC, whereas mature fruits presented higher content of total carotenoids (4.59 mg/100 g). In relation to the oils, all stages had similar fatty acid profile, oleic acid (51.19-55.84%), palmitic (20.91-21.23%) and linoleic acid (16.78-19.54%), being the main fractions. The oil of the mature stage was the most stable to the oxidative process by the Rancimat method, being attributed to the presence of carotenoids, as observed in the results of UV-Vis spectroscopy and fluorescence. Thus, it was concluded that the fruits of *B. cydoniifolia* present promising nutritional characteristics for use as a functional ingredient and that the mature stage oil, when refined, has great potential to be used as edible vegetable oil or even for other uses by industry.

Keywords: Bioactive compounds. Fatty acids. Oxidative stability. Thermal stability.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Pantanal Brasileiro	14
2.2 <i>Byrsonima cydoniifolia</i> A. Juss.	15
2.3 Índices de maturação de frutos	16
2.4 Atividade Antioxidante.....	19
2.4.1 Atividade antioxidante: métodos DPPH e ORAC.....	20
2.5 Compostos bioativos.....	21
2.5.1 Compostos fenólicos.....	22
2.5.2 Taninos.....	23
2.5.3 Ácido ascórbico.....	24
2.5.4 Carotenoides	26
2.6 Coloração.....	29
2.7 Lipídeos	31
2.7.1 Ácidos graxos	32
2.7.2 Óleos vegetais	35
2.7.3 Estabilidade oxidativa de óleos vegetais.....	37
2.7.4 Índices de qualidade e identidade de óleos vegetais	39
2.7.5 Técnicas ópticas	41
2.7.5.1 Espectroscopia de absorção de luz ultravioleta - visível (UV-Vis)	41
2.7.5.2 Espectroscopia de fluorescência.....	42
2.7.7 Análise térmica: Termogravimetria/Termogravimetria Diferencial (TGA/DTG)	44
3 OBJETIVOS	47
3.1 Objetivo geral	47
3.2 Objetivos específicos	47
4 MATERIAL E MÉTODOS	48
4.1 Material vegetal.....	48
4.2 Análises dos frutos e óleos	48
4.3 Composição química dos frutos	49
4.3.1 Umidade	49
4.3.2 Sólidos solúveis totais (SST).....	49

4.3.3 Acidez titulável total (ATT)	49
4.3.4 Razão SST/ATT	49
4.3.6 Lipídeos	50
4.3.7 Carboidratos solúveis	50
4.4 Compostos bioativos e atividade antioxidante	50
4.4.1 Preparo dos extratos.....	50
4.4.1 Atividade antioxidante – DPPH	51
4.4.2 Atividade antioxidante – ORAC.....	51
4.4.3 Fenois totais e taninos	51
4.4.4 Ácido ascórbico.....	52
4.4.5 Carotenoides totais e frações.....	52
4.5 Coloração.....	53
4.6 Perfil de ácidos graxos	53
4.7 Análises de qualidade e identidade dos óleos.....	54
4.7.1 Extração dos óleos	54
4.7.2 Índice de acidez	54
4.7.3 Índice de peróxido.....	54
4.7.4 Índice de refração	54
4.7.5 Índice de iodo	55
4.7.8 Índice de saponificação.....	55
4.8 Análise óptica dos óleos: absorção UV-Vis e matriz de fluorescência de emissão- excitação	55
4.9 Estabilidade oxidativa: Rancimat.....	55
4.10 Análises térmicas: Termogravimetria/Termogravimetria Diferencial (TGA/DTG)	56
4.11. Análise estatística	56
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1 Composição química dos frutos de <i>B. cydoniifolia</i>	57
5.2 Atividade antioxidante e compostos bioativos dos frutos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i>	59
5.3 Coloração dos frutos e óleos de <i>B. cydoniifolia</i>	64
5.4 Perfil de ácidos graxos dos óleos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i>	66
5.5 Análises de qualidade e identidade dos óleos de <i>Byrsonima cydoniifolia</i>	69
5.6 Técnicas ópticas: Espectroscopia de absorção UV-Vis e fluorescência	70
5.7 Estabilidade oxidativa: Rancimat.....	73
5.8 Análises térmicas: Termogravimetria/Termogravimetria Diferencial (TGA/DTG)	74
6 CONCLUSÃO.....	76
REFERÊNCIAS	77

ANEXO A – CADASTRO DO TRABALHO NO SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO (SisGen)	87
ANEXO B – ARTIGO CIENTÍFICO PUBLICADO NO JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND AGRICULTURE	88

1 INTRODUÇÃO

O consumo de frutos vem se destacando nos últimos anos devido às suas propriedades benéficas para o organismo, além de serem um fator coadjuvante para a prevenção de doenças. Isto se deve às propriedades nutricionais como as fibras, minerais e compostos bioativos, como o ácido ascórbico e carotenoides (SANTOS et al., 2015; SIRIAMORNpun; KAEWSEEJAN, 2017).

As espécies nativas vêm então ganhando espaço neste cenário justamente devido às suas propriedades funcionais. Dentre estas encontra-se a *Byrsonima cydoniifolia* A. Juss, popularmente conhecida como murici ou canjiqueira, pertencente à família Malpighiaceae (MENDES, 2017). Encontrada tanto em áreas alagadas do Pantanal Brasileiro como em áreas secas do Cerrado, esta espécie é localmente utilizada seja pelo consumo de seus frutos, *in natura* ou em preparações, como também de suas folhas sob a forma de infusões para o tratamento de doenças (NERI-NUMA et al., 2018; GUILHON-SIMPLICIO et al., 2017).

A *B. cydoniifolia* apresenta importantes propriedades nutricionais e funcionais, atribuídas às vitaminas e outros compostos bioativos presentes. Seus frutos, quando maduros, apresentam coloração amarela com polpa carnosa e macia e dentre suas propriedades nutricionais destaca-se a presença de compostos bioativos e lipídeos (HAMACEK; MARTINO; PINHEIRO-SANT'ANA, 2014; MOTA et al., 2016).

Os compostos bioativos são substâncias que atuam como antioxidantes, inibindo ou impedindo o processo oxidativo, causado pelos radicais livres, tanto em alimentos como no organismo. O estresse oxidativo é o momento quando há o desequilíbrio entre a produção de radicais livres e redução dos antioxidantes, gerando então alterações sensoriais e nutricionais nos alimentos (ABADIO FINCO; SILVA; OLIVEIRA, 2012; REPETTO; SEMPRINE; BOVERIS, 2012).

Os lipídeos são um grupo de substâncias responsáveis pelo fornecimento de energia para o organismo, sendo eles constituídos por ácidos graxos e seus derivados. Os ácidos graxos podem ser classificados em saturados e insaturados, sendo estes últimos mais susceptíveis ao estresse oxidativo, principalmente os poli-insaturados (IONASHIRO, 2004; BOCK; PERALTA, 2009).

Os ácidos graxos da dieta são fornecidos principalmente pelos óleos vegetais e sementes de oleaginosas, que são ótimas fontes de ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados. A determinação do perfil de ácidos graxos em

alimentos é fundamental para garantir a sua qualidade nutricional e estabilidade oxidativa (VASKOVA; BUCKOVA, 2015; DORNI et al., 2018).

Fatores ambientais, genéticos e até mesmo o grau de maturação de espécies vegetais, são responsáveis por alterar a qualidade do óleo a ser extraído. Sabe-se que no processo de amadurecimento dos frutos ocorrem mudanças bioquímicas, e conhecer o perfil de ácidos graxos durante este processo é fundamental para garantir um produto mais estável (VASKOVA; BUCKOVA, 2015; MARRONE et al., 2018).

Assim, o presente estudo teve o objetivo de caracterizar os frutos de *B. cydoniifolia* em três estádios de maturação, bem como delinear o perfil lipídico, estabilidade oxidativa e térmica de seus óleos extraídos a fim de verificar suas propriedades nutricionais e alterações ocasionadas durante o amadurecimento, visando uma nova alternativa de óleo vegetal comestível.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Pantanal Brasileiro

O Pantanal está localizado na região central da América do Sul, correspondendo em área total a 149.000 km². No Brasil, ele está distribuído nos Estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, representando uma área de 168.000 km², podendo ainda ser encontrado no nordeste do Paraguai e leste da Bolívia (DAMASCENO JÚNIOR et al., 2014a; EMBRAPA, 2010).

Este bioma é conhecido por ter uma das maiores extensões de terras alagadas do mundo, correspondendo a 80% do seu território. Isto se dá devido a sua localização na bacia hidrográfica do alto Paraguai, sendo no total, nove rios responsáveis pela sua alimentação, sendo eles os rios Paraguai, Bento Gomes, Cuiabá, Aquidauana-Miranda, Negro, São Lourenço, Taquari, Nabileque e Apa (DAMASCENO JÚNIOR et al., 2014a; ALHO, 2008).

A região do Pantanal tem seu clima tropical úmido marcado por períodos sazonais de cheias e secas. Durante o período de cheias, nos meses de outubro a março, a média de pluviosidade atinge 300 mm/mês, com temperaturas na faixa de 34 °C. Nos períodos de seca, nos meses de abril a setembro, a média de pluviosidade cai para 100 mm/mês, com temperaturas na faixa dos 10 °C (FREITAS et al., 2014).

Estes períodos permitem com que a região tenha uma ampla biodiversidade, visto que durante as inundações ocorre a fertilização dos solos que garante substrato para a vegetação durante o período de estiagem. Além disso, as chuvas sazonais fazem com que a umidade relativa média da região não seja menor do que 62% (FREITAS et al., 2014).

A fauna da região é influenciada diretamente pelas diferentes fitofisionomias, sendo possível encontrar uma grande variedade de animais. No total são mais de 1000 espécies, sendo 460 espécies de aves, 260 peixes, 170 répteis, 120 mamíferos e 40 anfíbios, que se distribuem ao longo de todo território (MANOEL et al., 2014).

Em relação à flora é possível encontrar diferentes fitofisionomias que vão desde campos inundáveis e brejos, até áreas de Cerradão e Cerrado, que se faz o mais predominante. Em números, esta diversidade corresponde a mais de 2000 espécies vegetais e dentre elas é possível encontrar a prevalência de espécies

monodominantes, principalmente nas áreas alagadas (DAMASCENO JÚNIOR et al., 2014b; EMBRAPA, 2010; ALHO; SABINO, 2012).

As espécies monodominantes são definidas como aquelas que suportam os altos níveis de inundações. Dentre elas estão as espécies classificadas como pioneiras, como a *B. cydoniifolia* com suas formações de canjiqueirais, que se caracterizam pela sua distribuição homogênea em áreas arenosas (POTT; POTT, 2009; DAMASCENO JÚNIOR et al., 2014b).

2.2 *Byrsonima cydoniifolia* A. Juss.

O gênero *Byrsonima* pertence à família Malpighiaceae, sendo representado por mais de 150 espécies, como *B. crassifolia*, *B. calves*, *B. intermedia*, *B. verbascifolia* e *B. cydoniifolia* (MENDES, 2017).

A espécie *B. cydoniifolia*, popularmente conhecida como murici ou canjiqueira, é encontrada tanto em áreas secas do Cerrado como em áreas alagadas do Pantanal Brasileiro. Esta espécie apresenta porte arbustivo podendo atingir de 1-5 metros de altura e sua frutificação ocorre nos meses de setembro a março (MENDES, 2017; SANTOS et al., 2017).

Seus frutos, quando maduros, apresentam diâmetro de 2,0 cm, coloração amarela e contém uma única semente. Sua polpa também apresenta coloração amarela, sendo carnosa, macia e oleosa. Como característica, estes frutos apresentam odor semelhante a queijo frutado, sendo levemente ácidos. Localmente são consumidos sob a forma *in natura* ou processado, como em doces e sucos, sendo de grande importância econômica na região (NERI-NUMA et al., 2018; HAMACEK; MARTINO; PINHEIRO-SANT'ANA, 2014).

Popularmente tanto os frutos quanto as folhas são utilizados devido às suas propriedades funcionais que são atribuídas justamente devido ao seu perfil nutricional rico em vitaminas (vitamina C e E) e outros compostos bioativos (flavonoides, esteróis, quercetina, rutina e ácido gálico), que são excelentes antioxidantes (GUILHON-SIMPLICIO et al., 2017; SANNOMIYA et al., 2007).

Durante o amadurecimento de seus frutos (Figura 1) ocorrem mudanças bioquímicas, ocasionadas pelo processo respiratório, onde se notam alterações nos parâmetros de coloração, firmeza, sólidos solúveis e acidez, que são importantes índices de qualidade do alimento. Além disso, é possível observar redução em

alguns compostos antioxidantes, como no conteúdo de fenois totais e taninos (PRATES, 2012; PRATES et al., 2015).

Quando imaturos, seus frutos apresentam coloração verde e se mostram com maiores teores de compostos bioativos. Por outro lado, apresentam quantidades importantes de fatores antinutricionais, como os inibidores de tripsina, não sendo recomendado então seu consumo *in natura*, e sim para possíveis usos farmacológicos ou cosméticos (PRATES et al., 2015).



Figura 1. Frutos de *Byrsonima cydoniifolia* durante o amadurecimento.

Fonte: Prates, 2012.

Os frutos de canjiqueira quando maduros apresentam maiores concentrações de ácido ascórbico e carotenoides. Além disso, se mostram mais palatáveis devido ao conteúdo de acidez e sólidos solúveis, sendo então o mais recomendado para o consumo *in natura* ou em preparações (HAMACEK; MARTINO; PINHEIRO-SANT'ANA, 2014; ABADIO FINCO; SILVA; OLIVEIRA, 2012).

2.3 Índices de maturação de frutos

O processo de maturação dos frutos envolve uma série de mudanças bioquímicas, metabólicas e estruturais que tornam os frutos aptos para o consumo (Figura 2). Estas alterações influenciam diretamente no perfil nutricional, além de apresentar impacto comercial, visto que afetam as características sensoriais (CHITARRA; CHITARRA, 2005; BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; EMBRAPA, 1996).

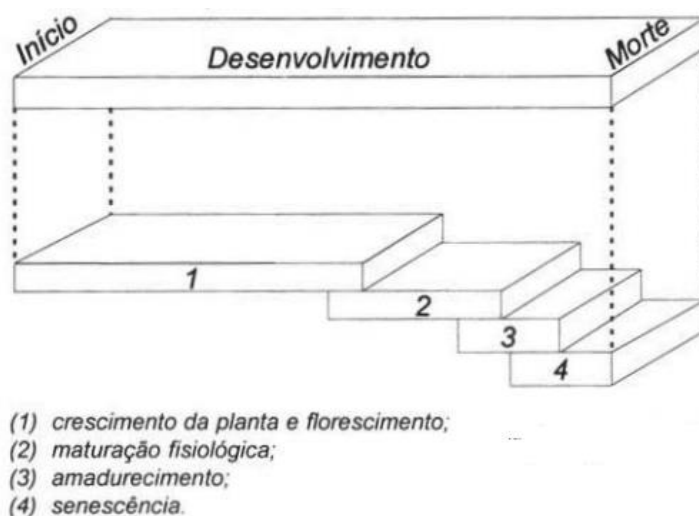


Figura 2. Maturação fisiológica de frutos.

Fonte: Embrapa, 1996.

A correta determinação do ponto de maturação para a colheita de um fruto é fundamental para garantir a sua qualidade nutricional e sensorial tanto para o consumo *in natura* como para ser utilizado industrialmente. Os índices de qualidade auxiliam nesta etapa por meio da avaliação dos atributos sensoriais, nutritivos e químicos, que podem ser realizados por meio de medidas físicas ou químicas (CHITARRA; CHITARRA, 2005; SILVA et al., 2016).

A umidade é um parâmetro importante em alimentos visto que está relacionada com a sua estabilidade, qualidade e composição (MOTA et al., 2016). Altos valores de umidade indicam que o alimento é mais susceptível a danos mecânicos e enzimáticos, que irão gerar a sua degradação (HAMACEK; MARTINO; PINHEIRO-SANT'ANA, 2014). No caso dos frutos, elevados valores de umidade indicam uma maior atividade respiratória, bem como menor tempo de conservação (EMBRAPA, 1996).

Após a colheita, os frutos apresentam perdas de umidade por meio da transpiração devido ao calor interno acumulado. Perdas na faixa de 5-10% indicam possíveis alterações relacionadas à qualidade, sendo necessário o seu controle. Além disso, é importante que se tenha o controle da umidade do ambiente de armazenamento para a sua preservação (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Outro parâmetro relacionado à qualidade dos frutos é o teor de sólidos solúveis totais (SST). Este indica a presença de toda substância que esteja

dissolvida em solvente, como os açúcares e ácidos orgânicos (CHITARRA; CHITARRA, 2005; SIGUEMOTO, 2013).

Durante o amadurecimento, ocorre a degradação do amido em açúcares (glicose e sacarose), que ocasiona alteração neste parâmetro. Estes açúcares são utilizados como substrato energético para os processos metabólicos, além de conferirem doçura (SIRIAMRNPUN; KAEWSEEJAN, 2017; EMBRAPA, 1996).

Valores de SST acima de 9% para frutos indicam que estes apresentam sabor desejável, sendo comercialmente preferido, visto que frutos doces tendem a ser mais aceitos na hora da compra. Além disso, um alto teor de SST está relacionado a um maior rendimento na hora do processamento e menores gastos com outros ingredientes com o objetivo de adoçar o produto (MOTA et al., 2016; SCHIASSI et al., 2017; MORZELLE et al., 2015).

A acidez titulável total (ATT) também está relacionada à qualidade e estabilidade dos frutos, sendo um parâmetro responsável por acentuar o sabor e aroma. Durante o amadurecimento ocorrem alterações em seu conteúdo devido à utilização dos ácidos orgânicos como fonte de energia (HAMACEK; MARTINO; PINHEIRO-SANT'ANA, 2014; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A acidez e a doçura são utilizadas como referências na determinação do grau de maturação e sabor, em que a relação existente entre ambas é conhecida como *ratio*. O *ratio* é um parâmetro mais significativo de ser avaliado quando comparado aos dois anteriores de forma isolada (HAMACEK; MARTINO; PINHEIRO-SANT'ANA, 2014). Ele avalia o equilíbrio existente entre os açúcares e acidez, onde seus resultados são importantes indicadores de alimentos mais palatáveis (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Outro parâmetro relacionado à acidez em frutos é o potencial hidrogeniônico, conhecido como pH. Ele representa a inversão das concentrações de íons H^+ em uma amostra, sendo um importante parâmetro para a indústria de alimentos. Alimentos mais ácidos geram menores gastos, durante o processamento, com outros ingredientes acidulantes, principalmente em alimentos cuja acidez é fundamental, como, por exemplo, as geleias (CHITARRA; CHITARRA, 2005; MONTEIRO; PIRES, 2016).

Os carboidratos solúveis também são utilizados para avaliar o rendimento e a qualidade de frutos. Eles compreendem os açúcares como a glicose, frutose livre e

sacarose, que atuam tanto como fonte energética como também auxiliam na proteção em baixas temperaturas e estresse por seca. Frutos imaturos apresentam maiores quantidades de hexoses, conforme ocorre o amadurecimento as hexoses diminuem, enquanto que há o aumento nas quantidades de sacarose. Já no estágio final do amadurecimento ocorre a diminuição dos açúcares, principalmente da sacarose (KELLMAN-SOPYLA et al., 2015).

Assim, observa-se que durante a maturação ocorrem mudanças físicas e químicas, e a determinação correta do ponto de colheita, por meio de análises específicas, é fundamental para assegurar sua qualidade nutricional e organoléptica (EMBRAPA, 2017).

2.4 Atividade Antioxidante

Os antioxidantes são compostos que podem ser encontrados naturalmente nos alimentos, adicionados de forma intencional ou formados durante o processamento, sendo utilizados com o objetivo de melhorar a qualidade e prologar sua vida útil (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2002; SHAHIDI; WANASUNDARA, 2002).

Eles apresentam papel fundamental no processo oxidativo visto que impedem ou reduzem a sua ocorrência. Podem ser divididos em antioxidantes primários (que atuam sequestrando os radicais livres) e secundários (que potencializam outros sistemas antioxidantes) (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2002; SIGUEMOTO, 2013).

Os antioxidantes primários atuam nos primeiros estágios do processo oxidativo (iniciação ou propagação) por meio da inativação ou eliminação dos radicais livres. Eles doam átomos de hidrogênio aos radicais peroxila e formam produtos mais estáveis que não apresentam atividade de radical livre (Figura 3). Os antioxidantes secundários podem atuar de diversas formas (quelando metais, decompondo hidroperóxidos, desativando o oxigênio singleto, dentre outros), mas não formam produtos estáveis (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2002).

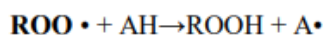
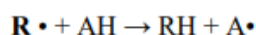


Figura 3. Mecanismo de ação dos antioxidantes primários: R•; ROO• radicais; AH antioxidantes; A• radical inerte.

Fonte: Machado, 2014.

Os antioxidantes oriundos de fontes naturais, como plantas e suas partes, são os mais recomendados para o consumo, visto que não oferecem riscos toxicológicos como os antioxidantes sintéticos. Tradicionalmente usam-se estas fontes sob a forma de infusões, como as infusões, para o tratamento de doenças (NASCIMENTO et al., 2017; PAZ et al., 2015).

São vários os compostos que se enquadram como antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos, ácido ascórbico, tocoferóis, carotenoides, entre outros (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2002). Justamente devido a esta extensa variedade que diferentes técnicas são utilizadas para determinar a capacidade antioxidante de um composto, como o método DPPH e ORAC.

2.4.1 Atividade antioxidante: métodos DPPH e ORAC

O método DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) tem sido utilizado para determinar a capacidade antioxidante de plantas, frutos e óleos vegetais, sendo um modelo de análise da modulação dos radicais livres na peroxidação lipídica (NASCIMENTO et al., 2017). O método se baseia na redução do radical DPPH quando na presença de um antioxidante doador de hidrogênio (PAZ et al., 2015). A redução do radical pode ser observada através da mudança de coloração do violeta para amarelo ou incolor quando a absorbância está a 515 nm, aproximadamente (Figura 4) (PEREIRA; BOREL; SILVA, 2015; MISHRA; OJHA; CHAUDHURY, 2012).

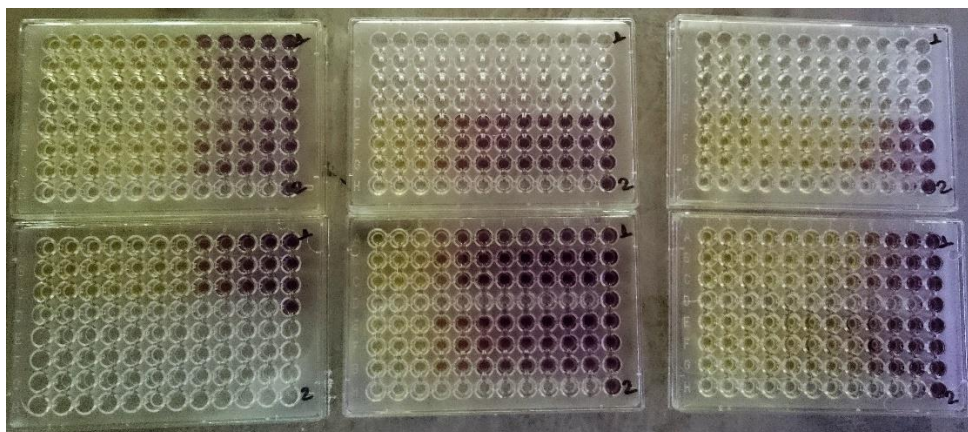


Figura 4. Atividade antioxidante pelo método DPPH.

Fonte: Arquivo pessoal, 2017.

Dentre suas vantagens está a possibilidade de realizar uma grande quantidade de análises em um curto período de tempo sendo necessárias pequenas quantidades de amostra (PEREIRA; BOREL; SILVA, 2015; MISHRA; OJHA, CHAUDHURY, 2012).

O ensaio ORAC (capacidade de absorção de radicais de oxigênio) se baseia na reação de oxidação com a fluoresceína, após ela ser adicionada a compostos formadores de radicais livres. Neste método observa-se a capacidade dos antioxidantes para proteger a fluoresceína dos danos gerados pelos radicais livres. Quanto maior o poder antioxidante do composto analisado, por mais tempo a fluorescência permanece. Conforme ela é perdida, se tem a indicação do dano gerado pela reação dos radicais livres com a fluoresceína (SANTOS et al., 2015; OU et al., 2013).

Os compostos bioativos, como os flavonoides, ácidos fenólicos e taninos, são os responsáveis pela capacidade antioxidante encontrada em plantas, frutos ou seus extratos (PEREIRA; BOREL; SILVA, 2015).

2.5 Compostos bioativos

Os compostos bioativos são substâncias naturais que não exercem função de nutrientes, mas apresentam propriedades antioxidantes, podendo promover benefícios à saúde. Para que seja classificado como antioxidante, é importante que um composto, mesmo em pequenas concentrações, iniba ou impeça o processo auto-oxidativo causado por radicais livres e se mostre estável quanto aos seus compostos intermediários formados (ABADIO FINCO; SILVA; OLIVEIRA, 2012).

Frutos e hortaliças mostram-se excelentes fontes de compostos bioativos como ácidos fenólicos, antocianinas, vitamina C, vitamina E e carotenoides (SIGUEMOTO, 2013). O perfil de compostos bioativos presentes em uma espécie varia de acordo com as condições climáticas, tipo de solo, estágio de maturação e senescência (SAMPAIO; HAMERSKI; RIBANI, 2015). Conforme ocorre a senescência se tem a ativação e utilização dos antioxidantes para reduzir o estresse oxidativo, diminuindo então os seus valores (NEVES et al., 2015).

O consumo de frutos nativos que apresentam alto conteúdo de compostos bioativos tem aumentado nos últimos anos devido às suas propriedades terapêuticas na prevenção de doenças, como câncer e diabetes, mas também como forma de substituir alguns medicamentos, que podem desencadear efeitos colaterais quando consumidos a longo prazo (SIRIAMORNUN; KAEWSEEJAN, 2017; SANNOMIYA et al., 2007).

2.5.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários e correspondem a um grupo com mais de 8000 compostos que se encontram presentes principalmente em tecidos vegetais (CROZIER; JAGANATH; CLIFFORD, 2009). Estruturalmente apresentam um anel aromático com um ou mais grupos hidroxila ligados e grupos funcionais (ésteres), podendo ser moléculas simples, conforme ilustrado na Figura 5 a seguir, como os ácidos fenólicos, ou compostos altamente polimerizados, como os taninos (ABADIO FINCO; SILVA; OLIVEIRA, 2012).

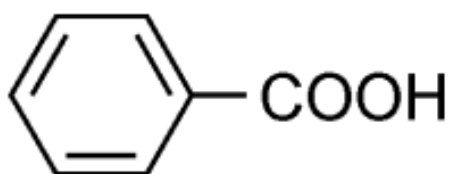


Figura 5. Estrutura básica dos ácidos fenólicos.

Fonte: Crozier; Jaganath; Clifford, 2009.

Em plantas os compostos fenólicos podem ser classificados de acordo com o número ou arranjo dos seus átomos de carbono, sendo divididos em flavonoides (catequinas, epicatequinas, caempferol, quercetina, miricetina, antocianinas, rutina e naringenina) e não flavonoides (ácidos fenólicos, ácido hidroxibenzóico, ácido hidrocinâmico e resveratrol) (CROZIER; JAGANATH; CLIFFORD, 2009).

Estes compostos apresentam baixa ou nenhuma atividade no processo de fotossíntese, mas agem como protetores em situações de estresse como radiação UV, alterações bruscas de temperatura, umidade e ação de patógenos. Além disso, conferem cor, sabor, adstringência e estabilidade oxidativa. Suas concentrações variam de acordo com a espécie, tipo de solo, estágio de maturação e condições pós-colheita (CROZIER; JAGANATH; CLIFFORD, 2009; SILVA et al., 2016; OZCAN et al., 2014).

Em alimentos, os fenólicos também apresentam papel antioxidante principalmente sob a presença de óleos e gorduras, impedindo a degradação do alimento por meio de sua atuação nos compostos lipídicos e metais sequestrantes, evitando o processo de peroxidação lipídica (SILVA et al., 2016).

No homem, os compostos fenólicos atuam na prevenção de doenças, como as cardiovasculares, diabetes e câncer, devido à sua ação antioxidante. Estes compostos têm seu comportamento antioxidante relacionado à sua capacidade de quelar metais e capturar os radicais livres, visto que a sua estrutura favorece a doação de um átomo de hidrogênio aos radicais livres. Além disso, formam radicais intermediários que são estáveis (ABADIO FINCO; SILVA; OLIVEIRA, 2012; GUILHON-SIMPLICIO et al., 2017).

A eficácia da ação antioxidante destes compostos depende dos processos absorptivos e metabólicos que ocorrem ao longo do trato gastrointestinal, além disso sua estrutura também apresenta grande influência no poder antioxidante (OZCAN et al., 2014).

2.5.2 Taninos

Os taninos pertencem ao grupo dos compostos fenólicos, sendo estruturas de alto peso molecular (500 e 3000 Dalton), e nos alimentos são responsáveis por conferirem adstringência por meio da precipitação das glicoproteínas salivares que geram a perda de lubrificação local (MONTEIRO et al., 2005).

Estes são classificados como hidrolisáveis ou condensados, onde os taninos hidrolisáveis apresentam estruturas poliméricas derivadas dos ácidos gálico e elágico glicosilados, sendo este último, o mais encontrado. Eles apresentam ação antifúngica e antimicrobiana, devido à sua capacidade de precipitar proteínas (MONTEIRO et al., 2005).

Os taninos condensados, conhecidos como proantocianidina, possuem estruturas oligômeras e poliméricas de flavonoides, principalmente flavan-3-ols, conforme a Figura 6 a seguir, sendo facilmente encontrados em frutas e vegetais (OZCAN et al., 2014; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

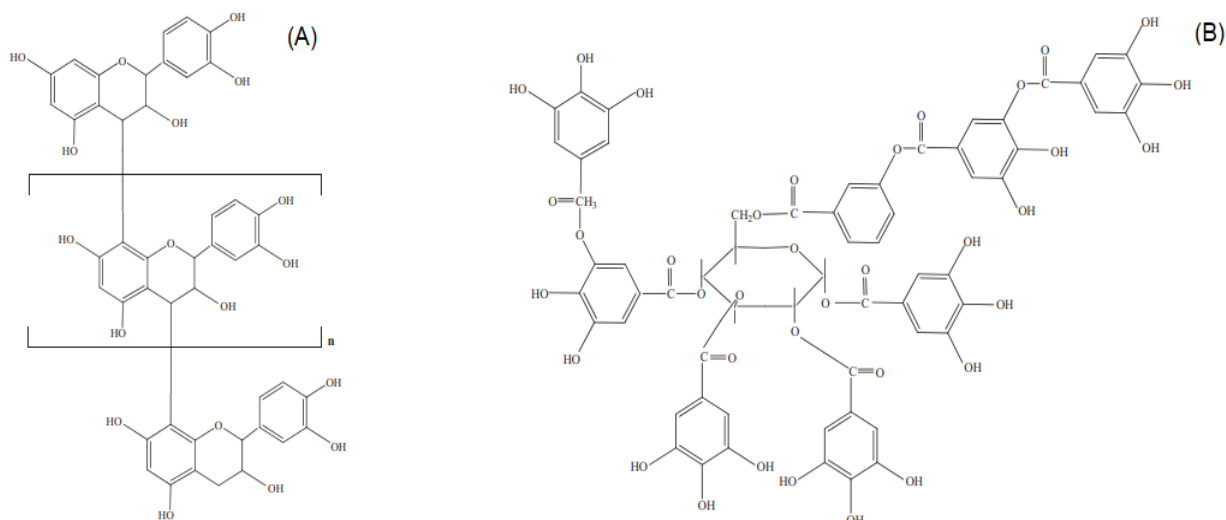


Figura 6. Estrutura dos taninos condensados (A) e hidrolisáveis (B).

Fonte: Shahidi e Ambigaipalan, 2015.

Estes compostos apresentam propriedades adstringentes e, por se ligarem às proteínas e outros compostos, acabam apresentando efeitos tóxicos. Além disso, inibem as enzimas digestivas e influenciam na utilização de micronutrientes, sendo então o seu consumo indesejado (MONTEIRO et al., 2005). Por outro lado, apresentam papel protetivo na peroxidação lipídica e lipoxigenase, pois conseguem eliminar os radicais hidroxila, superóxido e peroxila que atuam na pró-oxidação celular. O seu consumo ainda tem sido associado a efeitos anticarcinogênicos e antimutagênicos, visto que podem atuar capturando os radicais livres e formando radicais estáveis (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015; MONTEIRO et al., 2005).

2.5.3 Ácido ascórbico

O ácido ascórbico (AA) (Figura 7) é uma vitamina hidrossolúvel essencial ao homem, atuando nas funções metabólicas como na síntese do colágeno, L-cartinina e alguns neurotransmissores (FANG et al., 2017; SAMPAIO; HAMERSKI; RIBANI, 2015).

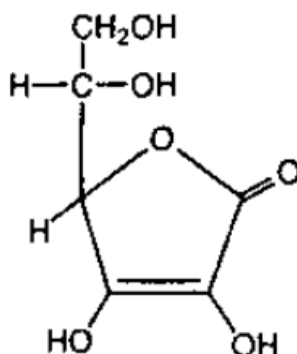


Figura 7. Ácido L-ascórbico.

Fonte: Reische; Lillard; Eitenmiller, 2002.

Em sua forma pura se mostra como um pó cristalino que, quando dissolvido em água se transforma em uma solução incolor. O ascorbato monoanion (AscH^-) é a forma mais encontrada em pH fisiológico e quando ionizado está sob a forma de ascorbato (Asc^{2-}), que é um excelente agente redutor. O ascorbato sofre duas hidroxilações formando o radical ascorbato monoanion e ácido deidroascórbico (DHA) (Figura 8) (DU; CULLEN; BUETTNER, 2012).

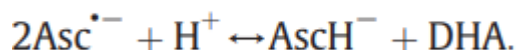


Figura 8. Redução do radical ascorbato.

Fonte: Du; Cullen; Buettner, 2012.

No homem, o AA exerce efeito como antioxidante primário nas reações enzimáticas ou não enzimáticas, podendo atuar ainda em outras moléculas antioxidantes como o α -tocoferol, prevenindo a peroxidação lipídica (FANG et al., 2017; SAMPAIO; HAMERSKI; RIBANI, 2015).

Nos alimentos, seu papel antioxidante está associado à sua capacidade redutora que consegue oxidar compostos por meio da transferência de 1 ou mais elétrons. Ele ainda suprime o oxigênio singlete, reduz os radicais livres e remove o oxigênio quando em presença de metais (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2002).

Devido a essas propriedades antioxidantes, o AA auxilia na prevenção e tratamento de doenças como o escorbuto, nos processos de cicatrização, fortalece o

sistema imunológico, além de ser associado a prevenção de alguns tipos de câncer, como de cólon e pâncreas (FANG et al., 2017; DU; CULLEN; BUETTNER, 2012).

A ingestão diária de vitamina C, segundo a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) e *World Health Organization* (WHO) (2001), é de 30 mg/dia para adultos saudáveis. Por não ser sintetizada no organismo, devido à deficiência da l-gulonolactona (GLO), enzima presente na etapa final de sua síntese, se faz necessário o seu consumo diário, por meio de frutas e hortaliças, que são excelentes fontes naturais de AA (DU; CULLEN; BUETTNER, 2012; FANG et al., 2017).

Estudos trazem que o AA pode exercer ainda ação pró-oxidante em células tumorais na presença de íons metálicos, principalmente o cobre, já que induz o estresse oxidativo por meio da formação do peróxido de hidrogênio (EGHBALIFERIZ; IRANSHAH, 2016).

Nas plantas, o AA é sintetizado a partir da glicose e atua como antioxidante secundário, reduzindo o oxigênio, alterando o potencial redox e atuando de forma sinérgica com os quelantes, além de participar dos processos de divisão celular, fotossíntese e sinalização (O'KEEFE, 2002; FANG et al., 2017).

Por ser um composto instável, a sua degradação pode ser ocasionada tanto por ação enzimática ou pela presença de oxigênio. Em frutos, as suas concentrações são afetadas pelas condições ambientais como solo, exposição à luz, temperatura e estresse hídrico, podendo a sua oxidação ocorrer por danos mecânicos, ocasionados principalmente durante o transporte (NEVES et al., 2015; SIGUEMOTO, 2013).

2.5.4 Carotenoides

Os carotenoides ésteres de ácidos graxos classificados como metabólitos secundários, ocorrendo sob a forma livre ou ésteres de ácidos graxos nas plantas (ETZBACH et al., 2018). Estruturalmente são isoprenoides de 40 carbonos ou tetraprenoides (Figura 9), que apresentam solubilidade em lipídeos, sendo conhecido como um dos principais grupos de pigmentos naturais, conferindo aos alimentos coloração na faixa do amarelo ao vermelho. Os principais representantes deste grupo são o β -caroteno, β -criptoxantina, α -caroteno, licopeno, luteína e zeaxantina (ARATHI et al., 2015).

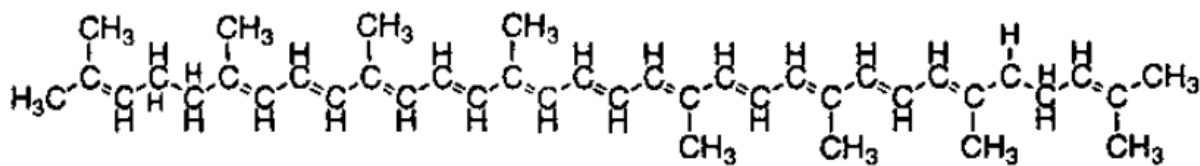


Figura 9. Estrutura básica do licopeno.

Fonte: Reische; Lillard; Eitenmiller, 2002.

São mais de 600 compostos presentes neste grupo, que apresentam de 3-13 ligações duplas em sua estrutura, podendo, em alguns casos, ter 6 carbonos hidroxilados em seu anel em uma ou ambas extremidades. Destes, cerca de 50 encontram-se na dieta e mais de 20 no tecido e organismo humano, sendo divididos em dois grupos: xantofilas e carotenos (ARATHI et al., 2015; O'KEEFE, 2002).

As xantofilas apresentam grupos funcionais em sua estrutura, sendo a luteína e a zeaxantina os dois principais representantes (Figura 10). Ambas apresentam papel fundamental na manutenção da visão por meio da prevenção da degeneração macular (ARATHI et al., 2015). Porém, este grupo não se mostra tão efetivo como eliminadores de radicais livres, justamente pela presença dos grupos funcionais (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2002).

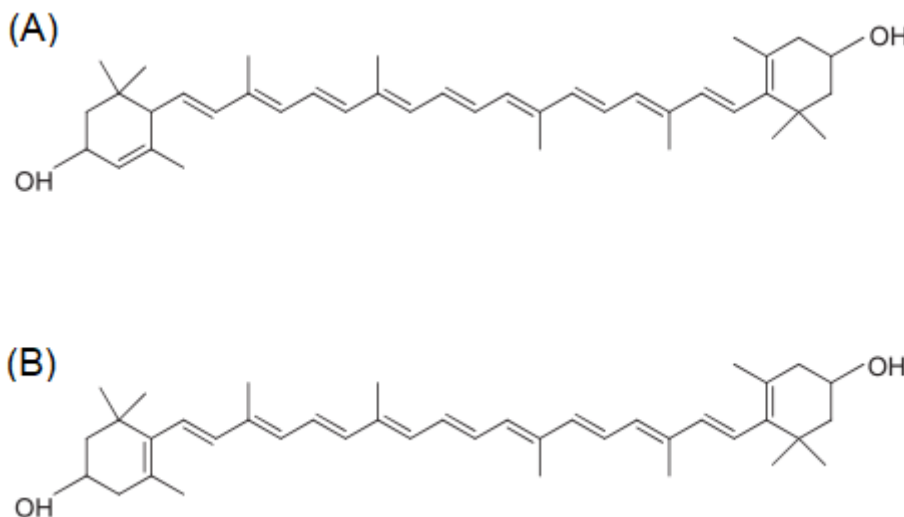


Figura 10. Estrutura básica da luteína (A) e zeaxantina (B).

Fonte: Eghbaliferiz e Iranshahi, 2016.

Os carotenos não possuem grupos funcionais em sua estrutura, a qual é constituída apenas por hidrocarbonetos de polieno, sendo eles o β -caroteno, α -caroteno e licopeno (ARATHI et al., 2015). O β -caroteno é o principal representante

deste grupo nos alimentos, tendo atividade biológica da vitamina A (pró-vitamina A) (Figura 11). Este caroteno é capaz de impedir o estresse oxidativo logo nos estágios de iniciação ou propagação por meio da inativação do oxigênio singlete e dos radicais peroxila (SIRIAMORNUN; KAEWSEEJAN, 2017). Porém, quando em alta pressão de oxigênio, pode exercer ação pró-oxidante em células tumorais. Isto ocorre, pois, os carotenoides reagem com o oxigênio produzindo um radical peroxil carotenóide que age como pro-oxidante gerando a peroxidação lipídica (EGHBALIFERIZ; IRANSHAHI, 2016).

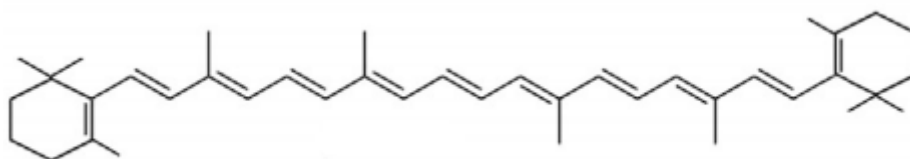


Figura 11. Estrutura básica do β -caroteno.

Fonte: Arathi et al., 2015.

De forma geral, os carotenoides atuam como antioxidantes, podendo ser primários, capturando os radicais livres, ou secundários, por extensão do oxigênio singlete, sendo esta última a que mais ocorre em alimentos (O'KEEFE, 2002). O número de ligações duplas em sua cadeia é o fator principal relacionado com a eliminação do oxigênio singlete, onde β -caroteno, isozeaxantina e luteína se mostram os mais efetivos eliminadores (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2002).

Na presença do β -caroteno o oxigênio singlete transfere energia para ele produzindo o β -caroteno triplete. O β -caroteno no estado triplete libera energia sob a forma de calor fazendo com que ele retorne ao seu estado inicial (Figura 12). Uma molécula de carotenóide reage com até mil moléculas de oxigênio singlete, mostrando então esse grande papel redutor (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2002).

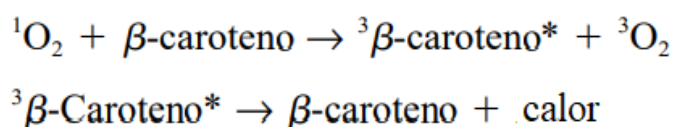


Figura 12. Mecanismo de ação do β -caroteno com oxigênio triplete.

Fonte: Adaptado de Reische; Lillard; Eitenmmiler, 2002.

O homem não consegue sintetizar carotenoides, logo o seu consumo se faz necessário via alimentação, através da ingestão principalmente de frutos (kiwi e

tomate), vegetais (couve e espinafre), produtos de origem animal (gema de ovo) e algumas algas marinhas (HAMMOND JR; RENZI, 2013; ARATHI et al., 2015). Devido às suas propriedades antioxidantes, o seu consumo tem sido associado com a prevenção de doenças cardiovasculares, câncer e problemas relacionados a visão já que atuam como filtros de luz (HAMMOND JR; RENZI, 2013).

Os frutos se mostram excelentes fontes de carotenoides, que se encontram nos cromoplastos e cloroplastos de forma associada à clorofila (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Suas concentrações variam durante o processo de amadurecimento, onde frutos imaturos, com coloração verde, indicam não haver ésteres de carotenoides, já que a sua biossíntese está associada com a degradação dos cloroplastos e formação de cromoplastos. Porém, conforme ocorre o amadurecimento, a clorofila é degradada, permitindo a visualização da coloração característica dos carotenoides, resultando em frutos de coloração amarela, laranja ou vermelha (ETZBACH et al., 2018).

Os carotenoides são instáveis sob vários fatores como luz, oxigênio, calor, pH e presença de metais, e por isso a sua adição em alimentos processados se torna pouco eficiente, sendo então fundamental o seu consumo via fontes naturais como as frutas e hortaliças (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2002).

2.6 Coloração

A coloração é um dos principais parâmetros que influenciam a aceitação, sabor e aroma de um alimento, sendo um fator determinante para o momento de compra ou consumo. Por meio dela, é possível avaliar a qualidade do alimento e até mesmo determinar o estágio de maturação de frutos (MONTEIRO; PIRES, 2016).

A definição de cor pode variar de acordo com a área de estudo, mas de forma geral ela é definida como a capacidade de um material em absorver e refletir luz. Este parâmetro pode sofrer a influência de fatores externos como luz, tamanho e local que está sendo visualizado o material, sendo então um parâmetro muito subjetivo (EMBRAPA, 2017).

Devido a isto, a *Commission Internationale l-Eclairage* (CIE) criou um sistema para quantificar e analisar as cores e suas alterações por meio da conversão da cor analisada em números (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Um dos sistemas criados e mais utilizados pela CIE é o CIE $L^*a^*b^*$. Por meio dele é possível mensurar as cores

de maneira mais precisa por meio de três eixos: luminosidade (L^*) e cromaticidade (a^* e b^*) (EMBRAPA, 2017), conforme ilustrado na Figura 13.

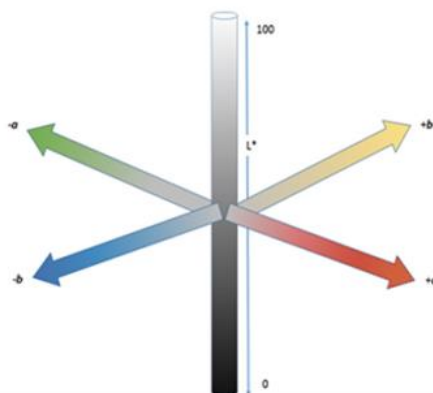


Figura 13. Espaço de cor CIE $L^*a^*b^*$.
Fonte: Embrapa, 2017.

A L^* é o parâmetro que avalia uma faixa de cor classificada de 0 a 100, onde 0 indica uma luminosidade mais escura e 100 indica uma luminosidade mais brilhante, onde é possível identificar as modificações que ocorrem nos alimentos com o passar do tempo (ARAÚJO et al., 2015).

As coordenadas de cromaticidade indicam a direção das cores, onde a^* varia no eixo das abscissas e b^* , no eixo das ordenadas. O eixo a^* tem sua faixa de coloração variando do vermelho ($+a^*$) ao verde ($-a^*$) e o eixo b^* variando na faixa de amarelo ($+b^*$) ao azul ($-b^*$) (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A saturação (C^*) corresponde à distância do eixo da luminosidade, onde quanto mais próximo ao centro mais escuro é o alimento. Por fim, o parâmetro da tonalidade (*hue*), indica o grau de coloração por meio de uma escala que varia de 0 a 360° que se inicia no eixo $+a^*$ e se movimenta no sentido anti-horário, indicando então o ângulo da tonalidade (ARAÚJO et al., 2015; MOTA et al., 2016).

Os frutos durante o seu processo de maturação passam por mudanças bioquímicas que alteram a coloração de sua casca e polpa devido ao processo autocatalítico da produção de etileno durante a respiração celular. Este processo acaba exercendo influência nos pigmentos naturais que são responsáveis pela coloração (ARAÚJO et al., 2015).

Os principais pigmentos encontrados em frutos são as betalaínas, flavonoides, carotenoides e clorofilas. Frutos imaturos, de coloração verde, apresentam maiores concentrações de clorofila e seus derivados. Durante o amadurecimento a clorofila é

degradada, dando espaço para o aparecimento da coloração na faixa amarelo-alaranjado, indicando a presença de carotenoides (CHITARRA; CHITARRA, 2005; ARAÚJO et al., 2015; ETZBACH et al., 2018).

Os pigmentos naturais presentes nos alimentos vegetais permanecem após o processamento como, por exemplo, nos óleos vegetais. Durante o processo de extração destes óleos ocorre a solubilidade dos pigmentos, principalmente dos pigmentos lipossolúveis, como os carotenoides (OJEDA-AMADOR; FREGAPANE; SALVADOR, 2018).

2.7 Lipídeos

Os lipídeos correspondem ao grupo que apresenta uma ampla faixa de produtos naturais como os ácidos graxos (AG) e seus derivados, esteroides, terpenos e ácidos biliares. Estes apresentam como ponto comum a solubilidade em solventes orgânicos como éter de petróleo, hexano, metanol e clorofórmio (O'KEEFE, 2002).

Estruturalmente possuem grupos de hidrocarbonetos, podendo ser classificados de acordo com suas propriedades físicas, polaridade, essencialidade e estrutura, sendo esta última a mais comumente utilizada (BAEZ; BAEZ, 2013).

Em relação às propriedades físicas quando em temperatura ambiente, podem ser classificados como óleos, quando no estado líquido, e gorduras, quando no estado sólido. Quanto à sua polaridade, estes podem ser neutros (ácidos graxos, álcoois, glicerídeos e esteróis) ou polares (glicerofosfolípidios e gliceroglicolipídeos) (O'KEEFE, 2002).

Em relação à sua essencialidade, são classificados como simples e complexos. Os simples correspondem aos ésteres de ácidos graxos com álcool, como os acilglicerois, que quando hidrolisados podem formar dois diferentes componentes (álcool e ácido). Os complexos são ácidos graxos com álcool e mais um composto, como os fosfolipídeos e glicolipídeos, que quando hidrolisados geram três ou mais compostos. Pode-se ainda encontrar uma terceira classificação chamada de derivados, que se originam da hidrólise dos dois anteriores (O'KEEFE, 2002).

Dentre suas funções, os lipídeos são responsáveis pelo fornecimento de energia, manutenção da temperatura corpórea, proteção para órgãos, componentes

de membranas e suporte de substâncias biologicamente ativas (VASKOVA; BUCKOVA, 2015), possuindo como as principais fontes da dieta os óleos comestíveis, carnes gordas, produtos lácteos, peixes e oleaginosas (DORNI et al., 2018).

O colesterol, fosfolipídeos, triacilgliceróis e ácidos graxos representam os lipídeos mais importantes para o homem. O colesterol é importante na formação das membranas celulares, síntese de hormônios, além de ser fundamental para a produção da vitamina D. Os fosfolipídeos se mostram em menores quantidades, 4-5% da nossa ingestão, mas também são fundamentais para a constituição das membranas celulares (BAEZ; BAEZ, 2013).

2.7.1 Ácidos graxos

Na natureza os lipídeos ocorrem em sua maior parte como substâncias livres ou esterificadas, sendo esta última a que representa maior parcela. Os ésteres de glicerol no corpo humano estão sob a forma de triacilgliceróis (três moléculas de ácidos graxos + glicerol), sendo um grupo que representa a fonte de energia para o organismo (IONASHIRO, 2004).

Os ácidos graxos apresentam estruturalmente hidrocarbonetos formados por quatro ou mais carbonos que estão ligados a um grupo funcional carboxílico, sendo importantes no organismo, visto que integram os fosfolipídeos nas membranas celulares e fornecem energia. Eles são divididos de acordo com o número de carbonos presentes em sua cadeia (cadeia curta, média e longa). Os de cadeia curta possuem de 2 a 8 carbonos, os de cadeia média de 8 a 12 carbonos e os de cadeia longa de 13 a 24 carbonos (BAEZ; BAEZ, 2013; DORNI et al., 2018).

Também podem ser divididos de acordo com o grau de insaturações presentes, podendo ser ácidos graxos saturados ou insaturados (mono e poli-insaturados) (Figura 14) (BOCK; PERALTA, 2009).

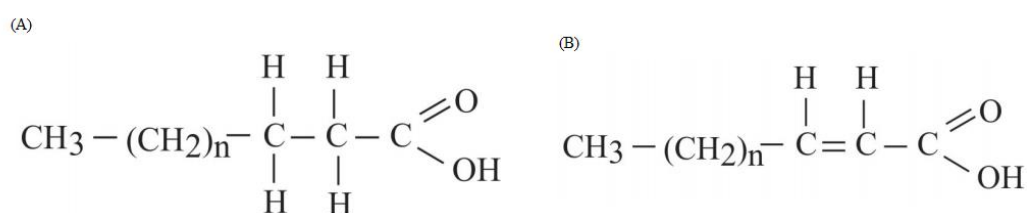


Figura 14. Estrutura básica dos ácidos graxos saturados (A) e insaturados (B).

Fonte: Bock; Peralta, 2009.

Os ácidos graxos saturados iniciam sua cadeia com o ácido fórmico e não apresentam dupla ligação, sendo encontrado na forma não esterificada principalmente em produtos alimentícios (O'KEEFE, 2002). Em temperatura ambiente, os ácidos graxos saturados encontram-se na forma sólida visto que seu ponto de fusão é alto, sendo percebidos principalmente em gorduras animais (BOCK; PERALTA, 2009).

Os principais representantes dos ácidos graxos saturados são o ácido láurico (C12:0), mirístico (C14:0), palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0). O ácido láurico e mirístico apresentam influência no metabolismo do colesterol total, causando o aumento nos seus níveis plasmáticos, visto que elevam os níveis de colesterol-LDL (AREMU; IBRAHIM; ANDREW, 2017).

Dentre os ácidos graxos insaturados estão os monoinsaturados que possuem seu grupo representado principalmente pelo ácido graxo oleico (C18:1). Este ácido graxo é o mais comumente encontrando nos alimentos, possuindo um importante papel protetor no desenvolvimento de doenças cardiovasculares, atua contra o estresse oxidativo e mediadores inflamatórios (AREMU; IBRAHIM; ANDREW, 2017). Este ácido graxo apresenta uma dupla ligação em sua estrutura e deriva do ácido esteárico, sendo produzido em tecidos animais, plantas e bactérias e encontrado em azeite de oliva, oleaginosas e manteiga (Figura 15) (O'KEEFE, 2002).



Figura 15. Estrutura do ácido graxo oleico (C18:1).

Fonte: Baez e Baez, 2013.

Dentre os monoinsaturados verifica-se também o ácido graxo erúico (C22:1), encontrado no óleo de canola, mostarda e crambe. Este ácido graxo apresenta sabor indesejável em óleos, sendo então removido durante o processamento, além disso, está associado ao aparecimento de lesões cardíacas. Assim, este ácido graxo é utilizado industrialmente na produção de plásticos e lubrificantes (NO et al., 2013).

Os ácidos graxos poli-insaturados correspondem ao grupo conhecido como ácidos graxos essenciais, visto que não podem ser sintetizados no organismo humano, sendo então necessário o seu consumo via dieta (DORNI et al., 2018).

De acordo com a posição de sua dupla ligação, os poli-insaturados podem ser divididos em ômega-6 e ômega-3, sendo representados pelo ácido graxo linoleico (AL) (C18:2) e α -linolênico (C18:3), respectivamente (Figura 16). Ambos apresentam influência na estrutura de membranas e são precursores dos eicosanoides e docosanoides, como os leucotrienos, prostaglandinas, tromboxanos, prostaciclina e proteases (KUMAR; SHARMA; UPADHYAYA, 2016; BAEZ E BAEZ, 2013).



Figura 16. Estrutura dos ácidos graxos linoleico (1) e α -linolênico (2).
Fonte: Baez e Baez, 2013.

O AL é o produto primário da síntese dos poli-insaturados nos tecidos vegetais e atua como precursor do ácido graxo araquidônico (C20:4). Ele apresenta um importante papel no fortalecimento da barreira lipídica da epiderme, protegendo a pele contra a perda de água e normaliza o seu metabolismo (KUMAR; SHARMA; UPADHYAYA, 2016).

O ácido graxo α -linolênico tem papel na regulação de funções biológicas e prevenção de doenças cardíacas e inflamatórias. Além disso, no organismo ele é convertido em ácido eicosapentaenoico (EPA) (C20:5) e ácido docosahexaenoico (DHA) (C22:6) (AREMU; IBRAHIM; ANDREW, 2017; KUMAR; SHARMA; UPADHYAYA, 2016).

Assim, observa-se que este grupo de ácidos graxos apresenta papel preventivo em doenças como as cardiovasculares, alguns tipos de câncer, inflamação, entre outros (O'KEEFE, 2002; AREMU; IBRAHIM; ANDREW, 2017).

Uma quarta forma conhecida são os ácidos graxos *trans*. Estes são formados após o aquecimento acima de 180 °C de óleos, em que ocorre a formação do isômero *trans* a partir do isômero *cis* (Figura 17). Este processo é muito utilizado industrialmente devido à sua maior estabilidade frente à oxidação (BOCK; PERALTA, 2009; O'KEEFE, 2002).

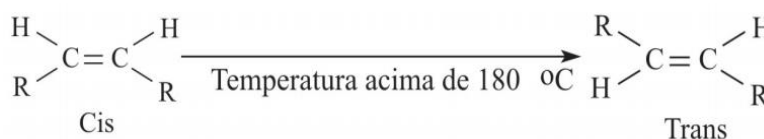


Figura 17. Formação do isômero *trans*.

Fonte: Bock e Peralta, 2009.

Os ácidos graxos advindos da dieta são encontrados principalmente em óleos vegetais, fontes animais (carne vermelha, peixes e laticínios) e sementes de oleaginosas. Dentre estes, as sementes se destacam como ótimas fontes de ácidos graxos, principalmente os monoinsaturados, que são utilizados para fabricação de óleos vegetais como, por exemplo, de soja, milho e canola (DORNI et al., 2018; KOZLOWSKA et al., 2016).

2.7.2 Óleos vegetais

Os óleos vegetais são os principais alimentos representantes dos lipídeos, sendo constituídos em sua maior parte por triglicerídeos e em menores quantidades por monoacilglicerídeos, fosfolipídeos, esteróis, terpenos, entre outros (BAEZ; BAEZ, 2013; PIGHINELLI; GAMBETTA, 2012). De forma geral, eles apresentam coloração transparente podendo ter indícios de amarelo ou verde, devido à presença de pigmentos como carotenoides e clorofila (ENDO, 2018).

Segundo o Codex-stan 210 (1999), óleo vegetal comestível é definido como produto de fins alimentícios que tem em sua composição triglicerídeos de ácidos graxos, obtido de fontes vegetais, que passou por processo de refinamento.

Os óleos vegetais podem ser extraídos de sementes de oleaginosas e frutos, podendo ser utilizados para diferentes fins como a alimentação, cosméticos e lubrificantes. O processo de extração pode ser feito por três diferentes métodos: prensagem a frio (prensagem do grão até obtenção do óleo), pré-extração com solventes (prensagem de parte do grão e impregnação com solvente) e extração direta com solventes (grão moído e impregnado com solvente), sendo esta última a mais utilizada (Figura 18) (JOHNSON, 2002).



Figura 18. Extração direta com solvente (éter de petróleo) do óleo dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* em três estádios de maturação (maduro, intermediário e imaturo, respectivamente).

Fonte: Arquivo pessoal, 2017.

O método de extração direta por solvente é o mais empregado, principalmente em amostras com baixos teores de lipídeos, visto que se mostra até 98% eficaz na extração, não sendo indicado para amostras com altos teores de lipídeos, em que é mais recomendada a extração por prensagem (PIGHINELLI; GAMBETTA, 2012).

Para o homem, os óleos vegetais exercem papel indispensável na alimentação e saúde, visto que conferem atributos sensoriais aos alimentos, servem como fonte de energia, transporte de vitaminas lipossolúveis, entre várias outras funções (DORNI et al., 2018).

As sementes, como as de girassol, amendoim e gergelim, mostram-se as melhores fontes para extração de óleos vegetais, fornecendo importantes propriedades nutricionais principalmente relacionado ao perfil de ácidos graxos, que em sua maior parte é constituída por monoinsaturados (DORNI et al., 2018; KOZLOWSKA et al., 2016).

Esse perfil de ácidos graxos varia de acordo com a origem da planta, genética, condições ambientais e até mesmo grau de maturação. Além disso, outros componentes também são avaliados, como os fitoesteróis e antioxidantes, visto que melhoram a qualidade nutricional e vida útil do produto (ARFAOUI et al., 2014).

A determinação do perfil de ácidos graxos é essencial para a indústria de alimentos, pois através dele é possível prever a sua estabilidade durante o processamento e armazenamento. Óleos com elevado conteúdo de poli-insaturados são menos desejáveis visto que estes são mais sensíveis à oxidação, gerando

produtos de degradação, como aldeídos e cetonas, que são tóxicos e potencialmente carcinogênicos (VASKOVA; BUCKOVA, 2014).

2.7.3 Estabilidade oxidativa de óleos vegetais

Os óleos vegetais, em sua maioria, apresentam grandes concentrações de poli-insaturados que se mostram mais sensíveis para a ocorrência da peroxidação lipídica. Os ácidos graxos insaturados estão relacionados com a maior susceptibilidade de um óleo a sofrer degradação, devido à baixa energia de ativação na etapa inicial da formação dos radicais livres (SALDAÑA; MARTÍNEZ-MONTEAGUDO, 2013; MIN; BOFF, 2002).

O estresse oxidativo é entendido como um processo em que se tem o desequilíbrio entre a produção acelerada de radicais livres e redução dos antioxidantes, resultando em alterações sensoriais e nutricionais dos alimentos (REPETTO; SEMPRINE; BOVERIS, 2012).

Este processo é complexo e ocorre tanto em plantas e animais, podendo ser ocasionado por ação enzimática (catalisada pelas lipoxigenases, gerando os radicais peroxila) ou não enzimática (inicia com a presença do oxigênio molecular em que os íons Fe^{+2} facilitam o processo) (REPETTO; SEMPRINE; BOVERIS, 2012). Ele é desencadeado pela reação do oxigênio com as duplas ligações dos lipídeos, gerando os radicais livres. Catalisadores como calor, hidrólise e radiação aceleram este processo (SALDAÑA; MARTÍNEZ-MONTEAGUDO, 2013).

A auto-oxidação lipídica ocorre em três fases: iniciação, propagação e terminação (Figura 19). A iniciação é um processo lento que envolve a quebra das ligações covalentes e retirada de uma molécula de hidrogênio por ação do calor, ocasionando o aparecimento dos radicais livres. Outros fatores como exposição à luz, calor, enzimas, íons metálicos e espécies reativas de oxigênio podem favorecer o aparecimento desses radicais livres (SALDAÑA; MARTÍNEZ-MONTEAGUDO, 2013).

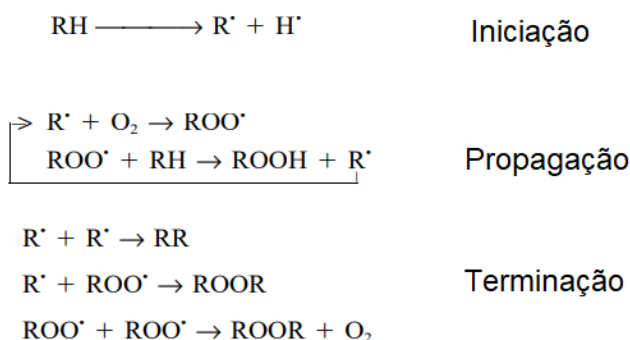


Figura 19. Etapas da auto-oxidação lipídica. RH: ácido graxo insaturado; R[•]: radical livre; ROO[•]: radical peróxido; ROOH: radical hidróperóxido.

Fonte: Adaptado de Shahidi e Wanasundara, 2002.

Na propagação, estes radicais livres reagirão com o oxigênio formando um radical peroxila instável, que em seguida reagirá com outro ácido graxo insaturado formando um hidróperóxido e um novo radical livre. Estes radicais vão propagar a reação onde a velocidade da oxidação vai depender da quantidade de insaturações dos ácidos graxos presentes (SHAHIDI; WANASUNDARA, 2002; REPETTO; SEMPRINE; BOVERIS, 2012).

Por fim, na terminação, os produtos primários formados serão degradados e originarão os produtos secundários (cetonas e aldeídos). O sabor rançoso característico de produtos oxidados se dá justamente devido à presença desses produtos de baixo peso molecular. Eles indicam o final da oxidação, onde se tem a formação de polímeros insolúveis em óleos (SALDAÑA; MARTÍNEZ-MONTEAGUDO, 2013).

Além das alterações sensoriais, o final da oxidação altera as propriedades nutricionais do alimento e os produtos secundários formados se mostram tóxicos ao organismo (SALDAÑA; MARTÍNEZ-MONTEAGUDO, 2013). Estes compostos causam a diminuição da fluidez das membranas e na função de suas barreiras, além de alterações na síntese proteica e atividade enzimática. Além disso, a toxicidade dos produtos formados pode gerar efeitos neurológicos, hepáticos e nefrológicos (REPETTO; SEMPRINE; BOVERIS, 2012).

A oxidação de óleos e gorduras também pode ser ocasionada pelo processo de termoxidação e fotoxidação. A termoxidação ocorre quando se tem temperaturas elevadas (superiores a 180 °C) gerando alterações estruturais devido ao rompimento nas ligações carbono-carbono e carbono-hidrogênio, formando então peróxidos,

hidroperóxidos, aldeídos entre outros. Já na fotoxidação o processo ocorre devido à presença de fotossensibilizadores nos óleos, como a clorofila (MACHADO, 2014).

Para evitar que o processo oxidativo ocorra nos alimentos pode-se remover o oxigênio, adicionar antioxidantes ou utilizar embalagens adequadas que impeçam entrada de luz, calor ou gases (MIN; BOFF, 2002).

A resistência de um óleo à oxidar é atribuída ao perfil de ácidos graxos e à quantidade de antioxidantes, então o monitoramento da estabilidade oxidativa é um ponto importante para se avaliar a qualidade de óleos e gorduras, podendo ser verificada por parâmetros que medem a oxidação primária ou secundária (REDONDO-CUEVAS et al., 2017).

Diferentes técnicas são utilizadas para avaliar a oxidação de óleos vegetais, como os índices de qualidade e identidade, Rancimat, técnicas ópticas e térmicas (OLIVEIRA et al., 2017).

2.7.4 Índices de qualidade e identidade de óleos vegetais

Os lipídeos estão associados a outras moléculas por meio das interações de Van der Waals, se fazendo necessário o emprego de tratamentos químicos e físicos para a sua separação e determinação (SHAHIDI; WANASUNDARA, 2002).

As análises de lipídeos são fundamentais para determinar qualidade, uniformidade e valor nutritivo, sendo realizadas por meio dos índices de qualidade e identidade. Estes índices focam nos parâmetros mais importantes que determinam a atual condição química dos óleos vegetais, sendo eles o índice de acidez, saponificação, peróxido, iodo e refração (KHODDAMI; MAN; ROBERTS, 2014).

O Índice de Acidez (IA) indica o número em miligramas de KOH para neutralizar os ácidos graxos em um grama de amostra. Assim, ele mede os ácidos graxos livres presentes e quanto maior o valor encontrado, maior é a quantidade de ácidos graxos livres, sendo então menor a qualidade do óleo, visto que apresenta tendência à rancificação (SHAHIDI; WANASUNDARA, 2002; AREMU; IBRAHIM; ANDREW, 2017). O valor recomendado de IA para óleos virgens prensados a frio é de 4,0 mg KOH/g de óleo, e no caso de valores superiores, recomenda-se o uso do óleo para fins não alimentares, como para a fabricação de tintas, sabão e shampoos (CODEX-STAN 210, 1999; AREMU; IBRAHIM; ANDREW, 2017).

O Índice de Saponificação (IS) indica o comprimento da cadeia por meio do peso molecular médio dos ácidos graxos. Seus resultados são dados em miligramas de KOH necessários para saponificar um grama de óleo, valores ≥ 200 mg KOH/g indicam a presença de ácidos graxos de baixo peso molecular. Os óleos de palma e coco apresentam valores superiores a 200 mg KOH/g, visto que possuem altas concentrações de ácido graxo palmítico, mirístico e láurico (SHAHIDI; WANASUNDARA, 2002; ENDO, 2018).

O Índice de Peróxido (IP) é um dos parâmetros mais utilizados para mensurar os hidroperóxidos, já que consegue identificar os processos oxidativos em óleos logo em suas etapas iniciais (ENDO, 2018). O método iodométrico é o mais utilizado, se observando através dele a redução dos hidroperóxidos com o íon iodeto, sendo a concentração de iodo proporcional à quantidade de peróxidos presentes (SHAHIDI; WANASUNDARA, 2002). Valores superiores a 15 mEq de oxigênio ativo/kg de óleo não são recomendados para óleos virgens prensados a frio, visto que indica que o mesmo já se encontra em processo oxidativo (CODEX-STAN 210, 1999).

O Índice de Iodo (II) indica o grau de insaturações dos ácidos graxos, seus ésteres e potenciais oxidativos por meio da análise do número em gramas de iodo que é absorvido em 100 gramas de lipídeos. Ele fornece informações a respeito das insaturações presentes, sendo necessário realizar a análise sob ausência de luz e com excesso de reagente halogêneo (SHAHIDI; WANASUNDARA, 2002; KHODDAMI; MAN; ROBERTS, 2014). Valores altos indicam que o óleo está mais propenso a ser oxidado, sendo então sua estabilidade reduzida. Os valores obtidos para o II vão depender do tempo de contato, qual solução está sendo empregada bem como o método adotado, sendo o mais comum o método de Wijs (AREMU; IBRAHIM; ANDREW, 2017; CICONINI, 2012).

O Índice de Refração (IR) corresponde à razão entre a velocidade da luz no vácuo e a velocidade da luz no óleo em uma determinada temperatura. Seus valores aumentam de acordo com o número de ligações duplas presentes no óleo (KHODDAMI; MAN; ROBERTS, 2014). Este índice mostra a viscosidade que um óleo apresenta, sendo os óleos viscosos um indício de produtos já deteriorados devido à formação de polímeros que conferem esta característica (ENDO, 2018). O IR possui ainda relação com o II, visto que ele diminui conforme o II também diminui, sendo

utilizados em conjunto para fornecer informações a respeito da pureza dos óleos (SHAHIDI; WANASUNDARA, 2002).

2.7.5 Técnicas ópticas

2.7.5.1 Espectroscopia de absorção de luz ultravioleta - visível (UV-Vis)

A espectroscopia de absorção UV-Vis é uma técnica menos utilizada quando comparada a outras técnicas ópticas, mas fornece informações a respeito da qualidade de óleos, sendo utilizada para a avaliação e monitoramento de petroquímicos e fármacos, por exemplo (SHAHIDI; WANASUNDARA, 2002; TREVISAN; POPPI, 2006).

Por meio desta técnica observam-se as transições eletrônicas que causam a absorção de energia na região ultravioleta (200-400 nm) e absorção na região visível (400-780 nm) (Figura 20) (TREVISAN; POPPI, 2006). O espectrofotômetro compara as intensidades transmitidas em um canal contendo a amostra, e em outro contendo um material referência. Estas intensidades oferecem dados de quantidade e tipos de moléculas que estão absorvendo a luz, sendo estas moléculas conhecidas como cromóforas (CHIMENEZ, 2011).

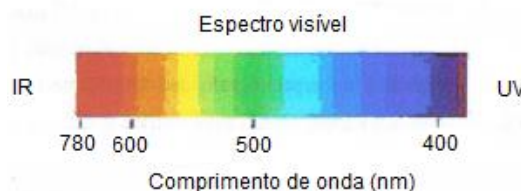


Figura 20. Espectro da luz visível.

Fonte: Hernandez, 2009.

Através desta técnica é possível monitorar a oxidação dos triacilglicerois com base no aumento da absorção na faixa de 240 a 270 nm, que correspondem às fases primária e secundária da oxidação, respectivamente (OLIVEIRA et al., 2017). Na fase primária o aumento da absorção ocorre por conta dos produtos formados durante a degradação, como os dienos conjugados. Já na fase secundária se tem a formação de dicetonas e cetonas insaturadas. Ambas as fases têm sua absorção ocasionada devido às transições $\pi-\pi^*$ (SILVA et al., 2015).

As transições $\pi-\pi^*$ ocorrem em compostos carbonílicos onde os elétrons π do oxigênio ou enxofre estão ligados ao carbono, compostos insaturados e anéis

aromáticos (ALVES, 2015). A absorção na faixa de 215 nm está relacionada à transição $\pi-\pi^*$ de cadeia não conjugada carbono-carbono, enquanto que a absorção na faixa de 235 nm está relacionada à transição $\pi-\pi^*$ em dienos conjugados (MAGALHÃES et al., 2013).

De maneira geral a espectroscopia UV-Vis, mesmo não sendo seletiva, fornece informações a respeito da estrutura da amostra analisada, sendo então uma técnica fundamental para a análise de diferentes amostras (ALVES, 2015).

2.7.5.2 Espectroscopia de fluorescência

A técnica de espectroscopia de fluorescência, também conhecida como fotoluminescência, é outro parâmetro utilizado para avaliar o processo oxidativo. Nesta técnica se tem o monitoramento da absorção da luz que causa a excitação da molécula (CHIMENEZ, 2011; OLIVEIRA et al., 2017).

Através dela é possível observar dois espectros: o de emissão e excitação. O espectro de emissão corresponde à intensidade de radiação que está sendo emitida em um comprimento de onda específico (comprimento de onda curto). Já o espectro de excitação é a intensidade da radiação que está sendo absorvida em um comprimento de onda específico (comprimento de onda longo) (CHITARRA; CHITARRA, 2005; CHIMENEZ, 2011).

A espectroscopia de fluorescência é dividida em: fluorescência (quando o estado excitado é singleto) e fosforescência (quando o estado excitado é tripleto), sendo mais comum a ocorrência da fluorescência (CHIMENEZ, 2011).

A produção da fluorescência ocorre quando as moléculas excitadas retornam para o seu estado fundamental. A fluorescência de óleos vegetais está atribuída aos compostos presentes em sua composição, como tocoferóis, carotenoides e produtos de degradação da clorofila. Cada composto fluoresce a um determinado comprimento de onda, sendo a clorofila a e b entre 660 a 700 nm e os carotenoides entre 500 a 600 nm (HERNANDEZ, 2009; MAGALHÃES et al., 2013).

Esta técnica é considerada seletiva, visto que os comprimentos de onda vão depender da molécula que se quer observar, sendo possível então identificar detalhes estruturais através dos espectros formados, da amostra analisada. Além disso, é uma técnica importante para a identificação de adulterações em biodiesel e óleos (CHIMENEZ, 2011; MAGALHÃES et al., 2013; HERNANDEZ, 2009).

2.7.6 Estabilidade oxidativa: Rancimat

O método Rancimat se tornou disponível na década de 1980, se fazendo necessário a utilização de um aparelho disponível pela Metrohm Ltd. (Herisau, Suíça). Ele se baseia nas mudanças na condutividade de uma amostra que está exposta a altas temperaturas (100 °C) e sob certas condições de fluxo de ar constante, sendo o tempo de indução proporcional à condutividade (Figura 21) (MACHADO, 2014).

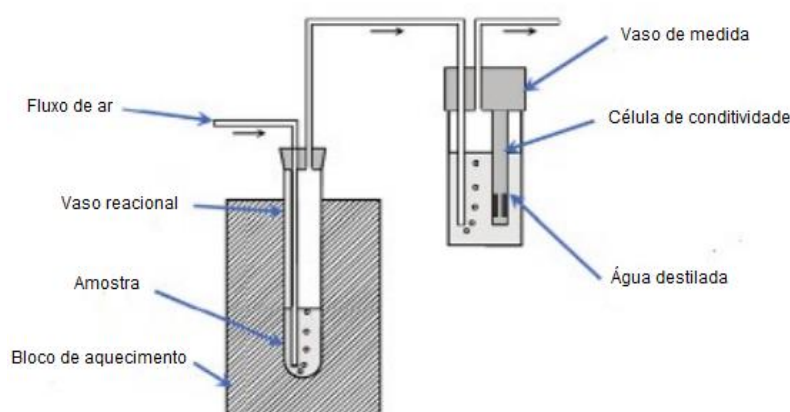


Figura 21. Princípio do funcionamento do equipamento Rancimat e seus componentes.

Fonte: Machado, 2014.

Neste processo ocorre a produção de ácidos orgânicos voláteis e iônicos, como o ácido fórmico, de forma acelerada e repentina. Esta mudança indica o período de tempo que foi necessário para oxidar o óleo estando então relacionado com as alterações organolépticas do alimento, principalmente relacionadas ao sabor (SHAHIDI; WANASUNDARA, 2002; NIETO; HODAIFA; PEÑA, 2010; REDONDO-CUEVAS et al., 2018).

Através deste método é possível verificar a resistência que um óleo possui para iniciar o processo oxidativo, que é caracterizado pelas reações dos radicais livres. A resistência de um óleo para ser deteriorado varia de acordo com o perfil de ácidos graxos e compostos menores que possuem alto poder antioxidante, que estão presentes na amostra, sendo então fundamental o conhecimento prévio de ambos (NIETO; HODAIFA; PEÑA, 2010).

O método Rancimat permite ainda realizar ajustes nas variáveis como peso da amostra, taxa do fluxo de ar e temperatura para verificar todas as possíveis

condições de estabilidade oxidativa e assim prever melhores prazos de vida útil da amostra analisada (PAWAR et al., 2014).

Além disso, o método oferece resultados rápidos, de fácil reprodução e não requer a utilização de solventes orgânicos. Seus resultados ainda se correlacionam com outras medidas de oxidação avançada (colorimetria de varredura diferencial), como também de oxidação primária (índice de peróxido), gerando então resultados mais completos (PAWAR et al., 2014; REDONDO-CUEVAS et al., 2018).

2.7.7 Análise térmica: Termogravimetria/Termogravimetria Diferencial (TGA/DTG)

As análises térmicas oferecem informações importantes a respeito das propriedades de uma amostra (massa, estabilidade térmica, água livre, pureza, ponto de fusão, entre outros) em função da temperatura. Dentre as técnicas utilizadas estão a termogravimetria (TGA) e análise térmica diferencial (DTG) (IONASHIRO, 2004; MISUTSU et al., 2015).

A TGA avalia as alterações do peso de uma amostra, de maneira constante, em relação à temperatura ou tempo. Como resultado é possível observar alterações neste peso em decorrência da saída de produtos voláteis, oferecendo então resultados quantitativos (IONASHIRO, 2004; MISUTSU et al., 2015).

A amostra é colocada em um equipamento contendo uma balança analítica com aquecimento programado e conforme ocorre o aumento da temperatura e/ou tempo observa-se a redução do peso, que é registrado por um sensor. Os resultados gerados são convertidos em gráficos podendo ser apresentados de diferentes formas, sendo a mais comum a relação massa e temperatura ou massa e tempo (Figura 22) (MISUTSU et al., 2015; HEMMINGER; SARGE, 1998; GALLAGHER, 1998).

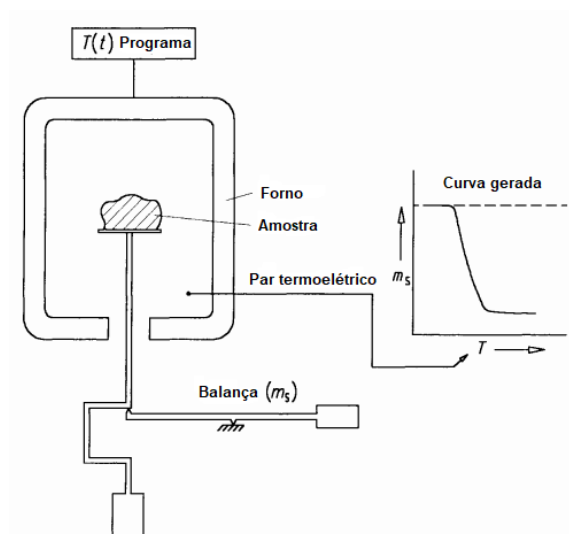


Figura 22. Configuração básica de uma termobalança.
Fonte: Adaptado de Hemminger e Sarge, 1998.

Atrelado a TGA está a termogravimetria derivada (DTG), que oferece a derivada da TGA, permitindo obter com exatidão a temperatura inicial e final dos eventos, bem como o momento de reação máxima. Além disso, a DTG permite verificar eventos que não podem ser observados apenas na TGA e até mesmo comparar o efeito de diferentes atmosferas (Figura 23) (IONASHIRO, 2004; GALLAGHER, 1998).

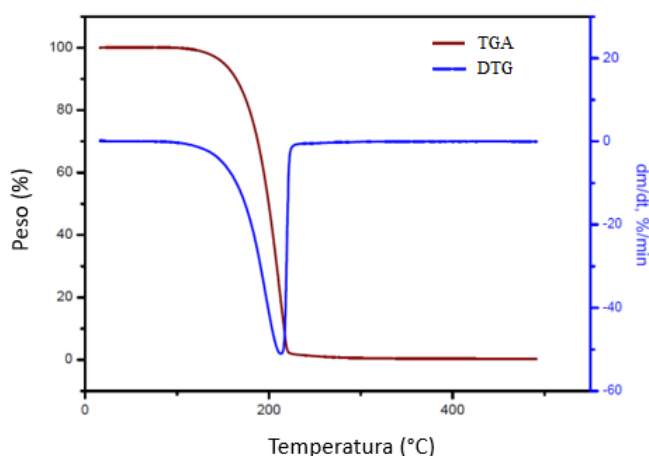


Figura 23. Curva típica TGA/DTG.
Fonte: Adaptado de Misutsu et al., 2014.

Dentre as vantagens da utilização destas técnicas está a necessidade de pequenas quantidades de amostra, podendo ser aplicável para diferentes áreas (nutrição, farmácia e química) e oferece uma ampla variedade de resultados em um

único gráfico. Porém, por ser uma técnica mais refinada, necessita de equipamentos específicos que em sua maioria são de elevado custo, não sendo então uma técnica de fácil acesso (MISUTSU et al., 2015).

As curvas geradas podem ser afetadas por fatores como a razão de aquecimento do forno, atmosfera que está sendo empregada, tamanho da amostra, condutividade térmica da amostra entre vários outros, mas de forma geral gera resultados seguros e úteis para a indústria (IONASHIRO, 2004).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar as alterações ocasionadas pelos estádios de maturação na composição química de frutos de *B. cydoniifolia*, bem como avaliar a qualidade e estabilidade lipídica dos óleos extraídos.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar os estádios de maturação dos frutos de *B. cydoniifolia* por meio de análises de qualidade pós-colheita;
- Determinar a capacidade antioxidante dos frutos e o perfil de compostos bioativos;
- Determinar o perfil de ácidos graxos, índices de qualidade e identidade dos óleos extraídos dos frutos;
- Caracterizar os óleos por meio de técnicas ópticas, assim como avaliar sua estabilidade oxidativa e térmica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material vegetal

Os frutos foram coletados manualmente em áreas alagadas na região de Corumbá no Pantanal de Mato Grosso do Sul (latitude: 19° 36' 14,36" sul, longitude: 57° 02' 48,90" oeste) nos meses de janeiro e fevereiro de 2017. Em seguida foram transportados ao Laboratório de Processamento de Alimentos da Unidade de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição (FACFAN) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), onde foram separados em três estádios de maturação definidos com base na coloração da casca (imaturo = totalmente verde, intermediário = metade da casca amarela e maduro = totalmente amarela) (Figura 24).



Figura 24. Frutos de *Byrsonima cydoniifolia* nos estádios imaturo, intermediário e maduro, respectivamente.

Fonte: Arquivo pessoal, 2017.

Por fim, foram higienizados em água clorada (200 ppm) durante 15 minutos, secos em temperatura ambiente (25 °C) e acondicionados em sacos plásticos mantidos sob refrigeração a -18 °C até o uso para as análises. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Por meio da coleta realizada em 2017, também foi possível a montagem de uma exsicata, que foi registrada no Herbário da CGMS UFMS sob nº 59035.

O trabalho foi cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o nº de cadastro A5BB3DA, conforme previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos (ANEXO A).

4.2 Análises dos frutos e óleos

As análises químicas dos frutos foram realizadas na UFMS, campus Campo Grande – MS, na Unidade de Tecnologia de Alimentos e no Laboratório de Físico-Química de Alimentos da FACFAN.

As análises referentes a carotenoides totais, suas frações e ensaio ORAC foram realizadas na Embrapa-Hortaliças de Brasília (DF) e Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), respectivamente.

As análises referentes às técnicas ópticas e térmicas foram realizadas na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, campus Campo Grande – MS, no Instituto de Física e Instituto de Química, respectivamente.

4.3 Composição química dos frutos

4.3.1 Umidade

A umidade foi determinada pelo método de secagem direta em estufa a 105 °C, sendo pesado cerca de 5 g de amostra em cápsula de porcelana, previamente tarada, e em seguida colocada em estufa até a obtenção de peso constante. Os resultados foram expressos em g de umidade em 100 g de amostra (AOAC, 1997 – método 934.06).

4.3.2 Sólidos solúveis totais (SST)

O teor de SST foi determinado com o auxílio de refratômetro digital (HI 96801°, Hanna Instruments, USA), com compensação automática de temperatura, em que a polpa dos frutos foi triturada e comprimida com o auxílio de gaze, sendo os resultados expressos em °Brix (AOAC, 1997 – método 932.12).

4.3.3 Acidez titulável total (ATT)

A ATT foi realizada por meio de titulação com NaOH 0,1N em extrato aquoso (4 g de polpa triturada:50 mL de água destilada) utilizando fenolftaleína como indicador de mudança de pH. Os resultados foram expressos em % de ácido cítrico (AOAC, 1997 – método 942.15).

4.3.4 Razão SST/ATT

Foi calculado pela relação dos teores de sólidos solúveis e acidez titulável (SST/ATT).

4.3.5 pH

O pH foi determinado utilizando um potenciômetro (pH 21, Hanna Instruments, USA). O aparelho foi calibrado utilizando-se solução tampão de pH 4 e 7 e em seguida realizou-se a leitura em extrato aquoso (10 g de polpa triturada:20 mL de água destilada) (AOAC, 1997 – 981.12).

4.3.6 Lipídeos

O teor de lipídeos foi quantificado a partir da extração direta com éter de petróleo em extrator de Soxhlet (TE-188/6, Tecnal, Brasil). Previamente, os frutos foram colocados em estufa de ventilação a 40 °C por 48 horas, em seguida foram triturados com o auxílio de moinho e cerca de 3 g de amostra utilizada para a análise. Os resultados foram expressos em gramas por 100 g de massa fresca (g/100 g) (AOAC, 1997 – método 920.39).

4.3.7 Carboidratos solúveis

Para a determinação de carboidratos solúveis foi utilizado o método fenol-sulfúrico adaptado de Dubois et al. (1956). Primeiramente preparou-se um extrato aquoso (10 g de polpa triturada:70 mL de água destilada) que foi diluído em água destilada (2 mL de extrato:100 mL de água destilada) e adicionado 1 mL de solução fenol e 5 mL de ácido sulfúrico. Foi realizado um branco e como padrão utilizou-se solução de glicose (40 µg/mL). As leituras da absorbância foram realizadas em UV/Vis espectrofotômetro (S50PC, Biochrom Libra Instruments, United Kingdom) a 490 nm e os resultados foram expressos em g/100 g de fruto fresco.

4.4 Compostos bioativos e atividade antioxidante

4.4.1 Preparo dos extratos

Para o preparo dos extratos das análises da atividade antioxidante, fenois totais e taninos, aproximadamente 12,5 g de polpa triturada foi homogeneizada em 80 mL de metanol e em seguida foi levado para banho ultrassônico (USC-1600A, Unique, Brasil) em temperatura ambiente (25 °C) durante uma hora. Em seguida os extratos foram filtrados em papel de filtro (125 mm, Qualy Comercial Eireli, Brasil) e o

volume foi completado para 100 mL com metanol. Os extratos foram acondicionados em frascos âmbar escuros e ao abrigo da luz.

4.4.1 Atividade antioxidante – DPPH

A determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), adaptado de Fukumoto e Mazza (2000), foi realizado tanto para os extratos dos frutos como para os óleos. As análises foram realizadas em microplacas por meio de diluição seriada da amostra, onde adicionaram-se 25 µL de etanol, 25 µL da amostra e 200 µL de DPPH. As absorbâncias foram detectadas a 520 nm após seis horas de repouso com o auxílio de espectrofotômetro (Thermo Scientific Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific Corporation, USA). Como padrão foi utilizado Trolox (ácido (±) -6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico). Para o cálculo do IC₅₀ foi utilizada a equação obtida a partir da curva padrão onde substitui-se o y pelo valor de 50 obtido das amostras, sendo o resultado expresso em µg/mL de extrato.

4.4.2 Atividade antioxidante – ORAC

A atividade antioxidante dos frutos também foi determinada pelo ensaio ORAC. Adicionou-se ao extrato fluoresceína diluída em tampão fosfato (pH 7,4) e AAPH (2,2'-Azobis (2-amidinopropano) em microplacas escuras e ao abrigo da luz. As leituras foram realizadas sob o comprimento de onda de 485 nm (excitação) e 520 nm (emissão) e a fluorescência foi verificada a cada minuto durante 80 minutos a 37 °C em espectrofotômetro (Synergy HT, Biotek, USA). Como padrão foi utilizado Trolox e os resultados foram expressos em µmol Trolox equivalente (TE)/g de extrato (OU et al., 2013).

4.4.3 Fenois totais e taninos

A quantificação dos fenois totais e taninos foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu adaptado de Swain e Hills (1959). As análises foram realizadas em microplacas por meio de diluição seriada da amostra onde foram adicionados 25 µL de metanol, 25 µL de extrato da amostra, 75 µL de água Milli-Q, 25 µL de solução de Folin e 100 µL de carbonato de sódio.

Para os taninos, os extratos foram modificados pela adição de 10 mg de pó-de-pele (Sigma H0162) em 10 mL de extrato que foi centrifugado a 300 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante foi removido e utilizado para as análises. As absorbâncias foram detectadas após 90 minutos de repouso a 590 nm em espectrofotômetro (Thermo Scientific Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific Corporation, USA). Como padrão foi utilizado ácido gálico e os resultados expressos em mg equivalentes de ácido gálico (AGE)/100 g de extrato.

4.4.4 Ácido ascórbico

A análise de ácido ascórbico foi realizada pelo método titulométrico de Tillmans (RANGANNA, 1977). Cerca de 10 g de polpa triturada foi homogeneizada em 50 mL de ácido oxálico 0,5% em agitador durante 20 minutos. Em seguida os extratos foram filtrados em gaze e o volume de 100 mL completado com ácido oxálico. Aproximadamente 7 mL do extrato foram utilizados para a titulação, que ocorreu ao abrigo de luz, até ocorrer a mudança de coloração para rosa. Como padrão foi utilizada solução de ácido ascórbico (50 µg/mL) e os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico (AA)/100 g de fruta fresca.

4.4.5 Carotenoides totais e frações

A composição de carotenoides foi analisada pela metodologia descrita por Maldonado, Rodriguez-Amaya e Scamparini (2012). Os frutos foram macerados com hyflo supercel com o auxílio de pilão e os pigmentos extraídos com acetona. Os carotenoides foram transferidos para éter de petróleo em um funil de separação, adicionando-se água destilada e lavados para eliminar a acetona. A solução de pigmento foi seca com sulfato de sódio anidro e o volume foi ajustado em balão volumétrico. Posteriormente, o teor total de carotenoides foi determinado pela medida da absorbância a 445 nm e utilizando a fórmula fornecida por Davies (1976). O coeficiente de absorção da luteína ($A_{1\%}^{1\text{ cm}} = 2550$) foi utilizado por ser o principal carotenoide, e as concentrações foram expressas como teor de carotenoides (mg/ 100g).

Os carotenoides foram estimados com o uso combinado de vários parâmetros: espectros de absorção UV/visível, tempos de retenção de HPLC e estrutura fina

espectral (% III/II) de acordo com Rodriguez-Amaya (1999). Foi utilizado padrão externo de luteína e β -caroteno. Os eluatos foram concentrados e secos sob azoto e redissolvidos em 1 mL de acetona com o auxílio de sonicação. Em seguida, uma alíquota de 20 mL foi injetada no equipamento de HPLC (SHIMADZU, SPD-M20A, Japão) usando detector de arranjo de diodos. A coluna utilizada foi C18, Waters C18 Spherisorb (3 μ m, 4,6 μ m x 150 mm), com vazão de 0,8 mL/min, e a fase móvel foi acetonitrila: metanol: acetato de etila na razão de 80:10:10 gradiente isocrático durante 40 minutos.

4.5 Coloração

A coloração dos frutos e óleos foi medida por meio de colorímetro (CM-2300d, Konica Minolta, USA), que expressa os resultados em escala de CIE $L^*a^*b^*$, onde L^* indica a luminosidade, a^* representa a faixa de cor do vermelho ao verde e b^* representa a faixa de cor do amarelo ao azul. A partir dos resultados obtidos os índices do ângulo *hue* e croma (C^*) foram determinados (MINOLTA CORPORATION, 1994).

4.6 Perfil de ácidos graxos

Para determinar a composição de ácidos graxos, os lipídeos foram extraídos com mistura de solventes contendo a relação 20:10:8 de metanol: clorofórmio: água destilada, de acordo com extração a frio pelo método de Bligh e Dyer (1959). Os ácidos graxos foram esterificados com 4,0 mL de solução de NaOH 0,5 N em metanol, 4 mL solução saturada de NaCl, 5 mL solução esterificante (cloreto de amônio, metanol e ácido sulfúrico) e 5,0 mL de hexano (Adaptado de Maya e Rodriguez-Amaya, 1993).

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados por cromatografia gasosa (GC 2010, Shimadzu, Japão) para obter seus picos individuais. No equipamento utilizou-se um detector de ionização de chama (FID) e uma coluna capilar (BPX-70, diâmetro interno de 0,25 mm, 30 m de comprimento e filme de 0,25 mm de espessura). A temperatura do injetor e do detector foi de 250 °C. A temperatura inicial da coluna foi mantida a 80 °C por 3 minutos e então aumentada a 10 °C/min até atingir 140 °C, seguida de um aumento para 240 °C a 5 °C/min por 5

minutos. Os picos individuais do FAME foram identificados comparando seu tempo de retenção relativo com o padrão de 37 FAMES (fatty acid methyl ester) (Sulpeco C22, 99% puro).

4.7 Análises de qualidade e identidade dos óleos

4.7.1 Extração dos óleos

Os óleos foram extraídos a partir de 200 g de frutos secos e triturados adicionados a 200 mL de éter de petróleo durante 48 horas. Após este período, a mistura éter/óleo foi filtrada e o solvente removido com o auxílio de evaporador rotativo (802d, Fisatom, Brazil) a 40 °C. O solvente residual foi removido com o auxílio de corrente de nitrogênio. Os óleos foram acondicionados em frascos âmbar escuro, ao abrigo da luz e em temperatura ambiente (25 °C). As análises foram realizadas logo em seguida.

4.7.2 Índice de acidez

O índice de acidez foi determinado pela adição aos óleos, da solução éter-álcool (1:1) e indicador fenolftaleína. Como titulante utilizou-se hidróxido de sódio (NaOH) 0,01N até o aparecimento da coloração rosa (AOCS, 1990 – método Ca 5a-40).

4.7.3 Índice de peróxido

A determinação do Índice de peróxido foi realizada com a adição aos óleos exatamente pesados, de 5,0 mL solução ácido acético-clorofórmio (3:2), 0,1 mL de solução saturada de iodeto de potássio e 0,1 mL de solução de amido solúvel 1% como indicador de alteração de coloração, com posterior repouso ao abrigo de luz. A titulação foi realizada com solução de tiosulfato de sódio a 0,01N (AOCS, 1990 – método Cd 8-53).

4.7.4 Índice de refração

O índice de refração foi obtido com o auxílio de refratômetro de Abbé (RL3, Tecnal, Brasil) calibrado com água destilada, com o índice de refração de 1,3330, em 20 °C, com temperatura corrigida para 40 °C (AOCS, 1990 – método Cc 7-25).

4.7.5 Índice de iodo

O índice de iodo foi obtido a partir da adição aos óleos pesados, de tetracloreto de carbono e solução de Wijs. Como titulante, utilizou-se tiosulfato de sódio padronizado até a mudança de cor de preto para rosa (AOCS, 1990 – método Cd 1-25).

4.7.8 Índice de saponificação

O índice de saponificação foi determinado pela adição de solução alcóolica de KOH a 4%, à amostra que foi levada para refluxo durante uma hora. Em seguida adicionou-se fenolftaleína como indicador de mudança de coloração e a titulação foi feita com HCl 0,5 N até a mudança de coloração para rosa (AOCS, 1990 – método Cd 3-25).

4.8 Análise óptica dos óleos: absorção UV-Vis e matriz de fluorescência de emissão-excitação

Os óleos foram diluídos em hexano (grau espectroscópico 99,9%) a $1,0 \times 10^{-3}$ g.mL⁻¹. As médias de absorção de UV-Vis foram realizadas utilizando um espectrofotômetro (Lambda 265 UV/Vis, Perkin Elmer, EUA) e uma cubeta de quartzo com um percurso de 1 cm. Os espectros de absorção UV-Vis foram coletados na faixa de 200-750 nm. Medições de fluorescência dos óleos foram realizadas em um espectrofluorômetro (FS-2, Scinco, Coréia). As matrizes de emissão-excitação da fluorescência foram obtidas excitando as amostras na faixa de 250 a 550 nm e recolhendo a emissão entre 270 e 750 nm. Uma cubeta de quartzo com um percurso óptico de 1 cm e com quatro faces polidas foi utilizada como porta-amostras. Todas as medições ópticas foram realizadas à temperatura ambiente.

4.9 Estabilidade oxidativa: Rancimat

A estabilidade oxidativa foi determinada obtendo-se o período de indução através do teste de Rancimat, segundo o método EN 14112, utilizando o equipamento Rancimat (893 Professional Biodiesel Rancimat, Metrohm, Brasil). As análises foram realizadas adicionando 3,0 g do óleo sem diluição a uma reação de vaso de vidro a 110 °C e analisadas sob fluxo de ar constante de 10 L/h, que passou pelas amostras e depois em um recipiente de medição contendo 50 mL de

água ultrapura, em que a condutividade gerada pelos produtos voláteis durante a degradação do óleo vegetal foi medida em função do tempo (Comitê Europeu de Padronização, 2003).

4.10 Análises térmicas: Termogravimetria/Termogravimetria Diferencial (TGA/DTG)

As análises de TGA / DTG dos óleos foram realizadas com aproximadamente 8 mg de amostra em um sistema de análise térmica (TGA Q50, TA Instruments, EUA) sob atmosfera de nitrogênio inerte com fluxo de purga de 60 mL/min na estufa, com aquecimento com taxa de 10 °C/min, e faixa de temperatura variando entre 20 e 900 °C, usando cadinhos de platina para suporte.

4.11. Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicata, e os resultados foram expressos como médias $\pm$ desvio padrão. Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição química dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia*

Os resultados da composição química dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* nos três estágios de maturação se encontram descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* em três estádios de maturação.

Parâmetros	Imaturo	Intermediário	Maduro
Umidade (g/100 g)	65,11±1,40 ^a	64,94±1,82 ^a	65,55±2,15 ^a
Sólidos Solúveis (°Brix)	13,07±1,38 ^a	11,48±2,50 ^a	11,34±0,60 ^a
Acidez Titulável (% ácido cítrico)	3,14±0,08 ^a	3,21±0,14 ^a	3,04±0,07 ^a
Ratio	4,16±0,38 ^a	3,56±0,65 ^b	3,75±0,28 ^b
pH	3,82±0,06 ^a	3,81±0,02 ^a	3,57±0,04 ^a
Carboidratos solúveis (g/100 g)	6,23±0,37 ^a	6,79±0,34 ^a	4,15±1,07 ^b
Lipídeos (g/100 g)	19,47±0,01 ^b	18,77±0,03 ^b	25,26±0,01 ^a

*As médias foram determinadas em triplicata. Valores expressos em média ± desvio padrão.

**Letras diferentes na mesma linha representam diferenças significativas $p < 0,05$.

Os frutos de canjiqueira não apresentaram diferenças significativas entre os três estádios de maturação em seu teor de umidade, que variou de 64,94 a 65,55%. Estes valores se mostraram inferiores quando comparados aos relatados nas espécies *B. verbascifolia* (71,58%) e *B. crassifolia* (82,48-84,81%), armazenadas sob diferentes condições (HAMACEK; MARTINO; PINHEIRO-SANT'ANA, 2014; MOTA et al., 2016). Sugere-se que estas alterações ocorram devido às condições ambientais, como estresse hídrico e tipo de solo, bem como o estágio de maturação e fatores genéticos de cada espécie (MONTEIRO; PIRES, 2016).

De forma geral, os frutos apresentam altos teores de umidade, que, quando associados à fragilidade de sua casca, acabam aumentando a susceptibilidade aos danos mecânicos, durante transporte e armazenamento, e assim acelerando a degradação por ação enzimática que ocorre mais rapidamente (HAMACEK; MARTINO; PINHEIRO-SANT'ANA, 2014).

O teor de SST também não apresentou diferença significativa durante o amadurecimento dos frutos de canjiqueira, sendo possível observar uma diminuição em seu conteúdo. Sugere-se que esta diminuição esteja relacionada à degradação dos açúcares e ácidos orgânicos durante os processos respiratórios (HAMACEK; MARTINO; PINHEIRO-SANT'ANA, 2014). Os resultados encontrados mostraram-se inferiores ao encontrados em frutos imaturos (17 °Brix) e maduros (12,60 °Brix) da

mesma espécie. Possivelmente estas diferenças, especialmente no estágio imaturo, se deram devido à presença de taninos que interferem na análise por meio da refratometria, conforme apontado pelos autores (PRATES et al., 2015). Por outro lado, nossos resultados mostraram-se similares aos encontrados nos frutos maduros das espécies *B. verbascifolia* (10,73 °Brix) e *B. crassifolia* (8,2-12,3 °Brix) (HAMACEK; MARTINO; PINHEIRO-SANT'ANA, 2014; SIGUEMOTO, 2013).

Em relação à ATT foi possível observar uma redução nos valores durante o amadurecimento, porém não houve diferenças significativas entre os estádios. Os resultados encontrados neste estudo foram superiores ao reportados em frutos imaturos (1,08 g de ácido cítrico/100 g) e maduros (0,90 g de ácido cítrico/100 g) da mesma espécie e em frutos maduros da espécie *B. verbascifolia* (0,77 g de ácido cítrico/100 g) (PRATES et al., 2015; HAMACEK; MARTINO; PINHEIRO-SANT'ANA, 2014).

A razão SST e ATT verifica o equilíbrio existente entre os açúcares e ácidos orgânicos (HAMACEK; MARTINO; PINHEIRO-SANT'ANA, 2014). Os valores encontrados para este parâmetro apresentaram diminuição durante o amadurecimento, sendo os frutos imaturos os que apresentaram maiores valores, mostrando-se significativamente diferente dos demais estádios. Os resultados encontrados se mostraram inferiores ao encontrado em frutos maduros das espécies *B. verbascifolia* (13,94) e *B. crassifolia* (5,72-8,10) (HAMACEK; MARTINO; PINHEIRO-SANT'ANA, 2014; MOTA et al., 2016).

Os valores de pH também se reduziram durante o amadurecimento, todavia sem alterações significativas entre os estádios. Os valores foram próximos aos encontrados em frutos maduros de *B. crassifolia* (3,19-3,77) e *B. verbascifolia* (3,93) (MOTA et al., 2016; HAMACEK; MARTINO; PINHEIRO-SANT'ANA, 2014).

Estes resultados podem estar relacionados com a solubilização dos açúcares, verificados nos resultados de SST, que causaram um aumento na acidez. Esta acidez encontrada nos frutos maduros indica que estes podem ser utilizados pela indústria para o processamento de produtos que exijam uma acidez maior de sua matéria-prima, como por exemplo na fabricação de geleias (MOTA et al., 2016; SCHIASSI et al., 2017).

Outro parâmetro que diminuiu durante o amadurecimento dos frutos de canjiqueira foi o teor de carboidratos solúveis, cujos frutos maduros apresentaram

diferenças significativas quando comparados aos outros estádios. Assim como mencionado nos SST, essa redução nos teores dos açúcares durante a maturação de frutos ocorre devido à utilização dos polissacarídeos como fonte energética para a manutenção dos processos de crescimento e desenvolvimento das plantas (KELLMAN-SOPYLA et al., 2015).

Em relação ao conteúdo de lipídeos foi possível observar que durante o amadurecimento houve um aumento em seu teor, sendo os frutos maduros os que apresentaram diferenças significativas quando comparados aos demais estádios. Os resultados nos três estádios mostraram-se superiores ao encontrado na espécie *B. verbascifolia* (5,13 g/100 g) (HAMACEK; MARTINO; PINHEIRO-SANT'ANA, 2014).

É importante mencionar que variações relacionadas ao rendimento do conteúdo de lipídeos pode se dar devido às técnicas empregadas durante a extração, bem como fatores ambientais, estádios de maturação e parte extraída (KHODDAMI; MAN; ROBERTS, 2014). Os resultados encontrados indicam que os frutos maduros de canjiqueira apresentam altos teores de lipídeos, sendo uma fonte potencial de óleo vegetal ou para o uso na indústria de biocombustíveis ou cosméticos.

5.2 Atividade antioxidante e compostos bioativos dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia*

Os resultados da atividade antioxidante e compostos bioativos dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* nos três estágios de maturação se encontram descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Atividade Antioxidante e compostos bioativos dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* em três estádios de maturação.

Parâmetros	Imaturo	Intermediário	Maduro
DPPH ($\mu\text{g/mL}$)	0,07 $\pm$ 0,01 ^b	1,24 $\pm$ 0,13 ^a	0,11 $\pm$ 0,0 ^b
ORAC ($\mu\text{molTE/g}$)	27,62 $\pm$ 0,09 ^a	19,41 $\pm$ 0,60 ^b	8,80 $\pm$ 1,62 ^c
Fenois totais (mgAGE/100 g)	1582 $\pm$ 1,17 ^a	1591 $\pm$ 1,66 ^a	354 $\pm$ 0,98 ^b
Taninos (mgAGE/100 g)	145 $\pm$ 1,95 ^a	209 $\pm$ 2,36 ^a	98 $\pm$ 0,26 ^a
Ácido ascórbico (mg AA/100 g)	146,58 $\pm$ 4,22 ^b	184,72 $\pm$ 4,14 ^a	182,83 $\pm$ 4,0 ^a
Carotenoides (mg/100 g)	3,33 $\pm$ 0,08 ^b	3,26 $\pm$ 0,14 ^b	4,59 $\pm$ 0,15 ^a

*As médias foram determinadas em triplicata. Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão.

**Letras diferentes na mesma linha representam diferenças significativas $p < 0,05$.

A atividade antioxidante determinada pelo método DPPH mostrou que os extratos dos três estádios de maturação apresentam potencial antioxidante,

especialmente o estágio imaturo e maduro que foram estatisticamente semelhantes (Figura 25). Ambos se mostraram com capacidade antioxidante 44 e 31 vezes superior ao encontrado no padrão Trolox ($IC_{50} = 3,45 \mu\text{g/mL}$).

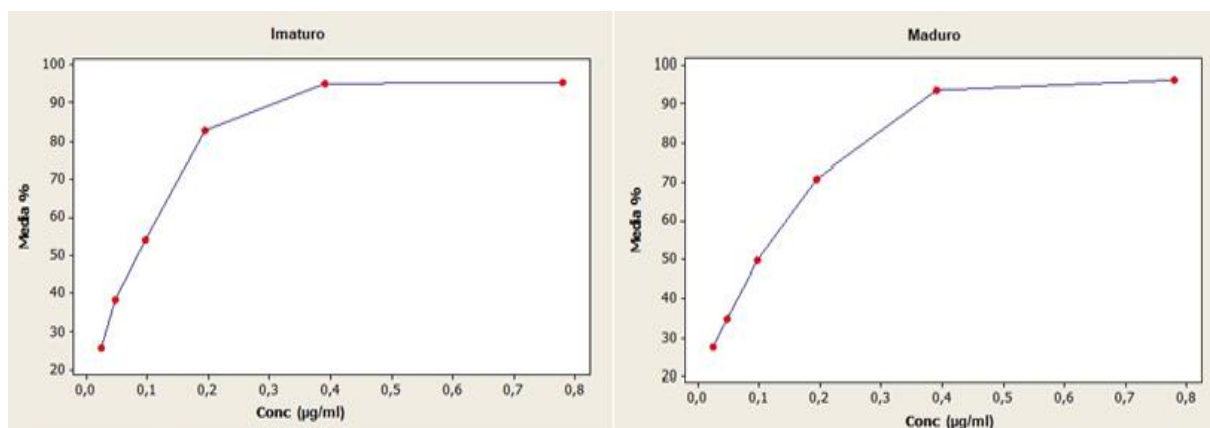


Figura 25. Curvas DPPH IC_{50} do extrato metanólico dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* no estágio imaturo e maduro.

Por sua vez, o extrato dos frutos imaturos de canjiqueira apresentaram menores valores quando comparados ao extrato dos frutos maduros, indicando ter a maior capacidade antioxidante. O mesmo foi observado em extrato hidroetanólico de frutos imaturos da mesma espécie quando comparado aos frutos maduros, sendo o IC_{50} de 4,63 e 12,83 mg/mL, respectivamente (PRATES et al., 2015). Este resultado se mostrou superior ao encontrado neste estudo, sugerindo-se que as diferenças ambientais do local de crescimento dos frutos e até mesmo as diferentes técnicas de preparo dos extratos tenha causado este resultado.

A atividade antioxidante pelo método ORAC mostrou que todos os estágios apresentaram diferenças significativas entre si, podendo ser observada uma redução em seus valores durante o amadurecimento. O resultado é semelhante ao encontrado em extratos das partes dos frutos de *B. crassifolia*, cuja polpa apresentou redução de 13,2 para 2,23 $\mu\text{molTE/g}$ e a casca de 24 para 10 $\mu\text{molTE/g}$, durante 12 dias de armazenamento (NEVES et al., 2015). Assim observou-se pelos dois métodos que o extrato dos frutos imaturos apresentou o maior potencial antioxidante.

A atividade antioxidante está diretamente relacionada ao conteúdo de bioativos presentes, sendo assim foi determinado o conteúdo de fenóis totais,

taninos, ácido ascórbico e carotenoides, conforme Tabela 2.

O conteúdo de fenois totais mostrou que o amadurecimento foi responsável pela redução em seus teores, em que o extrato de frutos maduros diferiu significativamente dos demais. Estas reduções podem estar associadas ao uso dos antioxidantes durante o amadurecimento, contra as espécies reativas de oxigênio que aparecem neste processo (NEVES et al., 2015).

Os três estádios evidenciaram resultados superiores ao encontrado em extratos aquosos de frutos maduros de *B. crispa*, *B. duckeana*, *B. garcibarriga* e *B. incarnata*, que apresentam valores de 164,57; 146,26; 220 e 251,75 mgAGE /100 g, respectivamente (GUILHON-SIMPLICIO et al., 2017). Por outro lado, os três extratos se mostraram inferiores ao encontrado em extrato hidroetanólico de frutos maduros da mesma espécie (5255 mgAGE /100 g) (SANTOS et al., 2017).

De forma geral, os extratos nos três estádios de maturação se mostraram com alto conteúdo de fenois totais (>95 mg/100 g), sendo sugerido que estes estão relacionados com a ótima capacidade antioxidante encontrada. Além disso, as variações encontradas entre os diferentes autores indicam que o uso de diferentes solventes influencia nesta determinação, mostrando então que o extrato hidroetanólico se mostra uma melhor opção para esta espécie (RAMFUL et al., 2011).

Em relação ao conteúdo de taninos não houve diferença significativa entre os estádios de maturação, observando-se uma redução em seu conteúdo no extrato de frutos maduros. Os resultados encontrados foram inferiores ao do extrato hidroetanólico de frutos maduros da mesma espécie (4714 mgAGE/100 g) (SANTOS et al., 2017).

O conteúdo de ácido ascórbico mostrou que durante o amadurecimento houve um aumento em seus teores, em que os estádios intermediário e maduro foram os que apresentaram maiores valores e seus resultados não apresentaram diferenças estatísticas. Considerando os resultados encontrados, os três estádios se mostram com alto teor de ácido ascórbico (>50 mg/100 g), sendo então estes frutos uma ótima opção para se atingir os valores de ingestão recomendados (RAMFUL et al., 2011).

Resultado diferente foi encontrado em frutos maduros de *Byrsonima* sp. em que se verificou a redução no conteúdo de ácido ascórbico durante 85 dias de amadurecimento (68,09 para 38,34 mg/g) (MENDES, 2017). Porém, observa-se que

os frutos de canjiqueira, no estágio intermediário para o maduro, apresentaram uma pequena redução em seu conteúdo, indicando que, caso as análises fossem feitas em uma etapa de maturação mais tardia, poderia se observar melhor esta redução.

Vale ressaltar que o conteúdo de ácido ascórbico em frutos é influenciado pelas condições ambientais de seu crescimento, como, por exemplo, o tipo de solo, estresse hídrico e período de coleta (MENDES, 2017).

No presente trabalho, valores reportados para carotenoides totais também apresentaram aumento durante o amadurecimento dos frutos de canjiqueira, sendo o estágio maduro o que se mostrou com os maiores valores. Este aumento é comum em frutos durante o amadurecimento visto que ocorre a degradação da clorofila, presente em frutos imaturos, de coloração verde, dando então espaço para o aparecimento dos carotenoides (SIGUEMOTO, 2013).

Os resultados encontrados no presente estudo se mostraram inferiores aos frutos maduros de *B. crassifolia* coletados em diferentes municípios que apresentaram valores para carotenoides totais variando de 15,8-29,4 mg/100 g (SIGUEMOTO, 2013). O autor afirma ainda que estas diferenças são influenciadas pela variedade, localidade, práticas de cultivos dentre outros fatores, estão então de acordo com o encontrado.

As principais frações de carotenoides encontradas dos frutos de canjiqueira foram a luteína, β -caroteno e zeaxantina. Os frutos do estágio maduro apresentaram a luteína como sua principal fração, representando 55,55% (2,55 mg/100 g), seguido pela zeaxantina, representando 23,74% (1,09 mg/100 g), e β -caroteno, representando 2,83% (0,14 mg/100 g) dos carotenoides totais (Figura 26).

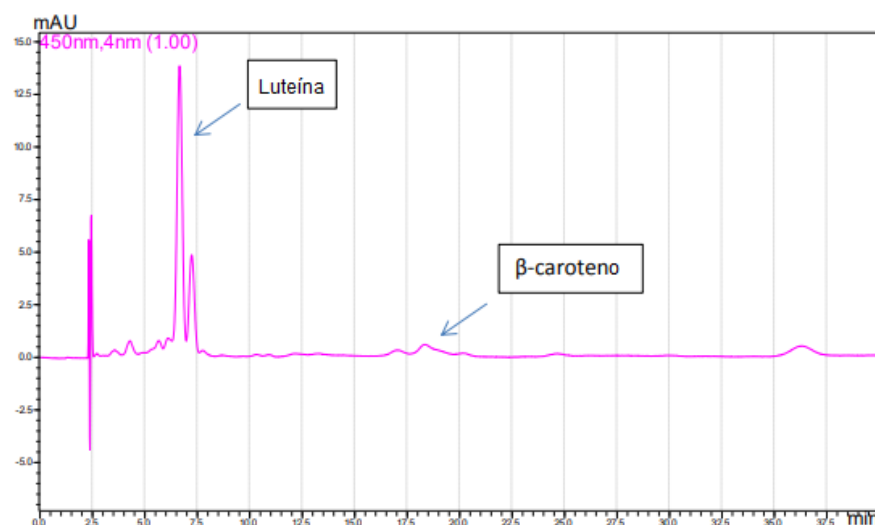


Figura 26. Cromatograma dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* no estágio maduro.

Já os frutos do estágio intermediário apresentaram menores frações de luteína, representando 37,73% (1,23 mg/100 g) e zeaxantina, representando 5,82% (0,19 mg/100 g) e maiores quantidades de β -caroteno, representando 12,57% (0,41 mg/100 g), dos carotenoides totais quando comparado ao estágio maduro. Por fim, nos frutos do estágio imaturo foi possível observar apenas a presença da luteína, representando 18,93% (0,63 mg/100 g) (Figura 27).

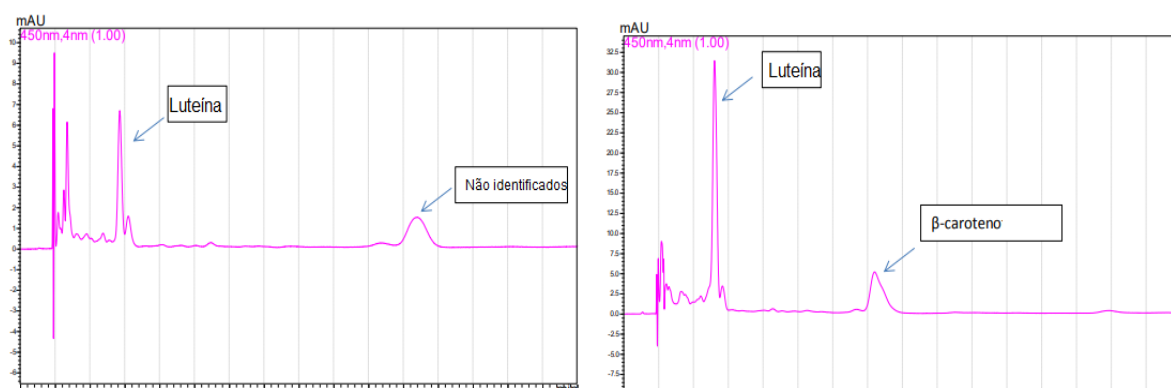


Figura 27. Cromatograma dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* nos estádios imaturo e intermediário, respectivamente.

Durante a maturação de frutos ocorrem alterações quanto às frações encontradas para carotenoides, visto que eles começam a ser sintetizados em maiores intensidades após um determinado período. Além disso, fatores como, por exemplo, a radiação solar afeta as concentrações em uma mesma cultivar

(BIANCHINI; PENTEADO, 1998). Frutos imaturos apresentam maiores concentrações de luteína e durante o amadurecimento se tem o aumento de outros carotenoides como o β -caroteno ou licopeno (BIANCHETTI; DIAS, 2016).

5.3 Coloração dos frutos e óleos de *Byrsonima cydoniifolia*

Os resultados dos parâmetros de cor dos frutos de *B. cydoniifolia* nos três estádios de maturação se encontram descritos na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros de cor dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* em três estádios de maturação.

Parâmetros	Imaturo	Intermediário	Maduro
L^*	44,21±1,43 ^c	52,80±0,27 ^b	59,42±3,17 ^a
C^*	15,89±1,92 ^c	24,94±1,94 ^b	35,15±1,31 ^a
Hue (°)	101,30±1,95 ^a	95,60±0,36 ^b	72,03±0,33 ^c
a^*	-3,14±0,86 ^b	-2,43±0,06 ^b	10,84±0,38 ^a
b^*	15,57±1,81 ^c	24,82±1,94 ^b	33,43±1,27 ^a

*As médias foram determinadas em triplicata. Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão.

** Letras diferentes na mesma linha representam diferenças significativas $p < 0,05$.

Conforme esperado, os frutos de canjiqueira apresentaram alterações de todos os seus parâmetros relacionados à coloração durante o amadurecimento. Em relação ao parâmetro luminosidade (L^*), os frutos nos estádios imaturo e intermediário apresentaram tonalidade verde-escuro e amarelo-acinzentado, respectivamente. Já os frutos no estágio maduro apresentaram tonalidade amarelo-alaranjado mais claro, mostrando o aumento na luminosidade durante a maturação. O aumento neste parâmetro também é relatado em frutos de *Byrsonima sp.* durante 85 dias de desenvolvimento, sendo seus resultados inferiores ($L^* = 43,31$) (MENDES, 2017), aos reportados no presente estudo. Valores semelhantes também foram encontrados em frutos maduros da espécie *B. crassifolia* coletados em três diferentes regiões, onde a média foi de 61,1, indicando uma coloração amarela de tonalidade média (SIGUEMOTO, 2013).

Arelado a L^* está a cromaticidade (C^*), que também está relacionada à intensidade dos pigmentos. Neste parâmetro foi possível observar o aumento em seus valores durante o amadurecimento, sendo os frutos maduros os que apresentaram maior resultado, se mostrando com coloração mais intensa. A tonalidade cromática, conhecida como ângulo hue (°), também se mostrou alta nos

três estádios (> 70), onde o estágio maduro se assemelhou ao encontrado na espécie *B. crassifolia* (78,8) (SIGUEMOTO, 2013).

Para os valores de a^* foi possível observar que os frutos no estágio maduro apresentaram os maiores valores indicando a presença de coloração vermelha, enquanto que os estádios imaturo e intermediário apresentaram valores negativos e ficaram próximos da coloração verde. Já para b^* , todos os estádios apresentaram valores positivos, sendo o maduro o de maior valor, indicando a presença de tons mais amarelos quando comparado aos outros dois estádios.

Todos estes resultados evidenciaram que durante o amadurecimento ocorreu a degradação de clorofila, que está mais presente em frutos imaturos. Conforme ocorre o amadurecimento, os carotenoides começaram a aparecer em menores intensidades, conforme observado no estágio intermediário, até ficar em sua totalidade como observado no estágio maduro no presente estudo.

Assim como observado nos frutos, os óleos de *B. cydoniifolia* também apresentaram diferenças em todos os parâmetros de coloração nos diferentes estádios de maturação, conforme Tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros de cor dos óleos extraídos dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* em três estádios de maturação.

Parâmetros	Imaturo	Intermediário	Maduro
L^*	23,32±0 ^b	23,33±0 ^b	27,48±0 ^a
C^*	0,81±0 ^c	1,12±0,01 ^b	10,29±0,02 ^a
Hue (°)	165,32±0 ^a	20,04±1,38 ^c	45,21±0,05 ^b
a^*	0,84±0 ^c	1,06±0,02 ^b	7,25±0,02 ^a
b^*	-0,22±0 ^c	0,38±0,02 ^b	7,30±0,01 ^a

As médias foram determinadas em triplicata. Valores expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha representam diferenças significativas $p < 0,05$.

Em relação a L^* , o óleo extraído dos frutos do estágio maduro apresentou maior valor, indicando a presença de uma coloração alaranjada intensa, enquanto que os estádios imaturo e intermediário apresentaram coloração verde e avermelhada, respectivamente.

Para a^* , todos os óleos apresentaram valores positivos, mostrando que estes apresentam coloração mais avermelhada, sendo o óleo do estágio maduro apontado com os maiores valores. Para b^* , o óleo do estágio maduro também apresentou os maiores valores, mostrando que este apresentou coloração mais amarelada, enquanto que o valor negativo encontrado para o óleo do estágio imaturo indica a

coloração verde.

Tais dados também foram observados quando se avaliou o ângulo *hue* ($^{\circ}$), em que o óleo do estágio intermediário apresentou coloração verde, enquanto que o intermediário e maduro apresentaram coloração vermelha e vermelha-alaranjada, respectivamente.



Figura 28. Óleos extraídos dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* em três estádios de maturação (maduro, intermediário e imaturo) após extração direta com solvente éter de petróleo.

Fonte: Arquivo pessoal.

Estes resultados mostraram que a coloração dos óleos é resultado da presença dos pigmentos que estavam presentes nos frutos, em que o óleo imaturo apresentou coloração verde indicando a presença da clorofila e o óleo maduro apresentou coloração amarela indicando a presença dos carotenoides (Figura 28).

5.4 Perfil de ácidos graxos dos óleos de *Byrsonima cydoniifolia*

No presente trabalho foram identificados doze ácidos graxos nos óleos extraídos dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia*, sendo possível observar através dos picos cromatográficos gerados (Figura 29).

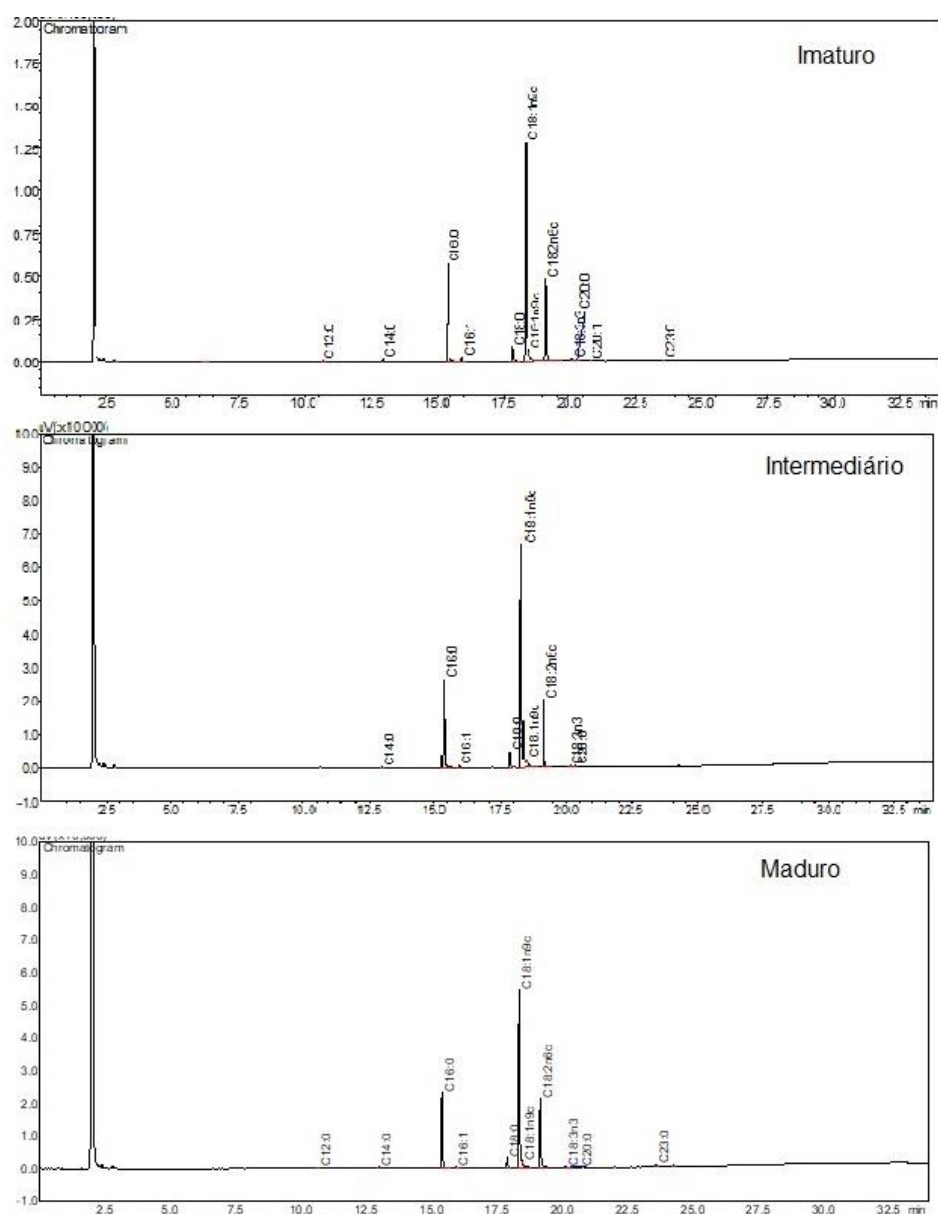


Figura 29. Cromatogramas dos óleos extraídos dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* nos estádios imaturo, intermediário e maduro.

Dos ácidos graxos encontrados, apenas sete apresentaram valores consideráveis e frações em todos os estádios, conforme reportado na Tabela 5.

Tabela 5. Perfil de ácidos graxos (%) dos óleos extraídos dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* em três estádios de maturação.

Ácidos graxos (%)	Imaturo	Intermediário	Maduro
Saturados			
Palmítico, C16:0	21,23±0,02 ^a	21,06±0,03 ^a	20,91±0,01 ^a
Estearico, C18:0	3,11±0,02 ^a	4,01±0,04 ^a	3,0±0,01 ^a
Araquídico, C20:0	0,33±0,04 ^b	0,53±0,02 ^a	0,33±0,02 ^b
TOTAL	24,67	25,60	24,24
Monoinsaturados			
Palmitoleico, C16:1	0,68±0,04 ^a	0,52±0,01 ^b	0,63±0,01 ^b
Oleico, C18:1 (ω 9)	52,52±0,03 ^b	55,84±0,03 ^a	52,19±0,02 ^b
TOTAL	53,2	56,36	52,82
Poli-insaturados			
Linoleico, C18:2 (ω-6)	19,10±0,01 ^a	16,78±0,01 ^b	19,54±0,02 ^a
α-Linolênico, C18:3 (ω-3)	0,44±0,02 ^b	0,46±0,01 ^b	0,55±0,02 ^a
TOTAL	19,54	17,24	20,09

*Valores expressos em média ± desvio padrão.

**Letras diferentes na mesma linha representam diferenças significativas $p < 0,05$.

Os óleos dos três estádios apresentaram maiores quantidades de ácidos graxos monoinsaturados (52,82-56,36%), sendo o ácido graxo oleico o predominante, principalmente no estágio intermediário. Também foram encontradas frações menores de ácido graxo palmitoleico, em que o estágio imaturo foi o que apresentou os maiores valores. Ainda se verificou que os resultados deste estudo se mostraram inferiores ao encontrado na polpa de frutos maduros de *B. crassifolia* para ácidos graxos monoinsaturados (65%) (SIGUEMOTO, 2013).

Em relação aos ácidos graxos saturados, o ácido graxo palmítico apresentou os maiores valores (20,91-21,23%), sendo o estágio imaturo o que apresentou maiores valores. O resultado é semelhante ao encontrado na polpa de frutos maduros de *B. crassifolia* (25,7%) (SIGUEMOTO, 2013). Observou-se ainda que durante o amadurecimento houve uma pequena, mas não significativa, diminuição na concentração do ácido graxo palmítico. Seguido a este, foram encontrados os ácidos graxos esteárico e araquídico, em menores quantidades, que foram mais prevalentes no estágio intermediário.

Quanto ao teor de ácidos graxos poli-insaturados, o ácido graxo linoleico foi o encontrado em maior quantidade, com destaque para o óleo do estágio maduro (19,54%). Este resultado se mostra superior ao encontrado na polpa de frutos maduros de *B. crassifolia* (8,3%) (SIGUEMOTO, 2013). Também foi observada a

presença, em menores quantidades, de α -linolênico, presente também em maiores teores no óleo do estágio maduro (0,55%).

Estes resultados mostraram que os óleos extraídos dos frutos de *B. cydoniifolia* apresentam importantes características nutricionais, principalmente relacionadas ao elevado conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados e menores quantidades de poli-insaturados o que pode então refletir na sua estabilidade oxidativa.

5.5 Análises de qualidade e identidade dos óleos de *Byrsonima cydoniifolia*

Os índices de qualidade e identidade dos óleos de *Byrsonima cydoniifolia* estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6. Índices de qualidade e identidade dos óleos extraídos dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* em três estádios de maturação.

Índices	Imaturo	Intermediário	Maduro
Índice de acidez (mgKOH/g)	13,09±0,30 ^a	10,16±0,42 ^c	11,40±0,32 ^b
Índice de peróxido (mEqO ₂ /kg)	27,80±0,53 ^a	19,23±0,99 ^b	13,72±0,24 ^c
Índice de refração a 40 °C	1,45±0 ^a	1,45±0 ^a	1,45±0 ^a
Índice de iodo (gI ₂ /100 g)	129,67±2,42 ^a	120,73±4,5 ^b	120,84±0,42 ^b
Índice de saponificação (mgKOH/g)	108,40±4,28 ^a	103,60±2,82 ^a	102,5±9,56 ^a

*As médias foram determinadas em triplicata. Valores expressos em média ± desvio padrão.

**Letras diferentes na mesma linha representam diferenças significativas $p < 0,05$.

Os óleos nos três estádios de maturação apresentaram diferenças estatísticas quanto ao índice de acidez, sendo possível observar a sua redução durante o amadurecimento. Todos os óleos apresentaram valores acima do recomendado (<4 mgKOH/g) para óleos brutos (CODEX ALIMENTARIUS, 1999). Assim, observou-se por este parâmetro que os óleos brutos podem não ser recomendados para o consumo, mas óleos com alto valores de índice de acidez se fazem uma opção para o uso industrial na fabricação de tintas, cosméticos e biodiesel (AREMU; IBRAHIM; ANDREW, 2017).

Outro indicador relacionado à qualidade dos óleos é o índice de peróxido, em que se observou que o óleo do estágio imaturo apresentou valores duas vezes superiores ao encontrado no óleo maduro. Por sua vez, o óleo do estágio maduro não ultrapassou o limite estabelecido para óleos brutos (15 mEqO₂/kg) (CODEX ALIMENTARIUS, 1999). Este resultado indica que o óleo no estágio maduro não

estava em processo de oxidação, possivelmente devido à ação dos compostos antioxidantes presentes, como os carotenoides.

A respeito do índice de refração, valores reportados a todos os óleos não apresentaram diferenças significativas, sendo estes resultados semelhantes ao encontrado nos óleos de coco (1,44-1,45) e babaçu (1,44-1,45) (CODEX ALIMENTARIUS, 1999).

Assim como o índice de acidez e peróxido, o índice de iodo apresentou-se mais elevado nos óleos do estágio imaturo, sendo este diferente significativamente quando comparado aos demais. Estes resultados foram próximos aos encontrados para o óleo de soja (124-139 gI₂/100 g) e de semente de girassol (118-141 gI₂/100 g) (CODEX ALIMENTARIUS, 1999).

Por sua vez, o índice de saponificação não diferiu significativamente entre os óleos, se observando a redução em seus valores de acordo com a maturação. Valores superiores a 200 mgKOH/g indicam que os óleos apresentam maiores quantidades de ácidos graxos de menor peso molecular (CODEX ALIMENTARIUS, 1999). Assim, ambos os óleos se apresentaram dentro dos limites estabelecidos, ainda indicando a presença de ácidos graxos de alto peso molecular, visto que possuem grandes quantidades de mono e poli-insaturados.

5.6 Técnicas ópticas: Espectroscopia de absorção UV-Vis e fluorescência

A Figura 30 mostra os espectros de absorção UV-Vis e a Figura 31 a fluorescência da matriz de emissão-excitação dos óleos extraídos dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* nos três estádios de maturação.

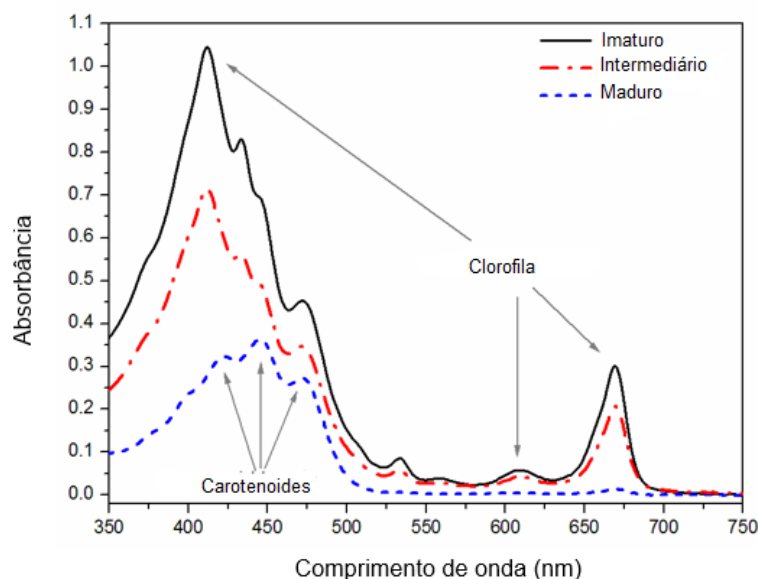


Figura 30. Espectro de absorção UV-Vis dos óleos extraídos dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* em três estádios de maturação, obtidos entre 350-750 nm em temperatura ambiente.

Os resultados dos espectros UV-Vis mostraram a presença das bandas de carotenoides e clorofila como os principais pigmentos naturais (cromóforos e fluoróforos) nos óleos de *B. cydoniifolia* nos três estádios de maturação. A clorofila apresenta suas bandas de absorção nas regiões azul-violeta (350-450 nm) e vermelha (650-700 nm), como foi observado nos resultados encontrados, principalmente nos óleos dos estádios imaturo e intermediário. Os carotenoides apresentam banda de absorção na região azul-esverdeada (400-500 nm), como foi observado para o óleo do estágio maduro.

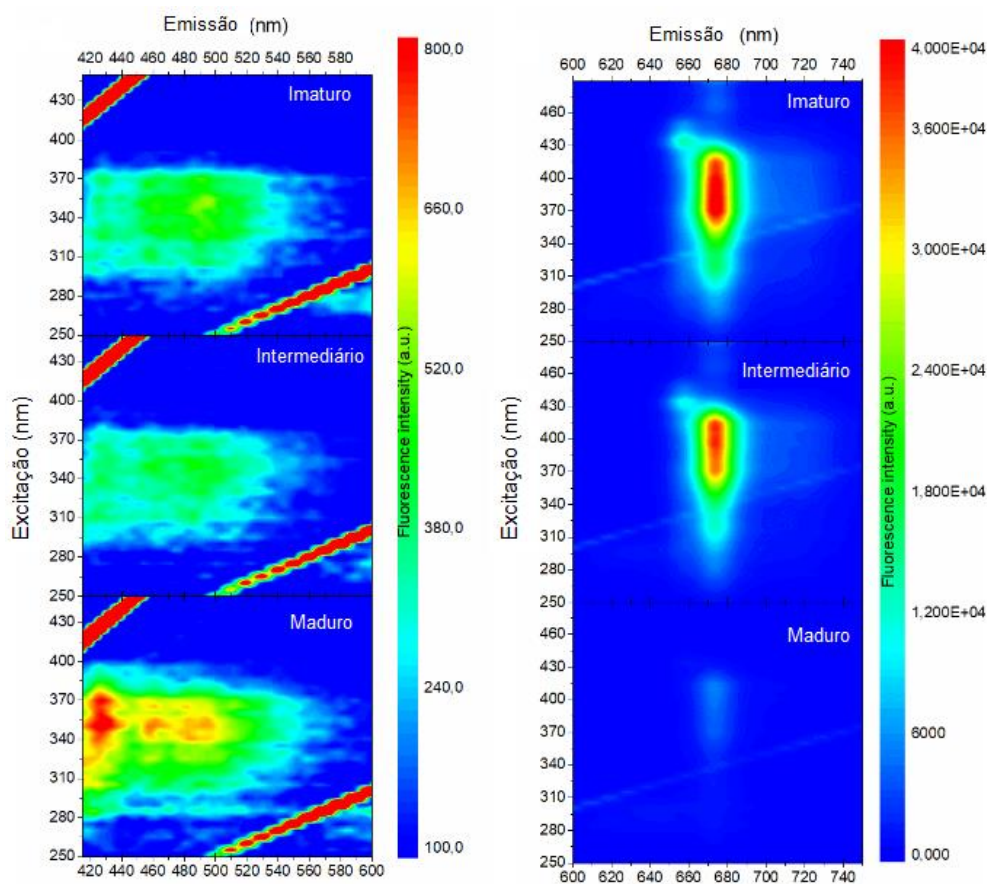


Figura 31. Mapa de emissão-excitação dos óleos extraídos dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* em três estádios de maturação obtidos quando excitados entre 250 e 550 nm e coletados entre a faixa de emissão de 270 e 750 nm.

Os carotenoides e clorofila apresentaram emissão na faixa de 400-550 nm e 650-750 nm, respectivamente (SILVA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2017). Os resultados encontrados mostraram que o teor de clorofila diminuiu durante o amadurecimento, quase reduzido a zero no óleo do estágio maduro. Já o teor de carotenoides foi encontrado em concentrações semelhantes nos óleos dos estádios imaturo e intermediário e em altas concentrações no óleo do estágio maduro.

Tais dados concordam com o encontrado nos resultados de carotenoides totais (Tabela 2), em que os frutos maduros apresentaram maiores valores quando comparado aos demais estádios, como também aos resultados de coloração em que os óleos dos estádios imaturo e intermediário apresentaram coloração verde, indicativo da clorofila, e o óleo maduro coloração amarela, indicativo de carotenoides.

5.7 Estabilidade oxidativa: Rancimat

Para se determinar a estabilidade oxidativa dos óleos de *Byrsonima cydoniifolia* foi realizado o teste de Rancimat, conforme observado na Figura 32.

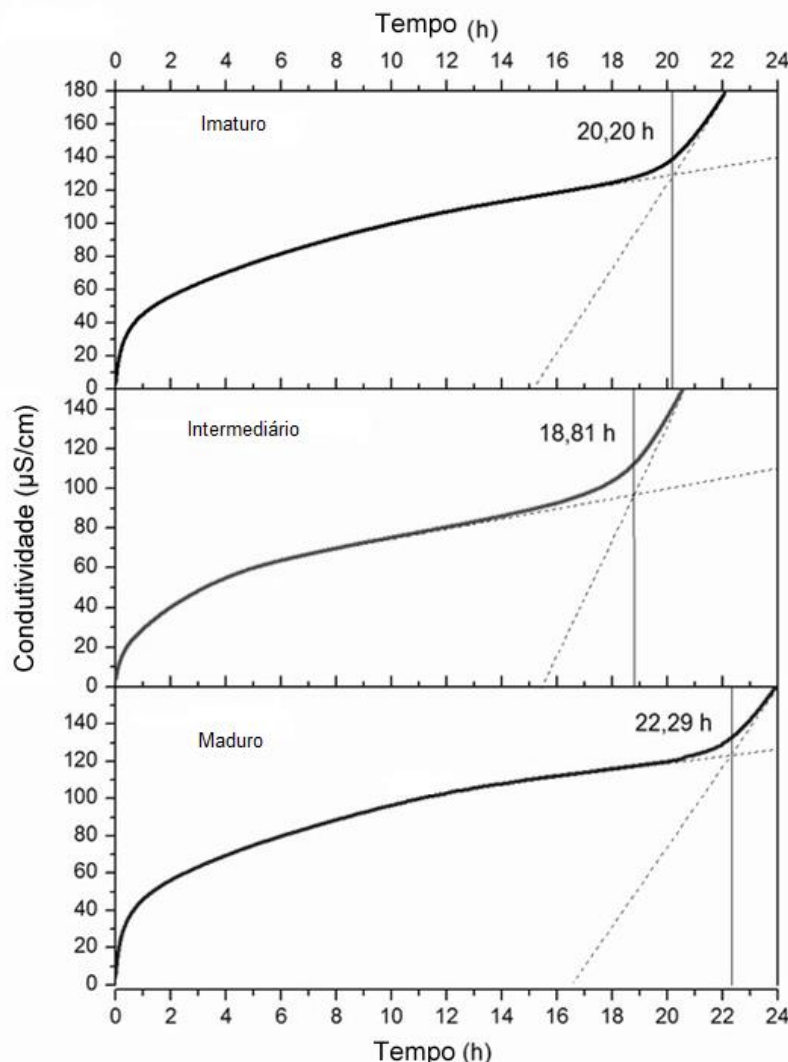


Figura 32. Condutividade elétrica versus tempo determinado pelo método de Rancimat dos óleos extraídos dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* em três estádios de maturação.

Os resultados observados evidenciaram que os óleos no estágio imaturo, intermediário e maduro apresentaram períodos de indução de 20,20; 18,81 e 22,29 horas, respectivamente. Assim, o óleo de frutos maduros se mostrou o mais estável quando comparado aos outros dois, e o óleo de frutos imaturos foi mais estável que o intermediário.

De forma geral, um óleo vegetal se mostra mais susceptível à oxidação quando apresenta elevado conteúdo de ácidos graxos insaturados, principalmente os poli-insaturados (VASKOVA; BUCKOVA, 2015). Mesmo o óleo dos frutos maduros

apresentando maior concentração de ácidos graxos poli-insaturados (Tabela 5), este se mostrou mais estável, podendo ser atribuído à presença dos carotenoides em sua composição, visto que a luteína e β -caroteno são eficazes na supressão do oxigênio singlete agindo então como antioxidante nos processos oxidativos (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2002).

5.8 Análises térmicas: Termogravimetria/Termogravimetria Diferencial (TGA/DTG)

Os óleos nos três estádios apresentaram degradação térmica com comportamentos semelhantes, com maior decomposição na faixa de 173 a 533 °C com estabilização de sua massa em seguida. Os óleos dos estádios imaturo e intermediário (Figura 33) apresentaram três decomposições, sendo a primeira a 156 °C, com perdas de massa de 3,31 e 1,98%, a segunda de 156 a 250 °C, e a terceira na faixa de 250 a 460 °C, com perda de massa total de 96,3 e 97,6%, respectivamente.

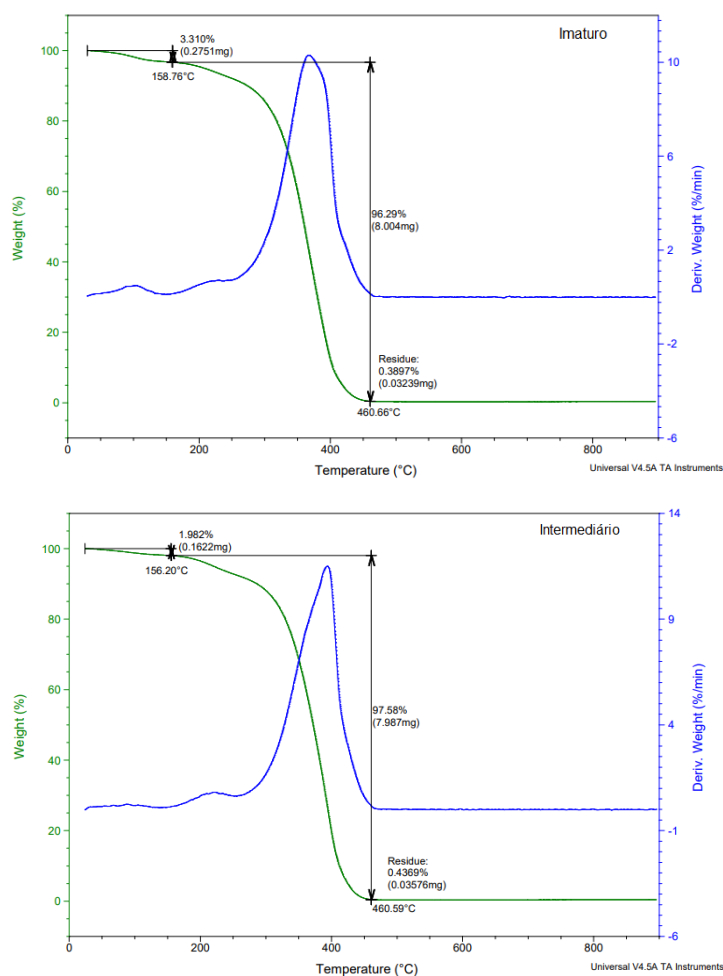


Figura 33. Curvas TG/DTG dos óleos extraídos dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* nos estádios imaturo e intermediário.

Por sua vez, o estágio maduro (Figura 34) apresentou duas decomposições, a primeira ocorrendo a 173 °C com perda de massa de 2,45% e a segunda, na faixa de 173 a 533 °C, com perda de massa total de 97,4%, estabilizando-se ao atingir 400 °C.

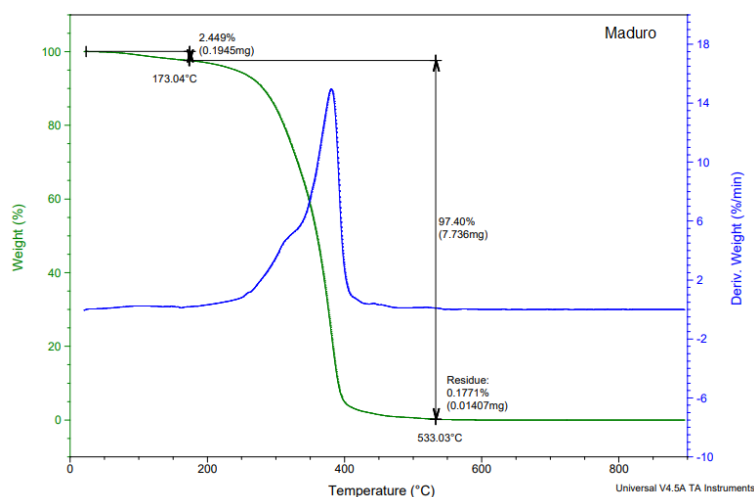


Figura 34. Curvas TG/DTG do óleo extraídos dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia* no estágio maduro.

Os resíduos formados nos três óleos foram inferiores a 0,5%, o que pode ser atribuído ao limite de erro aceitável para esta técnica. Sabe-se ainda que óleos com grandes concentrações de ácidos graxos insaturados tendem a não apresentar resíduos (CICONINI, 2012), podendo ser este o caso dos óleos de *B. cydoniifolia*, que apresentam mais de 70% ácidos graxos insaturados em sua composição.

Em todos os óleos, a primeira perda de massa pode ser atribuída à perda de umidade da amostra, próxima a 156 °C, bem como à volatilização de alguns compostos como aldeídos e ácidos graxos de cadeia curta, como esperado em óleos vegetais. Outras perdas podem estar relacionadas com as composições de ácidos graxos dos óleos, visto que óleos insaturados perdem massa em diferentes eventos devido a formação de compostos primários e secundários do processo oxidativo (CICONINI, 2012).

6 CONCLUSÃO

O processo de amadurecimento é responsável por alterações químicas nos frutos e óleos extraídos. Os frutos, nos três estádios de maturação, se mostram boas fontes de compostos bioativos, destacando-se os carotenoides nos frutos maduros. Além disso, apresentam alta capacidade antioxidante, especialmente os frutos imaturos.

Os óleos extraídos nos três estádios apresentaram perfil de ácidos graxos semelhante, mas o óleo do estágio maduro é o que se mostra mais estável quando comparado aos demais, podendo este fato estar associado à presença dos carotenoides. Assim, o óleo do estágio maduro, quando refinado, se mostra uma opção de óleo vegetal com boa qualidade nutricional e estabilidade oxidativa.

REFERÊNCIAS

- ABADIO FINCO, F. D. B.; SILVA, I. G.; OLIVEIRA, R. B. Physicochemical characteristics and antioxidant activity of three native fruits from Brazilian savannah (Cerrado). **Alimentos e Nutrição**, v. 23, n. 2, p. 179-185, 2012.
- ALHO, C. J. R. Biodiversity of the Pantanal: response to seasonal flooding regime and to environmental degradation. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 4. Suppl. p. 957-966, 2008.
- ALHO, C. J. R.; SABINO, J. Seasonal pantanal flood pulse: implications for biodiversity conservation – a review. **Oecologia Australis**, v. 16, n. 4, p. 958-978, 2012.
- ALVES, F. C. G. B. S. **Autenticação de óleos comestíveis empregando espectroscopia UV-Vis e quimiometria**. 2015. 64 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2015.
- AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International**. 16 ed. Washington: Ed. Patrícia Cunniff, 1997.
- AOCS. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. American Oil Chemists' Society. 4 ed. Illinois: AOCS Press, 1990.
- ARATHI, B. P.; SOWMYA, P. R-R.; VIJAY, K.; BASKARAN, V.; LAKSHMINARAYANA, R. Metabolomics of carotenoids: the challenges and prospects - A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 42, p. 105-117, 2015.
- ARAÚJO, H. M.; RODRIGUES, F. F. G.; COSTA, W. D.; NONATO, C. F. A.; RODRIGUES, F. F. G.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; COSTA, J. G. M. Chemical profile and antioxidant capacity verification of *Psidium guajava* (Myrtaceae) fruits at different stages of maturation. **EXCLI Journal**, v. 14, p. 1020-1030, 2015.
- AREMU, M. O. L.; IBRAHIM, H.; ANDREW, C. Comparative studies on the lipid composition of blood plum (*Haematostaphis Barteri*) pulp and seed oils. **The Open Biochemistry Journal**, v. 11, p. 94-104, 2017.
- ARFAOUI, M. O.; RENAUD, J.; GHAZGHAZI, H.; BOUKCHINA, S.; MAYER, P. Variation in oil content, fatty acid and phytosterols profile of *Onopordum acanthium* L. during seed development. **Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters**, v. 28, n. 24, p. 2293-2300, 2014.
- BAEZ, R. V.; BAEZ, A. V. Overview About Lipid Structure. In: BAEZ, R. V. (Org.). **Lipid metabolism**. London: IntechOpen, 2013. cap 1, p. 3-20.

BIANCHINI, R.; PENTEADO, M. V. C. Carotenoides de pimentos amarelos (*Capsicum annuum*, L.). Caracterização e verificação de mudanças com o cozimento. **Food Science and Technology**, v. 18, n. 3, p. 283-288, 1998.

BIANCHETTI, R. E.; DIAS, D. L. O. Fisiologia de frutos: aspectos bioquímicos e hormonais. In: SILVA, F. N.; RAIMUNDO, S. G.; SAITO, L. C.; NAVARRO, B. B.; HIDALGO, E. M. P.; MOREIRA, F. A.; GAGLIANO, J.; CARVALHO, W. R. S.; COUTINHO NETO, A. A.; DIAS, D. L. O. (Org.). **VI Botânica no Inverno 2016**. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2016. cap 19, p. 169-183.

BICUDO, M. O. P.; RIBANI, R. H.; BETA, T. Anthocyanins, phenolic acids and antioxidant properties of juçara fruits (*Euterpe edulis* M.) Along the On-tree Ripening Process. **Plants Foods for Human Nutrition**, v. 69, n. 2, p. 142-147, 2014.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BOCK, P. M.; PERALTA, J. S. Alterações estruturais e nutricionais em lipídeos submetidos a processamento químico ou aquecimento. **La Salle - Revista de Educação, Ciência e Cultura**, v. 14, n. 2, p. 77-86, 2009.

CICONINI, G. **Caracterização de frutos e óleo de polpa de macaúba dos biomas Cerrado e Pantanal do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil**. 2012. 150 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia aplicada à saúde) - Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, 2012.

CHIMENEZ, T. A. **Espectroscopia de fluorescência como ferramenta para caracterização de biodiesel e monitoramento de processos de degradação**. 2011. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal da Grande Dourados/UFGD, Dourados, 2011.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças – fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2005.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Edible fats and oils not covered by individual standards**. [Online]. Codex Alimentarius (1999) Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/004/y2774e/y2774e03.htm>>. Acessado em: 03 de Junho de 2018.

CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural Product Reports**, v. 26, p. 1001-1043, 2009.

DAMASCENO JÚNIOR, G. A.; SIMÕES, M. G.; TREVELIN, C. C.; MANOEL, P. S.; GUIMARÃES, E. Pantanal. In: GUIMARÃES, E.; TREVELIN, C. C.; MANOEL, P. S. **Pantanal – paisagens, flora e fauna**. 1 ed. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2014a. cap 1, p. 11-14.

DAMASCENO JÚNIOR, G. A.; MANOEL, P. S.; TREVELIN, C. C.; GUIMARÃES, E. Fisionomias Vegetais. In: GUIMARÃES, E.; TREVELIN, C. C.; MANOEL, P. S. **Pantanal – paisagens, flora e fauna**. 1 ed. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2014b. cap. 5, p. 35-46.

DAVIES, B. H. Carotenoid. In: GOODWIN, T. W. (Org.). **Chemistry and biochemistry of plant pigments**. New York: Academic Press, 1976. p. 38-165.

DORNI, C.; SHARMA, P.; SAIKIA, G.; LONGVAH, T. Fatty acid profile of edible oils and fats consumed in India. **Food Chemistry**, v. 238, p. 9-15, 2018.

DU, J.; CULLEN, J. J.; BUETTNER, G. R. Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1826, p. 443-457, 2012.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

EGHBALIFERIZ, S.; IRANSHAHI, M. Prooxidant activity of polyphenols, flavonoids, anthocyanins and carotenoids: updated review of mechanisms and catalyzing metals. **Phytotherapy Research**, v. 30, p. 1379-1391, 2016.

EMBRAPA. **Compreendendo a dinâmica das árvores no Pantanal**. Corumbá, MS: Embrapa, 2010.

EMBRAPA. **Conservação pós-colheita: frutas e hortaliças**. Brasília, DF: Embrapa, 1996.

EMBRAPA. **Instrumentação pós-colheita em frutas e hortaliças**. 1. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2017.

ENDO, Y. Analytical methods to evaluate the quality of edible fats and oils: the JOCS standard methods for analysis of fats, oils and related materials (2013) and advanced methods. **Journal of Oleo Science**, v. 67, n. 1, p. 1-10, 2018.

ETZBACH, L.; PFEIFFER, A.; WEBER, F.; SCHIEBER, A. Characterization of carotenoid profiles in goldenberry (*Physalis peruviana* L.) fruits at various ripening stages and in different plant tissues by HPLC-DADAPCI-MSⁿ. **Food Chemistry**, v. 245, p. 508-517, 2018.

EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. **Fatty acid methyl esters (fame) - determination of oxidation stability (accelerated oxidation test)**. Method EN14112, 2003.

FANG, T.; ZHEN, Q.; LIAO, L.; OWITI, A.; ZHAO, L.; KORBAN, S. S.; HAN, Y. Variation of ascorbic acid concentration in fruits of cultivated and wild apples. **Food Chemistry**, v. 225, p. 132-137, 2017.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Human vitamin and mineral requirements**. Bangkok, Thailand. 2001.

FREITAS, A. C.; TREVELIN, C. C.; ALMEIDA, L. F. R.; MANOEL, P. S.; DAMASCENO JÚNIOR, G. A.; GUIMARÃES, E. Clima. In: GUIMARÃES, E.; TREVELIN, C. C.; MANOEL, P. S. **Pantanal – paisagens, flora e fauna**. 1 ed. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2014. cap. 2, p. 15-19.

FUKUMOTO, L. R. MAZZA, G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 3597-3604, 2000.

GALLAGHER, P. K. Thermogravimetry and Thermomanetometry. In: BROWN, M. E. (Org.). **Handbook of thermal analysis and calorimetry**. 1. ed. Amsterdam: ELSEVIER, 1998. cap. 4, p. 225-278.

GUILHON-SIMPLICIO, F.; MACHADO, T. M.; NASCIMENTO, L. F.; SOUZA, R. S.; KOOLEN, H. H. F.; SILVA, F. M. A.; ACHO, L. D. R.; SANTOS, A. R. S.; COS, P.; PEREIRA, M. M.; LIMA, E. S. Chemical composition and antioxidant, antinociceptive, and anti-inflammatory activities of four amazonian *Byrsonima* Species. **Phytotherapy Research**, v. 31, p. 1686-1693, 2017.

HAMACEK, F. R.; MARTINO, H. S. D.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Murici, fruit from the Cerrado of Minas Gerais, Brazil: physical and physicochemical characteristics, and occurrence and concentration of carotenoids and vitamins. **Fruits**, v. 69, n. 6, p. 459-472, 2014.

HAMMOND JR, B. R.; RENZI, L. M. Carotenoids. **Advances in nutrition**, v. 4, p. 474-476, 2013.

HEMMINGER, W.; SARGE, S. M. Definitions, nomenclature, terms and literature. In: BROWN, M. E. (Org.). **Handbook of thermal analysis and calorimetry**. 1. ed. Amsterdam: ELSEVIER, 1998. cap. 1, p. 1-73.

HERNANDEZ, J. W. R. **Espectroscopia de fluorescência como método para monitoramento de porfíria induzida por dieta de glicose**. 2009. 100 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

IONASHIRO, M. **Giolito – Princípios básicos da Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial/Calorimetria Exploratória Diferencial**. Araraquara: GLZ Editorial, 2004.

JOHNSON, L. A. Recovery, refining, coverting, and stabilizing edible fats and oils. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B. (Org.). **Food Lipids – chemistry, nutrition, and biotechnology**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, Inc., 2002. cap. 8, p. 241-292.

KELLMANN-SOPYLA, W.; LAHUTA, L. B.; GIELWANOWSKA, I.; GÓRECKI, R. J. Soluble carbohydrates in developing and mature diaspores of polar Caryophyllaceae and Poaceae. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 37, n. 118, 2015.

KHODDAMI, A.; MAN, Y. B. C.; ROBERTS, T. H. Physico-chemical properties and fatty acid profile of seed oils from pomegranate (*Punica granatum* L.) extracted by cold pressing. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 116, n. 5, p. 553-562, 2014.

KOZLOWSKA, M.; GRUCZYNSKA, E.; SCIBISZ, I.; RUDZINSKA, M. Fatty acids and sterols composition, and antioxidant activity of oils extracted from plant seeds. **Food Chemistry**, v. 213, p. 450-456, 2016.

KUMAR, A.; SHARMA, A.; UPADHYAYA, K. C. Vegetable oil: nutritional and industrial perspective. **Current Genomics**, v. 17, p. 230-240, 2016.

MACHADO, Y. L. **Avaliação da estabilidade oxidativa e determinação da cinética de oxidação de óleos vegetais, ácido oleico e biodiesel utilizando o método PetroOXY (ASTM D7545)**. 2014. 180 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

MAGALHÃES, K. F.; CAIRES, A. R. L.; SILVA, M. S.; ALCANTRA, G. B.; OLIVEIRA, S. L. Endogenous fluorescence of biodiesel and products thereof: 4 Investigation of the molecules responsible for this effect. **Fuel**, v. 119, p. 120-128, 2013.

MALDONADE, I. R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; SCAMPARINI, A. R. P. Statistical optimisation of cell growth and carotenoid production by *Rhodotorula mucilaginosa*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, p. 109-115, 2012.

MANOEL, P. S.; TREVELIN, C. C.; NISHIDA, S. M.; NIERO, I. R. A. Fauna. In: GUIMARÃES, E.; TREVELIN, C. C.; MANOEL, P. S. **Pantanal – paisagens, flora e fauna**. 1 ed. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2014. cap. 6, p.47-75.

MARRONE, L.; NERI, L.; CANTINI, C.; ALFEI, B.; ROTONDI, A. Study of the combined effects of ripeness and production area on Bosana oil's quality. **Food Chemistry**, v. 15, n. 245, p. 1098-1104, 2018.

MAYA, R. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Avaliação de um método simples e econômico para a metilação de ácidos graxos com lipídeos de diversas espécies de peixes. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 53, p. 27-53, 1993.

MENDES, D. C. S. **Caracterização fisiológica do fruto murici (*Byrsonima sp.*) in natura**. 2017. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Goiás/UFG, Goiânia, 2017.

MIN, D. B.; BOFF, J. M. Lipid oxidation of edible oil. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B. (Org.). **Food Lipids – chemistry, nutrition, and biotechnology**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, Inc., 2002. cap. 11, p. 353-381.

MINOLTA CORPORATION. **Precise color communication: color control from feeling to instrumentation**. Ramsey: Minolta Corporation Instrument Systems Division, 1994.

MISHRA, K.; OJHA, H.; CHAUDHURY, N. K. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: a critical review and results. **Food Chemistry**, v. 120, p. 1036-1043, 2012.

MISUTSU, M. Y.; CAVALHEIRO, L. F.; RICCI, T. G.; VIANA, L. H.; OLIVEIRA, S. C.; MACHULEK JUNIOR, A.; OLIVEIRA, L. C. S. Thermoanalytical methods in verifying the quality of biodiesel. In: BIERNAT, K. **Biofuels – status and perspective**. London: IntechOpen, 2015. cap. 12, p. 251-269.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L.; AMORIM, E. L. C. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MONTEIRO, D. C. B.; PIRES, C. R. F. Avaliação da estabilidade físico-química de geleias de murici armazenadas sob diferentes condições de temperatura e luminosidade. **Revista Desafios**, v. 3, n. Especial, p. 87-98, 2016.

MORZELLE, M. C.; BACHIEGA, P.; SOUZA, E. C.; VILAS BOAS, E. V. B.; LAMOUNIER, M. L. Caracterização química e física de frutos de curriola, gabioba e murici provenientes do cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 1, p. 96-103, 2015.

MOTA, V. AP.; CASTRO, J. C.; VAGULA, J. M.; COSTA, J. M. C.; CLEMENTE, E. Physicochemical quality of Murici covered with starch based coverings and stored at different temperatures. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 15, p. 1344-1352, 2016.

NASCIMENTO, E. M. M.; RODRIGUES, F. F. G.; COSTA, W. D.; BOLIGON, A. A.; SOUSA, E. O.; RODRIGUES, F. F. G.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M. HPLC and *In vitro* evaluation of antioxidant properties of fruit from *Malpighia glabra* (Malpighiaceae) at different stages of maturation. **Food and Chemical Toxicology**, v. 119, p. 457-463, 2018.

NERI-NUMA, I. A.; SANCHO, R. A. S.; PEREIRA, A. P. A.; PASTORE, G. M. Small Brazilian wild fruits: nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. **Food Research International**, v. 103, p. 345-360, 2018.

NEVES, L. C.; TOSIN, J. M.; BENEDETTE, R. M.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Post-harvest nutraceutical behavior during ripening and senescence of 8 highly perishable fruit species from the Northern Brazilian Amazon region. **Food Chemistry**, v. 174, p. 188-196, 2015.

NIETO, L. M.; HODAIFA, G.; PEÑA, J. L. L. Changes in phenolic compounds and Rancimat stability of olive oils from varieties of olives at different stages of ripeness. **Journal of Science Food and Agriculture**, v. 90, p. 2393-2398, 2010.

NO, D. S.; ZHAO, T.; KIM, B. H.; CHOI, H-D.; KIM, I-H. Enrichment of erucic acid from crambe oil in a recirculated packed bed reactor via lipase-catalyzed ethanolysis. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 87, p. 6-10, 2013.

OJEDA-AMADOR, R. M.; FREGAPANE, G.; SALVADOR, M. D. Composition and properties of virgin pistachio oils and their by-products from different cultivars. **Food Chemistry**, v. 240, p. 123-130, 2018.

O'KEEFE, S. F. Nomenclature and classification of lipids. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B. (Org.). **Food Lipids – chemistry, nutrition, and biotechnology**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, Inc., 2002. cap. 1, p. 19-58.

OLIVEIRA, I. P.; CORREA, W. A.; NEVES, P. V.; SILVA, P. V. B.; LESCANO, C. H.; MICHELS, F. S.; PASSOS, W. E.; MUZZI, R. M.; OLIVEIRA, S. L.; CAIRES, A. R. L. Optical analysis of the oils obtained from *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd: mapping absorption-emission profiles in an induced oxidation process. **Photonics**, v. 4, n. 3, 2017.

OU, B.; CHANG, T.; HUANG, D.; PIOR, R. L. Determination of total antioxidant capacity by oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using fluorescein as the fluorescence probe: first action 2012.23. **Food Composition and Additives**, v. 96, n. 6, p. 1372-1376, 2013.

OZCAN, T.; AKPINAR-BAYIZIT, A.; YILMAZ-ERSAN, L.; DELIKANLI, B. Phenolics in human health. **International Journal of Chemical Engineering and Applications**, v. 5, n. 5, p. 393-396, 2014.

PAZ, M.; GÚLLON, P.; BARROSO, M. F.; CARVALHO, A. P.; DOMINGUES, V. F.; GOMES, A. M.; BECKER, H.; LONGHINOTTI, E.; DELERUE-MATOS, C. Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: evaluation of bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 172, p. 462-468, 2015.

PAWAR, N.; PUROHIT, A.; GANDHI, K.; ARORA, S.; SINGH, R. R. B. Effect of operational parameters on determination of oxidative stability measured by Rancimat method. **International Journal of Food Properties**, v. 17, p. 2082-2088, 2014.

PEREIRA, V. V.; BOREL, C. R.; SILVA, R. R. Phytochemical screening, total phenolic content and antioxidant activity of *Byrsonima* species. **Natural Product Research**, v. 29, n. 15, p. 1461-1465, 2015.

PIGHINELLI, A. L. M. T.; GAMBETTA, R. Oil presses. In: AKPAN, U. G. (Org.). **Oilseeds**. London: IntechOpen, 2012. cap. 2, p. 33-52.

PRATES, M. F. O. **Potencial nutritivo e compostos bioativos em frutos de canjiqueira: pós-colheita e processamento**. 2012. 93 f. Tese (Doutorado em

Tecnologia e Saúde) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2012.

PRATES, M. F. O.; CAMPOS, R. P.; SILVA, M. M. B.; MACEDO, M. L. R.; HIANE, P. A.; RAMOS FILHO, M. M. Nutritional and antioxidant potential of canjiqueira fruits affected by maturity stage and thermal processing. **Ciência Rural**, v. 45, n. 3, p. 399-404, 2015.

POTT, A.; POTT, V. J. Vegetação do Pantanal: fitogeografia e dinâmica. In: 2º Simpósio de Geotecnologias no Pantanal, 2009, Corumbá. **Anais do 2º Simpósio de Geotecnologias no Pantanal**, Corumbá, Embrapa Informática Agropecuária/INPE, p. 1065-1076.

RAMFUL, D.; TARNUS, E.; ARUOMA, O. I.; BOURDON, E.; BAHORUN, T. Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of *Mauritian citrus* fruit pulps. **Food Research International**, v. 44, p. 2088-2099, 2011.

RANGANNA, S. **Manual of analysis of fruit and vegetable products**. New Delhi: McGraw-Hill, 1997.

REDONDO-CUEVAS, L.; CASTELLANO, G.; TORRENS, F.; RAIKOS, V. Revealing the relationship between vegetable oil composition and oxidative stability: A multifactorial approach. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 66, p. 221-229, 2018.

REISCHE, D. W.; LILLARD, D. A.; EITENMILLER, R. R. Antioxidants. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B. (Org.). **Food Lipids – chemistry, nutrition, and biotechnology**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, Inc., 2002. cap. 15, p. 507-534.

REPETTO, M.; SEMPRINE, J.; BOVERIS, A. Lipid peroxidation: chemical mechanism, biological implications and analytical determination. In: CATALA, A. (Org.). **Lipid Peroxidation**. London: IntechOpen, 2012. cap. 1, p. 3-30.

RODRIGUEZ-AMAYA, B. D. **A Guide to Carotenoid Analysis in Foods**. Washington, D. C.: International Life Science Institute Prece, p. 64, 1999.

SALDAÑA, M. D. A.; MARTÍNEZ-MONTEAGUDO, S. I. Oxidative stability of fats and oils measured by Differential Scanning calorimetry for food and industrial applications. In: ELKORDY, A. A. (Org.). **Applications of calorimetry in a wide context – Differential Scanning Calorimetry, Isothermal Titration Calorimetry and Microcalorimetry**. London: IntechOpen, 2013. cap. 19, p. 445-474.

SAMPAIO, C. R. P.; HAMERSKI, F.; RIBANI, R. H. Antioxidant phytochemicals of *Byrsonima ligustrifolia* throughout fruit developmental stages. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 400-410, 2015.

SANNOMIYA, M.; CARDOSO, C. R. P.; FIGUEIREDO, M. E.; RODRIGUES, C. M.; SANTOS, L. C.; SANTOS, F. V.; SERPELONI, J. M.; CÓLUS, I. M. S.; VILEGAS, W.; VARANDA, E. A. Mutagenic evaluation and chemical investigation of *Byrsonima*

intermedia A. Juss. leaf extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v.112, p. 319-326, 2007.

SANTOS, M. F. G.; MAMEDE, R. V. S.; RUFINO, M. S. M.; BRITO, E. S.; ALVES, R. E. Amazonian native palm fruits as sources of antioxidant bioactive compounds. **Antioxidants**, v. 4, p. 591-602, 2015.

SANTOS, V. S.; NASCIMENTO, T. V.; FELIPE, J. L.; BOARETTO, A. G.; DAMASCENO-JÚNIOR, G. A.; SILVA, D. B.; TOFFOLI-KADRI, M. C.; CAROLLO, C. A. Nutraceutical potential of *Byrsonima cydoniifolia* fruits based on chemical composition, anti-inflammatory, and antihyperalgesic activities. **Food Chemistry**, v. 237, p. 240-246, 2017.

SCHIASI, M. C. E. V.; SOUZA, V. R.; LAGO, A. M. T.; CAMPOS, L. G.; QUEIROZ, F. Fruits from the Brazilian cerrado region: physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. **Food Chemistry**, v. 245, p. 305-311, 2018.

SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, P. K. J. P. D. Extraction and analysis of lipids. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B. (Org.). **Food Lipids – chemistry, nutrition, and biotechnology**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, Inc., 2002. cap. 5, p. 151-186.

SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, U. N. Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B. (Org.). **Food Lipids – chemistry, nutrition, and biotechnology**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, Inc., 2002. cap. 14, p. 483-506.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820-897, 2015.

SIGUEMOTO, E. S. **Composição nutricional e propriedades funcionais do murici (*Byrsonima crassifolia*) e da moringa (*Moringa oleifera*)**. 2013. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Saúde Pública/USP, São Paulo, 2013.

SILVA, P. M. C.; NEVES, L. C.; BASTOS, V. J.; LIMA, C. G. B.; ARAÚJO, K. G. M.; ROBERTO, S. F. Harvesting period of Murici (*Byrsonima crassifolia* Kunth) fruit in relation to physical and chemical parameters evaluated during fruit development. **Scientia Horticulturae**, v. 200, p. 66-72, 2016.

SILVA, V. D.; CONCEIÇÃO, J. N.; OLIVEIRA, I. P.; LESCANO, C. H.; MUZZI, R. M.; FILHO, O. P. S.; CONCEIÇÃO, E. C.; CASAGRANDE, G. A.; CAIRES, A. R. L. Oxidative stability of baru (*Dipteryx alata* Vogel) oil monitored by fluorescence and absorption spectroscopy. **Journal of Spectroscopy**, v. 2015, 2015.

SIRIAMORNpun, S.; KAEWSEEJAN, N. Quality, bioactive compounds and antioxidant capacity of selected climacteric fruits with relation to their maturity. **Scientia Horticulturae**, v. 221, p. 33-42, 2017.

SWAIN, T.; HILLS, W. E. The phenolics constituents of *prunus domestica*: the quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959.

TREVISAN, M. G.; POPPI, R. Química analítica de processos. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 1065-1071, 2006.

VASKOVA, H.; BUCKOVA, M. Thermal degradation of vegetable oils: spectroscopic measurement and analysis. **Procedia Engineering**, v. 100, p. 630-635, 2015.

ANEXO A – CADASTRO DO TRABALHO NO SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO (SisGen)



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso
Cadastro nº A5BB3DA

A atividade de acesso ao Conhecimento Tradicional Associado, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A5BB3DA**
Usuário: **UFMS**
CPF/CNPJ: **15.461.510/0001-33**
Objeto do Acesso: **Conhecimento Tradicional Associado**
Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Não aplica.

Fonte do CTA

CTA de origem não identificável

Título da Atividade: **Efeito do estágio de maturação na composição e estabilidade lipídica de frutos de *Byrsonima cydoniifolia* A. Juss.**

Equipe

Rita de Cássia Avellaneda Guimarães	UFMS
Gabriela Marcelino	UFMS
Juliana Rodrigues Donadon	UFMS
Priscila Aiko Hiane	UFMS

Data do Cadastro: **12/07/2018 21:25:00**
Situação do Cadastro: **Concluído**



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **9:33 de 19/07/2018.**



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
ASSOCIADO - **SISGEN**

ANEXO B – ARTIGO CIENTÍFICO PUBLICADO NO JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND AGRICULTURE

Research Article



Received: 22 August 2018

Revised: 13 November 2018

Accepted article published: 18 November 2018

Published online in Wiley Online Library:

(wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/jsfa.9498

Characterization and oxidative stability of oils and bioactive compounds of the fruits of *Byrsonima cydoniifolia* A. Juss. at different ripening stages

Gabriela Marcelino,^{a*} Juliana R Donadon,^a Anderson RL Caires,^b Flavio S Michels,^b Lincoln CS Oliveira,^c Mário R Cortes,^c Iriani R Maldonado,^d Leandro F Cavaleiro,^c Carlos ED Nazário,^c Mário R Maróstica Júnior,^e Nathalia MD Santos,^e Patrícia B Batista,^e Arnildo Pott,^f Ângela A Nunes,^g Priscila S Figueiredo,^a Priscila A Hiane,^a Valter A Nascimento^a and Rita CA Guimarães^a

Abstract

BACKGROUND: Fruits present high concentrations of bioactive compounds that are beneficial to health due to their antioxidant properties. New alternatives to vegetable oils with such properties have been studied. We determined the chemical compounds of *Byrsonima cydoniifolia* A. Juss. fruits in three ripening stages as well as the optical behavior and quality level of the oils.

RESULTS: The ripening stage affected the chemical composition of the fruits and oils. The fruits presented high values of bioactive compounds, as ascorbic acid ($1.46\text{--}1.82\text{ g kg}^{-1}$) and total phenols ($3.54\text{--}15.91\text{ g gallic acid equivalents kg}^{-1}$), as well as showed excellent antioxidant activity. The ripe fruits showed high content of carotenoids (45.90 mg kg^{-1}) where lutein is the major carotenoid, representing 55.56%. The oil of the ripe fruits showed high lipid content (252.6 g kg^{-1}) and contained oleic (521.83 g kg^{-1}), palmitic (209.13 g kg^{-1}) and linoleic (195.4 g kg^{-1}) fatty acids. The oil of ripe fruits showed the best oxidative stability, with longer induction period (22.29 h) than the other oils.

CONCLUSION: Fruits of *B. cydoniifolia* A. Juss. demonstrate to possess a promising potential for the use as functional ingredients. The oil of the ripe fruits was more stable and presents a greater potential to be used for edible purposes.

© 2018 Society of Chemical Industry

Keywords: murici; chemical composition; bioactive compounds; fatty acids; oxidative stability; thermal stability