



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

Ana Cristina Pinheiro do Prado

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA CASCA E TORTA DE NOZ-
PECÃ [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]**

Florianópolis

2008

Ana Cristina Pinheiro do Prado

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA CASCA E TORTA DE NOZ-
PECÃ [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]**

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos,
da Universidade Federal de Santa
Catarina, como requisito final para a
obtenção do título de Mestre em Ciência
dos Alimentos.**

Orientadora: Prof^a. Dra. Jane Mara Block

Florianópolis

2008

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA CASCA E TORTA DE NOZ-
PECÃ [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]**

Por

Ana Cristina Pinheiro do Prado

Dissertação aprovada como requisito final para a obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, pela Comissão formada por:

Presidente: _____

Profª. Dra. Jane Mara Block (UFSC)

Membro: _____

Prof. Dr. Daniel Barrera-Arellano (UNICAMP)

Membro: _____

Prof. Dr. Haiko Hense (UFSC)

Membro: _____

Profª. Dra. Roseane Fett (UFSC)

Coordenador: _____

Profª. Dra. Marilde Terezinha Bordignon Luiz (UFSC)

Florianópolis, 27 de maio de 2008.

Aos meus pais, Carlos e Ilone, dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela fidelidade, força, ânimo, amor, coragem e companhia em todos os momentos.

À minha família e ao meu namorado, pela confiança, apoio, investimento, ombro amigo nas horas difíceis, compreensão, amizade e, de forma especial, pelo consolo, carinho e amor dedicados sem medida.

À minha orientadora, pela confiança, respeito e pela oportunidade concedida.

À equipe do laboratório de Química de Alimentos pela colaboração na realização das análises em seu laboratório.

Às secretárias da Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras, pela grande amizade.

À minha estagiária, pela dedicação, compromisso e seriedade na realização das análises e, que no decorrer do tempo tornou-se uma grande amiga.

Aos colegas, alguns mais próximos, outros mais distantes, porém todos ocupando um espaço em meu coração.

A todos os professores do programa de Pós-Graduação pela colaboração na realização e conclusão deste trabalho.

À Indústria de Nozes Divinut Ltda, pelo fornecimento das amostras e apoio financeiro ao projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

E a todos aqueles, que de alguma forma contribuíram para que este sonho fosse concretizado, os meus sinceros agradecimentos.

"O vento sopra onde quer, e ouves a sua voz, mas não sabes de onde vem, nem para onde vai. Assim é todo aquele que é nascido do Espírito" (Jo. 3:8 - Bíblia Sagrada).

PRADO, A.C.P. **Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]**, 2008. 131 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, [2008].

RESUMO

O processamento da noz-pecã resulta em subprodutos, como a casca, comercializada para preparar chá e a torta, resultante da prensagem para a obtenção do óleo, utilizada em panificação. No presente trabalho foi determinado a composição nutricional da casca, o teor de compostos fenólicos totais e de taninos condensados em diferentes extratos (éter, acetona, álcool e água) da casca e torta de noz-pecã, e, em extratos do chá da casca de noz-pecã. Além disso, foi estudada a atividade antioxidante dos diferentes extratos da casca e torta através dos sistemas ABTS [2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)], DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e β -caroteno/ácido linoléico. Neste último sistema a atividade antioxidante dos extratos foi comparada com a atividade de uma mistura de tocoferóis naturais (MT) e, o efeito sinérgico dos extratos e dos tocoferóis foi estudado através da mistura de ambos. A cor da casca e da torta foi determinada através de análise instrumental utilizando o sistema CIE Lab. De acordo com os resultados obtidos, a casca apresentou um teor elevado de fibras (48,6 %). Na casca da noz-pecã, os teores significativamente mais elevados ($p < 0,05$) para fenólicos totais e taninos condensados (118,4 mg GAE/g e 736,5 mg CE/g CE) e, a maior atividade antioxidante nos sistemas ABTS (2600,6 $\mu\text{mol TEAC/g}$) e DPPH (453,9 mg TEAC/g após 30 min. e, 617,4 mg TEAC/g após 24 horas), foram observados no extrato alcoólico. Na torta da noz-pecã, os teores mais significativos ($p < 0,05$) para fenólicos totais (16,4 mg GAE/g), taninos condensados (31,2 mg CE/g) e atividade antioxidante, nos sistemas ABTS (235,3 $\mu\text{mol TEAC/g}$) e DPPH (68,6 mg TEAC/g após 30 min. e, 100,3 mg TEAC/g após 24 h), foram observados na fração extraída com acetona. Para os extratos de chá da casca, o teor de compostos fenólicos totais determinado foi de 116,7 a 167,2 mg GAE/g e, de taninos condensados entre 35,5 e 48 mg CE/g. No chá, a atividade antioxidante no sistema ABTS, variou entre 1112,6 a 1763,2 $\mu\text{mol TEAC/g}$, e entre 305,6 a 488,4 mg TEAC/g (reação de 30 min.) e, de 482,5 a 683,7 mg TEAC/g (reação de 24 horas) para o sistema DPPH. Foi observada uma boa correlação entre o conteúdo de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante dos extratos para os diferentes métodos na casca, torta e no chá da casca de noz-pecã (r entre 0,9320 e 0,9980). A atividade antioxidante determinada pelo método β -caroteno / ácido linoléico foi superior para a fração acetona (94,9 % de inibição da oxidação na concentração de 500 ppm na casca e, 93,1 % na concentração de 300 ppm na torta de noz-pecã). Para o chá o maior percentual de inibição da oxidação (96,4%) foi observado para a concentração de 500 ppm. Os tocoferóis apresentaram resultados inferiores quando comparados com os extratos da casca, torta e chá e, não foram observados efeitos sinérgicos para as misturas dos extratos e tocoferóis. A análise de cor da casca e torta indicou maior tendência aos tons vermelhos nas amostras com maior teor de taninos condensados. Os resultados indicaram um teor elevado de compostos fenólicos e elevada atividade antioxidante para a casca e torta de noz-pecã, sendo a atividade maior para a casca.

Palavras-chave: noz-pecã, casca, chá da casca, torta, compostos fenólicos, atividade antioxidante.

PRADO, A.C.P. **Evaluation of the antioxidant activity of Pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] shell and kernel cake**, 2008. 131 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, [2008].

ABSTRACT

Pecan nut processing results in by-products, such as the shell, commercialized to prepare tea, and the kernel cake, result of the pressing process to produce oil, used in bakery. In the present study, the nutritional composition of the shell, the total phenolic compound and condensed tannin contents of different Pecan nut shell and kernel cake extracts (ether, acetone, alcohol and water) and of Pecan nut shell tea extracts were determined. Also, the antioxidant activity of the different shell and kernel cake extracts were studied through ABTS [2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzotiazoline-6-sulphonic acid)], DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and β -carotene/linoleic acid systems. In the latter system, the antioxidant activity of the extracts was compared to the activity of a mixture of natural tocopherols (MT) and the synergistic effect of the extracts and tocopherols was studied through the combination of both. Color parameters of the shell and kernel cake were determined instrumentally using the CIE Lab system. According to the results, the shell presented a high fiber content (48.6 %). In Pecan nut shell, significantly higher ($p < 0.05$) contents of total phenolics and condensed tannins (118.4 mg GAE/g and 736.5 mg CE/g) and the highest antioxidant activity in the ABTS (2600.6 $\mu\text{mol TEAC/g}$) and DPPH (453.9 mg TEAC/g after 30 min. and 617.4 mg TEAC/g after 24 hours) systems were observed in the alcoholic extract. In Pecan nut kernel cake, the significantly highest ($p < 0.05$) total phenolic compound content (16.4 mg GAE/g), condensed tannin content (31.2 mg CE/g) and antioxidant activity in the ABTS (235.3 $\mu\text{mol TEAC/g}$) and DPPH (68.6 mg TEAC/g after 30 min. and 100.3 mg TEAC/g after 24 h) systems were observed in the acetone-extracted fraction. In the shell tea extracts, the total phenolic compound content ranged from 116.7 to 167.2 mg GAE/g and the condensed tannin content ranged from 35.5 to 48 mg CE/g. In the tea, the antioxidant activity varied between 1112.6 and 1763.2 $\mu\text{mol TEAC/g}$ in the ABTS system and between 305.6 and 488.4 mg TEAC/g (30 min. reaction) and 482.5 and 683.7 mg TEAC/g (24 hours reaction) in the DPPH system. A good correlation between the total phenolic compound content and the antioxidant activity of the extracts determined through the different methods for Pecan nut shell, kernel cake and tea was observed (r between 0.9320 and 0.99580). The antioxidant activity determined through the β -carotene/linoleic acid method was higher for the acetone fraction (94.9 % oxidation inhibition at a concentration of 500 ppm for the shell and 93.1 % at a concentration of 300 ppm for Pecan nut kernel cake). For the tea, the highest oxidation inhibition percentage (96.4 %) was observed at a concentration of 500 ppm. Tocopherols presented lower results when compared to the shell, kernel cake and tea extracts and no synergistic effects were observed for the combinations of extracts and tocopherols. Color analysis of the shell and kernel cake indicated a greater tendency to red in the samples with higher condensed tannin contents. The results indicated a high content of phenolic compounds and a high antioxidant activity in Pecan nut shell and kernel cake, with a higher activity in the shell.

Key words: Pecan nut, shell, shell tea, kernel cake, phenolic compounds, antioxidant activity.

Lista de Ilustrações

CAPÍTULO 1.....	
Figura 01 - Esquema representativo das fases do processo de oxidação de um ácido graxo insaturado	23
Figura 02 - Esquema representativo das fases do processo da fotooxidação de um ácido graxo insaturado	24
Figura 03 – Representação esquemática da ação de um antioxidante em um radical livre	25
Figura 04 - Estrutura química dos antioxidantes sintéticos BHA, BHT, TBHQ e galatos	27
Figura 05 - Estruturas químicas dos tocoferóis e tocotrienóis	29
Figura 06 - Exemplos de ácidos hidroxibenzóicos (a) e hidroxicinâmicos (b)	33
Figura 07 - Estrutura básica de uma cumarina	34
Figura 08 - Estrutura genérica de uma molécula flavonóide	35
Figura 09 - Estrutura do cátion flavílium - R1, R2: H, OH ou OCH3; R3: H ou glicosídeo; R4: OH ou glicosídeo	36
Figura 10 - Exemplo de estrutura química de um tanino hidrolizável - β 1,2,3,4,6-pentagalactil-D-glicose	38
Figura 11 - Estrutura química geral de um tanino condensado / proantocianidina sofrendo catálise ácida originando seus produtos de degradação	39
Figura 12 - Nogueira / Noz-pecã.....	42
Figura 13 - Representação esquemática de reações de condensação da vanilina com leucoantocianidina	49
Figura 14 - Representação esquemática da redução do radical DPPH	51
Figura 15 - Representação esquemática do radical ABTS e radical cátion ABTS	52
Figura 16 - Diagrama de Cromaticidade a* e b*	57
CAPÍTULO 2.....	
Figura 01 – Diagrama do procedimento de extração	76
Figura 02 - (A) Correlação entre o conteúdo de fenólicos totais (FT) e a atividade antioxidante medida pelo método ABTS. (B) Correlação entre o conteúdo de fenólicos totais (FT) e a atividade antioxidante medida pelo método DPPH (24 horas).	84
CAPÍTULO 3.....	
Figura 01 - (A) Correlação entre o conteúdo de fenólicos totais (FT) e a atividade antioxidante medida pelo método ABTS. (B) Correlação entre o conteúdo de fenólicos totais (FT) e a atividade antioxidante medida pelo método DPPH (24 horas).	103

CAPÍTULO 4.....	
Figura 01 – Diagrama do procedimento de extração	113
Figura 02 - (A) Correlação entre o conteúdo de fenólicos totais (FT) e a atividade antioxidante medida pelo método ABTS. (B) Correlação entre o conteúdo de fenólicos totais (FT) e a atividade antioxidante medida pelo método DPPH (24 horas).	120

Lista de Tabelas

CAPÍTULO 1.....	
Tabela 01 - Classes de compostos fenólicos presentes em plantas.....	31
CAPÍTULO 2.....	
Tabela 01 – Extrato Seco, conteúdo de fenólicos totais, taninos condensados e atividade antioxidante, determinada pelos sistemas ABTS e DPPH, da casca de noz-pecã.....	80
Tabela 02 – Percentual da inibição da oxidação dos tocoferóis (MT), dos extratos da casca de noz-pecã (acetona e álcool) e misturas dos extratos com tocoferóis na mesma proporção (E+MT 1:1), medidos in vitro através do sistema modelo β -caroteno e ácido linoléico.....	85
Tabela 03 - Avaliação instrumental da cor através do sistema CIE Lab (Comission Internationale de Eclairage) de três lotes de casca de noz-pecã produzida no sul do Brasil....	87
CAPÍTULO 3.....	
Tabela 01 – Composição nutricional da casca de noz-pecã.....	100
Tabela 02 – Extrato seco, conteúdo de fenólicos totais, taninos condensados e capacidade antioxidante do chá da casca de noz-pecã.....	101
Tabela 03 – Percentual da inibição da oxidação dos tocoferóis (MT), dos extratos do chá da casca de noz-pecã e misturas dos extratos com tocoferóis na mesma proporção (E+MT 1:1), medidos in vitro através do sistema modelo β -caroteno e ácido linoléico.....	104
CAPÍTULO 4.....	
Tabela 01 – Extrato Seco, conteúdo de fenólicos totais, taninos condensados e atividade antioxidante, determinada pelos sistemas ABTS e DPPH, da torta de noz-pecã.....	117
Tabela 02 – Percentual da inibição da oxidação dos tocoferóis (MT), dos extratos da torta de noz-pecã (acetona e água) e misturas dos extratos com tocoferóis na mesma proporção (E+MT 1:1), medidos in vitro através do sistema modelo β -caroteno e ácido linoléico.....	121
Tabela 03 - Avaliação instrumental da cor através do sistema CIE Lab (Comission Internationale de Eclairage) de três lotes de torta de noz-pecã produzida no sul do Brasil....	123

Sumário

1 Introdução	15
2 Objetivos.....	18
2.1 Objetivo geral.....	18
2.2 Objetivos específicos.....	18
CAPÍTULO 1.....	19
1 Revisão bibliográfica.....	20
1.1 Oxidação de lipídios em alimentos.....	20
1.2 Antioxidantes.....	24
1.2.1 Classificação quanto ao mecanismo de ação.....	24
1.2.2 Classificação quanto a origem.....	26
1.3 Perspectivas para o uso de antioxidantes naturais.....	40
1.4 Noz-pecã	42
1.4.1 Características botânicas e produção.....	42
1.4.2 Beneficiamento e aplicações.....	43
1.4.3 Composição nutricional e fitoquímica.....	45
1.5 Análise de compostos fenólicos.....	46
1.5.1 Extração de compostos bioativos em vegetais.....	46
1.5.2 Análise fitoquímica.....	47
1.5.3 Avaliação da atividade antioxidante.....	50
1.6 Análise instrumental da cor.....	54
2 Referências Bibliográficas.....	58
CAPÍTULO 2.....	71
Compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos da casca de noz-pecã [<i>Carya illinoensis</i> (Wangenh.) C. Koch] obtidos através de extração seqüencial.....	71
1 Introdução.....	73
2 Metodologia.....	75
2.1 Matéria-prima.....	75
2.2 Preparo da amostra.....	75
2.2.1 Obtenção dos extratos da casca de noz-pecã.....	75
2.3 Determinação de compostos fenólicos totais.....	77
2.4 Determinação do teor de taninos condensados.....	77
2.5 Determinação da capacidade antioxidante.....	77

2.6	Análise instrumental da cor da casca da noz-pecã	79
2.7	Análise Estatística.....	79
3	Resultados e Discussão.....	79
4	Conclusões.....	88
5	Referências.....	89
CAPÍTULO 3.....		93
Propriedades antioxidantes do chá da casca de noz-pecã [Carya illinoensis (Wangenh.) C. Koch]		93
1	Introdução.....	95
2	Materiais e Métodos.....	96
2.1	Matéria-prima.....	96
2.2	Metodologia.....	96
2.2.1	Composição nutricional	96
2.2.2	Obtenção do chá da casca de noz-pecã.....	97
2.2.3	Determinação de compostos fenólicos totais.....	97
2.2.4	Determinação do teor de taninos condensados.....	97
2.2.5	Determinação da capacidade antioxidante.....	98
2.2.6	Análise Estatística.....	99
3	Resultados e Discussão.....	99
4	Conclusões.....	105
5	Referências.....	105
CAPÍTULO 4.....		108
Compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos da torta de noz-pecã [Carya illinoensis (Wangenh.) C. Koch] obtidos através de extração seqüencial		108
1.	Introdução.....	110
2	Metodologia.....	112
2.1	Matéria-prima.....	112
2.2	Preparo da Amostra.....	112
2.2.1	Obtenção dos extratos da torta de noz-pecã.....	113
2.3	Determinação de compostos fenólicos totais.....	114
2.4	Determinação do teor de taninos condensados.....	114
2.5	Determinação da capacidade antioxidante.....	114
2.6	Análise instrumental da cor da torta da noz-pecã	116
2.7	Análise Estatística.....	116

3. Resultados e Discussão.....	117
4. Conclusões.....	124
5 Referências.....	125
CONCLUSÕES.....	130

1 Introdução

Muitos estudos têm demonstrado uma relação inversa entre o consumo de frutas, vegetais e cereais com a incidência de doenças cardiovasculares, determinados tipos de câncer, aterosclerose e doenças inflamatórias. Essas doenças estão associadas à oxidação nos sistemas biológicos, que envolvem a geração e reação em cadeia de radicais livres (RL) no organismo, que desempenham papel chave no surgimento destas patologias. Os RL são moléculas que contêm um elétron isolado (não pareado), constituindo espécies instáveis e extremamente reativas. Esses RL são responsáveis por alterações em alguns componentes celulares podendo desencadear reações em cadeia nos ácidos graxos da membrana lipoprotéica, afetando sua integridade estrutural e funcional. Em alimentos, a oxidação em ácidos graxos insaturados e formação de RL resulta no desenvolvimento da rancidez, alteração caracterizada pelo desenvolvimento de odores e sabores desagradáveis e perda de valor nutricional. Os processos oxidativos podem ser retardados através da modificação das condições ambientais, do uso de embalagens e /ou substâncias antioxidantes (SOARES, 2002; SCALBERT e WILLIAMSON, 2000; THOMAS, 2000; RICE-EVANS, MILLER e PAGANÇA, 1997).

Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias que, quando presentes em baixas concentrações comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente a oxidação do mesmo (HALLIWELL, 1990; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1989). Essa diminuição na velocidade de reação ocorre por ação nas diferentes etapas do processo de oxidação, atuando sobre diversos substratos, desde uma molécula simples a polímeros e biosistemas complexos (HALLIWELL et al., 1995).

Quanto a sua natureza, os antioxidantes são classificados em sintéticos e naturais. Entre os antioxidantes sintéticos mais utilizados em alimentos estão o butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), terc-butilhidroquinona (TBHQ) e propil galato (PG). Esses compostos possuem em comum uma estrutura fenólica com várias substituições no anel aromático conferindo maior eficácia e estabilidade ao perderem um átomo de hidrogênio, devido ao fenômeno de ressonância no interior do fenol. Entre os antioxidantes naturais de importância

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]

comercial estão os tocoferóis, tocotrienóis, carotenóides, ácido ascórbico e seus sais. Estes compostos estão presentes em alimentos de origem vegetal, tais como frutas, verduras e alguns cereais. Os antioxidantes sintéticos têm sido utilizados há muito tempo em alimentos mas atualmente, por questões relacionadas a saúde, existe uma tendência para a redução do seu uso e aumento da utilização dos antioxidantes naturais (SHAHIDI e ZHONG, 2005; SOARES, 2002).

Um grande número de vegetais, frutas, temperos e especiarias têm sido estudados como fonte de antioxidantes naturais (DIMITRIOS, 2006). Apesar do grande número de trabalhos realizados, muitos alimentos ainda não foram estudados, principalmente quando se trata de plantas de cultivo e consumo limitado em determinada região, que não são conhecidas por grande parte da população. Desta forma a avaliação de alimentos populares e tradicionais podem oferecer muitos benefícios na promoção da saúde humana .

Entre os alimentos tradicionalmente utilizados, as nozes têm sido recomendadas na dieta tendo em vista seus efeitos benéficos à saúde. Estudos epidemiológicos sugerem uma ligação entre as baixas taxas de mortalidade causadas por doenças cardíacas coronárias e câncer e a dieta mediterrânea, que entre outros alimentos, inclui o consumo de quantidades relativamente elevadas de nozes (SIMOPOULOS, 2001).

A noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch], pertence a família Juglandaceae, e foi cultivada originariamente por indígenas da América do Norte, podendo ser encontrada desde as regiões do Nebraska e Iowa nos Estados Unidos até o sul do México. A noz-pecã é produzida comercialmente na Austrália, sul da África, Israel, Argentina, Chile e sul do Brasil (VENKATACHALAM, 2004 e WAKELING et al., 2001). Entre os estados brasileiros que possuem os maiores pomares de nogueiras, destacam-se o Rio Grande do Sul, seguido dos estados de Santa Catarina e Paraná, onde existe um grande número de pequenas propriedades que oferecem quantidades significativas de nozes para o mercado (ORTIZ, 2000).

A noz-pecã apresenta baixo conteúdo de ácidos graxos saturados e índices elevados de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados. Evidências indicam também, a presença de moléculas responsáveis por efeitos cardioprotetores, como esteróis e tocoferóis (KRIS-ETHERTON et al., 1999). Além disso, a noz-pecã apresenta um conteúdo expressivo de compostos fenólicos totais com possível ação antioxidante natural (VILLARREAL-LOZOYA,

LOMBARDINI e CISNEROS-ZEVALLOS, 2007; KORNSTEINER, WAGNER e ELMADFA, 2006).

A noz-pecã é utilizada torrada, salgada, revestida com açúcar ou mel, na produção de *snacks* e cereais matinais (SWINK, 1996). No processamento de noz-pecã resulta um volume aproximado de 40 a 50% de casca residual (WORLEY, 1994), que no Brasil é comercializada para o preparo de chá. De acordo com Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007), a casca é rica em compostos fenólicos e taninos, que são responsáveis pela pronunciada adstringência do chá. Outro subproduto do processamento da noz-pecã é a torta, rica em proteínas e lipídios, que resulta da prensagem para obtenção do óleo. A torta pode ser utilizada como um ingrediente de confeitaria, padaria, em barras de cereais e indústrias lácteas (ORO, 2007).

Apesar da utilização, principalmente no sul do Brasil, dos subprodutos de noz-pecã, dados sobre a composição nutricional e presença de compostos com possível ação sobre a saúde destes produtos são escassos ou inexistentes.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

Determinar o teor de compostos fenólicos totais e de taninos condensados e, a atividade antioxidante exercida pelos extratos da casca, do chá da casca e da torta de noz-pecã cultivada no sul do Brasil.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar o teor de compostos fenólicos totais e taninos condensados na casca , chá da casca e torta de noz-pecã.
- Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* de extratos obtidos da casca, chá da casca e da torta de noz-pecã com diferentes solventes (éter etílico, acetona, álcool etílico e água destilada) e, em diferentes sistemas (ABTS [2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)]; DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e β -caroteno /ácido linoléico.
- Comparar a atividade antioxidante dos extratos da casca, chá e torta com um antioxidante comercial, composto de uma mistura de tocoferóis naturais.
- Determinar a composição nutricional da casca de noz-pecã.
- Avaliar a cor do pó da casca e torta de noz-pecã.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 Revisão bibliográfica

1.1 Oxidação de lipídios em alimentos

Os processos de oxidação em alimentos são responsáveis pela redução da vida de prateleira das matérias-primas e dos produtos industrializados levando a importante perda econômica. Desta forma, o conhecimento dos mecanismos de reação e formas de controle são de suma importância para a indústria de alimentos. Entre as principais reações de oxidação em alimentos se destacam o escurecimento enzimático e a oxidação de lipídios (DEGÁSPARI e WASZCZYNSKYJ, 2004).

Os principais problemas decorrentes da oxidação dos lipídios são as alterações sensoriais que resultam em sabor e aroma desagradáveis, conhecida como rancidez. As alterações na qualidade sensorial definem o prazo de validade de diversos produtos alimentícios processados (MALCOLMSON, 2005).

Os mecanismos de ação da oxidação dos ácidos graxos em alimentos são diversos e extremamente complexos e estão relacionados com o tipo de estrutura lipídica e o meio onde o lipídio se encontra. O número e a natureza das insaturações presentes, o tipo de interface entre os lipídios e o oxigênio (fase lipídica contínua, dispersa ou em emulsão), a exposição à luz e ao calor, a presença de pró-oxidantes ou de antioxidantes, são fatores determinantes para a estabilidade oxidativa dos lipídios (FRANKEL et al., 1994).

A oxidação pode ocorrer via enzimática ou não enzimática. A oxidação por via enzimática ocorre pela ação das enzimas lipoxigenases que atuam sobre os ácidos graxos polinsaturados, catalisando a adição do oxigênio à cadeia hidrocarbonada polinsaturada. O resultado é a formação de peróxidos e hidroperóxidos que podem ser degradados dando origem a moléculas de sabor e odor desagradáveis (SILVA, BORGES e FERREIRA, 1999).

A oxidação por via não enzimática ocorre através da autooxidação promovida pelo oxigênio e fotoxidação mediada pela luz através de moléculas fotossensíveis (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005).

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]

Segundo Wanasundara e Shahidi (2005), a autoxidação é o principal mecanismo de oxidação dos óleos e gorduras, consistindo na deterioração oxidativa de ácidos graxos através de um processo autocatalítico mediado por radicais livres. A autoxidação ocorre basicamente quando as duplas ligações dos ácidos graxos insaturados da molécula de gordura reagem com o oxigênio atmosférico. É uma reação quase espontânea favorecida por altas temperaturas, incidência de luz, presença de metais pró-oxidantes e grande concentração de duplas ligações (SHERWIN, 1978).

A oxidação de um lipídio é iniciada pelo ataque do oxigênio molecular às duplas ligações dos ácidos graxos insaturados que o compõem (GORDON, 2001). O oxigênio molecular é quimicamente pouco reativo, por isso ataca as duplas ligações somente em condições extremas, como alta temperatura e/ou pressão. Dessa forma, é pouco provável que ele inicie um processo de rancidez oxidativa. Porém, a estrutura eletrônica do oxigênio permite que ele possa receber ou perder elétrons, fazendo com que ocorra um desapareamento eletrônico que converte a molécula do oxigênio em um radical livre de alta reatividade química. Por este processo, o oxigênio pode sofrer diferentes tipos de reduções que o transformam em diferentes radicais livres. Os radicais livres de maior importância e reatividade química que se formam a partir da redução sequencial univalente do oxigênio são o radical livre superóxido e o radical livre hidroxil (VALENZUELA e NIETO, 2001). Esses radicais são formas ativas do oxigênio e podem atacar a estrutura dos ácidos graxos insaturados de um lipídio iniciando o processo de rancidez oxidativa. Essas reações caracterizam o chamado período de iniciação, que é conhecido por gerar radicais livres a partir do substrato (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005).

Para a transformação do oxigênio molecular em radicais livres são requeridos catalisadores, sendo que os metais de valência +2 são os mais importantes. O efeito catalisador dos metais é facilitado pela temperatura, pressão, luz e concentração de oxigênio. A presença de microrganismos pode também facilitar o desenvolvimento do processo oxidativo pelo efeito de enzimas e outras moléculas que favorecem a formação de radicais livres de oxigênio (VALENZUELA e NIETO, 2001).

Quando o radical livre de oxigênio ataca uma molécula de ácido graxo insaturado, esta se converte em um radical livre de alta reatividade que pode ser atacado pelo oxigênio molecular gerando diferentes tipos de produtos intermediários, como peróxidos, alcóxidos, epóxidos, etc. (GORDON, 2001). Estes produtos possuem propriedades radicalares que ao estabilizarem-se

subtraem hidrogênios de ácidos graxos, transformando-os em radicais livres de ácidos graxos. Esta etapa, chamada de propagação, é um processo autocatalítico que não requer a participação dos radicais livres de oxigênio da etapa de iniciação. Durante a propagação, a formação de peróxidos adquire velocidade, acompanhada pelo consumo elevado de oxigênio causando grandes modificações estruturais no lipídio (VALENZUELA e NIETO, 2001).

As transformações moleculares sofridas pelos lipídios durante a propagação geram uma grande variedade de produtos pela ruptura de sua cadeia carbonada. Eles podem ser álcoois, aldeídos, cetonas, hidroperóxidos, hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos, geralmente são voláteis e de baixo peso molecular e originam o sabor e o odor das substâncias oxidadas. Esses compostos possuem potencial tóxico e o seu consumo pode acarretar riscos para a saúde. Esta etapa, caracterizada pela formação de produtos secundários e que é responsável pela formação das alterações organolépticas do óleo ou da gordura é conhecida por terminação (GORDON, 2001).

Na Figura 01 pode ser observado o mecanismo proposto para a autoxidação, com as reações de iniciação, propagação e terminação. No processo de iniciação, o átomo de hidrogênio α -metilênico é abstraído da molécula lipídica para formar um radical livre alquil ($R\bullet$) [1]. O radical lipídico é altamente reativo podendo reagir com o oxigênio atmosférico (3O_2), produzindo um radical peroxil ($ROO\bullet$) [2]. Nas reações de propagação, o radical peroxil ($ROO\bullet$) reage com outra molécula de lipídio insaturado para formar um hidroperóxido e um novo radical lipídico instável [3]. Como um novo radical livre é gerado a cada passo, mais oxigênio é incorporado no sistema, resultando num mecanismo de reação cíclica [4]. Hidroperóxidos são instáveis e podem degradar para radicais que aceleram a reação de propagação [5]. A terminação ocorre somente quando dois radicais livres se combinam para formar um produto não radicalar. A autoxidação pode tanto quebrar moléculas, como formar novos compostos causando mudanças nas propriedades químicas e físicas do substrato oxidado. A degradação de hidroperóxidos pode gerar novas moléculas como os aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos, de odor e sabor desagradáveis e, ocasionar o surgimento da rancidez oxidativa do lipídio (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005).

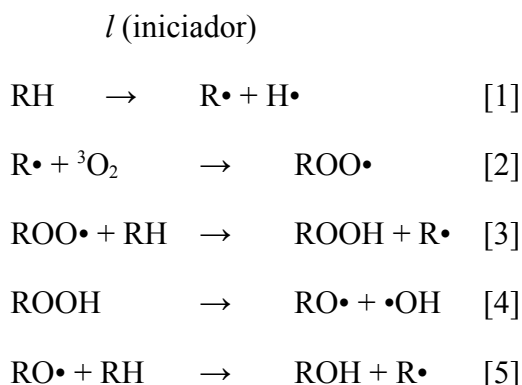


Figura 01 - Esquema representativo das fases do processo de oxidação de um ácido graxo insaturado (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005).

O mecanismo da fotoxidação ocorre de forma diferenciada da autoxidação mediada por radicais livres e, utiliza uma rota alternativa na formação de hidroperóxidos. A oxidação ocorre na presença de componentes naturalmente presentes no sistema lipídico e luz. Estes componentes são conhecidos como fotossensibilizadores ou cromóforos, devido à sua capacidade de capturar e concentrar energia luminosa (GORDON, 2001).

A fotoxidação é a reação direta da luz ativada e oxigênio singlete com ácidos graxos insaturados formando hidroperóxidos. A fotoxidação ocorre devido à presença de moléculas fotossensíveis (clorofila, mioglobina, riboflavina e outros) que podem absorver energia luminosa de comprimento de onda na faixa do visível e na região da radiação ultravioleta (UV) tornando-se eletronicamente excitadas capazes de sensibilizar fotoquimicamente radicais livres e transferir essa energia para o oxigênio triplete (${}^3\text{O}_2$), gerando o estado singlete (${}^1\text{O}_2$), estabelecendo a fase inicial da fotoxidação. Num segundo momento, o oxigênio singlete, mais reativo e instável que o oxigênio no estado fundamental, reage diretamente com os elétrons das duplas ligações dos ácidos graxos polinsaturados para formar hidroperóxidos diferentes dos que são observados na ausência de luz e de sensibilizadores, e que por degradação posterior originam aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005; SILVA, BORGES e FERREIRA, 1999). A Figura 02 demonstra a formação de hidroperóxidos por fotoxidação de um lipídio com a ação de uma molécula fotossensibilizadora.

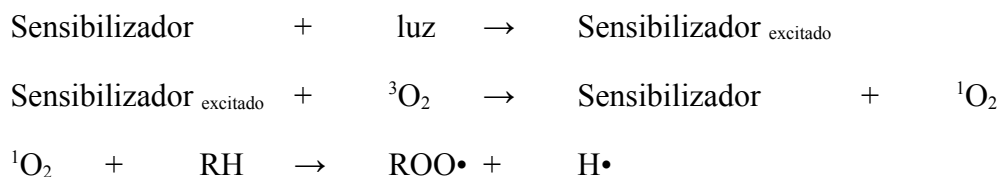


Figura 02 - Esquema representativo das fases do processo da fotoxidação de um ácido graxo insaturado (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005).

O oxigênio singlete também pode reagir diretamente com um carbono de uma dupla ligação, ocorrendo alteração na posição da dupla ligação e a produção de um hidroperóxido de configuração *trans*. Este mecanismo é conhecido como reação *ene* (ZAMBLIAZI, 1999).

1.2 Antioxidantes

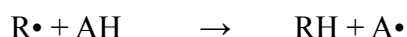
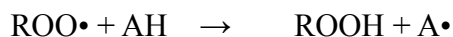
Antioxidantes são compostos que, quando presentes em baixas concentrações comparados a do substrato oxidável (ácidos graxos polinsaturados, proteínas, carboidratos ou DNA), podem retardar a oxidação de lipídios ou outras moléculas, atuando nas etapas de iniciação ou propagação das reações em cadeia do processo oxidativo (ZHENG e WANG, 2001; FENNEMA, 1993).

Na seleção de antioxidantes, algumas características são importantes, entre elas a eficácia em baixas concentrações, ausência de efeitos indesejáveis na cor, no odor, no sabor e em outras características do alimento. Devem ser observadas também, a compatibilidade com o alimento, o fácil emprego, a estabilidade do antioxidante nas condições de processamento e armazenamento e, a ausência de toxicidade do composto e seus produtos de oxidação, mesmo em doses muito maiores das que normalmente seriam ingeridas no alimento. Além disso, na escolha de um antioxidante deve-se considerar também outros fatores, incluindo legislação, custo e preferência do consumidor (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005; RAFECAS et al., 1998).

1.2.1 Classificação quanto ao mecanismo de ação

De acordo com o mecanismo de ação, os antioxidantes podem ser classificados em primários e secundários. Os antioxidantes primários atuam removendo ou inativando os radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação de oxidação, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia. Dessa forma o átomo

de hidrogênio ativo do antioxidante é abstraído pelos radicais livres com maior facilidade que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas. Assim formam-se espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte procedente do antioxidante. Este radical, estabilizado por ressonância, não tem a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas. A Figura 03 ilustra esse mecanismo (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005; MADHAVI e SALUNKHE, 1995).



Onde: “ROO•” e “R•” são radicais livres, “AH” antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo e “A•” um radical inerte.

Figura 03 – Representação esquemática da ação de um antioxidante em um radical livre (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005).

Os compostos que possuem atividade antioxidante primária incluem moléculas que na sua estrutura possuem um anel aromático substituído por grupamentos hidroxila. Quanto mais substituído for o anel aromático, maior será a atividade antioxidante. Entre os antioxidantes considerados primários usados em alimentos, destacam-se o butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), terc-butilhidroxiquinona (TBHQ), os galatos (propilgalato, octilgalato e dodecilgalato), carotenóides, flavonóides, ácidos fenólicos, tocoferóis e tocotrienóis (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005; MADHAVI e SALUNKHE, 1995).

A principal diferença entre os antioxidantes primários e secundários, consiste no fato de que os antioxidantes secundários não são capazes de converterem radicais livres para moléculas estáveis. Os antioxidantes secundários, também classificados como agentes preventivos, atuam como sinergistas dos antioxidantes primários. Os sinergistas são substâncias com pouca ou nenhuma atividade podendo aumentar a ação dos antioxidantes primários quando usados em combinação adequada. Eles podem agir através de diferentes mecanismos de ação (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005).

Alguns antioxidantes secundários agem como quelantes e/ou seqüestrantes através da complexação de metais. Esses agentes quelantes/seqüestrantes complexam íons metálicos, principalmente cobre e ferro, que são responsáveis por catalisar a oxidação lipídica. Esse

mecanismo ocorre através da ação de um par de elétrons não compartilhado na estrutura molecular da molécula seqüestrante. Entre os quelantes de metais, destacam-se os ácidos: cítrico, málico, succínico, tartárico, etilenodiaminotetracético (EDTA) e; os fostatos (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005; MADHAVI e SALUNKHE, 1995).

Os antioxidantes secundários podem agir também como removedores de oxigênio através de reações químicas estáveis, tornando as moléculas de oxigênio, indisponíveis para atuarem como propagadores da autoxidação. Além disso, podem atuar como agentes redutores, retardando o processo oxidativo. Os ácidos ascórbicos e eritórbicos, o eritorbato de sódio, o palmitato de ascorbila e os sulfitos são exemplos de agentes redutores e removedores de oxigênio (RAMALHO e JORGE, 2006; WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005).

Além dos mecanismos citados, os antioxidantes secundários podem prover hidrogênios para os antioxidantes primários; decompor hidroperóxidos para espécies não radicalares; desativar o oxigênio singlete, ou ainda, absorver a radiação ultravioleta (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005).

1.2.2 Classificação quanto a origem

De acordo com a origem, os antioxidantes podem ser classificados em sintéticos e naturais. Os antioxidantes sintéticos são utilizados para estabilizar óleos, gorduras e alimentos contendo altos teores de lipídios. Geralmente são compostos sintéticos derivados de estruturas fenólicas, um anel aromático substituído por grupamentos hidroxila (OH), contendo mais que um grupo OH ou metoxila. Estes agentes antioxidantes tendem a estabilizar os ácidos graxos em alimentos através da reação com radicais livres, quelando íons metálicos e interrompendo a fase de propagação da oxidação lipídica. Os antioxidantes fenólicos sintéticos são *p*-substituídos e, sua solubilidade é aumentada, em óleos e gorduras, através da substituição com grupos alquil (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005).

Existe uma grande quantidade de compostos sintéticos com ação antioxidante, porém somente alguns são incorporados em alimentos devido as restrições de uso e regulamentações das legislações de vários países. Essas restrições se devem a estudos de toxicidade e pesquisas que têm demonstrado uma relação entre o uso de certos antioxidantes sintéticos e o surgimento de efeitos mutagênicos e carcinogênicos (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005; BIRCH et al.,

2001). Entre os antioxidantes sintéticos amplamente empregados em alimentos, os mais utilizados são o butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), terc-butilhidroxiquinona (TBHQ) e o ácido cítrico, como sinergista (SHAHIDI e ZHONG, 2005).

Na Figura 04, pode-se observar as estruturas fenólicas sintéticas dos antioxidantes BHA, BHT, TBHQ e galatos.

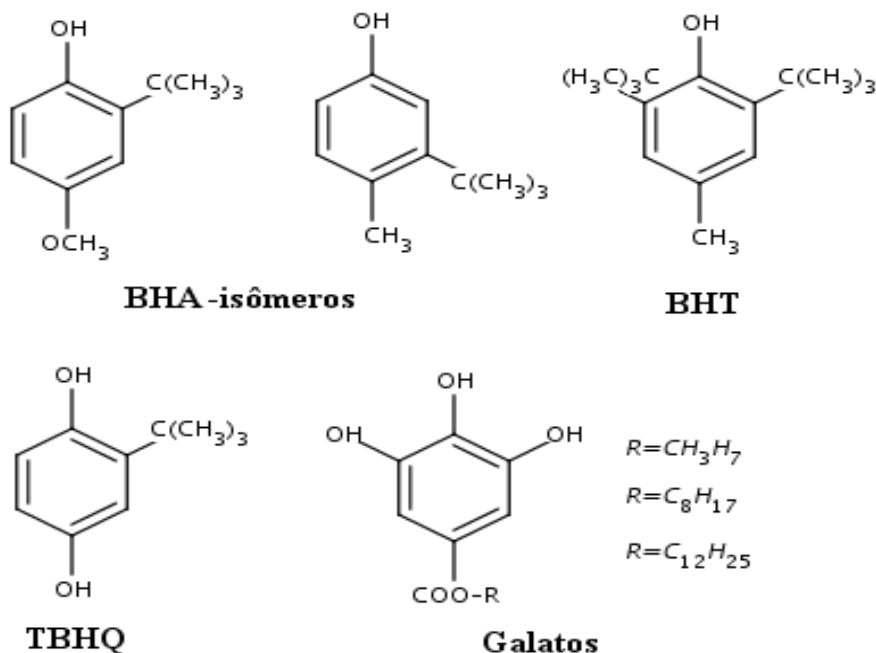
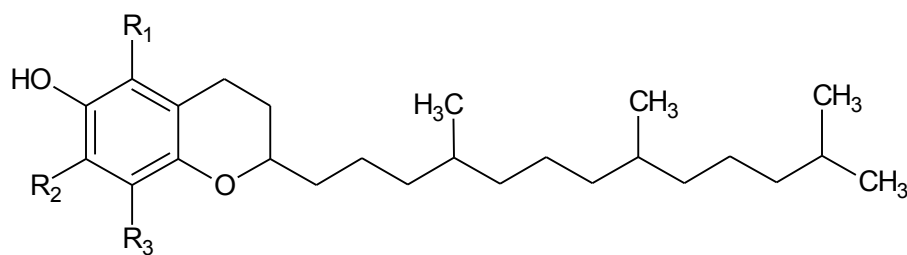


Figura 04 - Estrutura química dos antioxidantes sintéticos BHA, BHT, TBHQ e galatos (SHAHIDI e ZHONG, 2005).

A partir do início dos anos 80, o interesse em encontrar antioxidantes naturais para o emprego em produtos alimentícios ou para uso farmacêutico, aumentou consideravelmente, com o intuito de evitar problemas ocasionados pelo uso de alguns antioxidantes sintéticos de segurança questionável (ZHENG e WANG, 2001). Segundo Pokorny (1991), quando se compara antioxidantes sintéticos aos naturais, o uso destes têm algumas vantagens em relação aos primeiros pelo fato de serem considerados mais saudáveis, o que leva a uma melhor aceitação pelos consumidores. Entre os antioxidantes naturais mais utilizados industrialmente estão o ácido ascórbico e seus derivados, carotenóides, tocoferóis, tocotrienóis e compostos fenólicos de extratos de diversas fontes vegetais (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005).

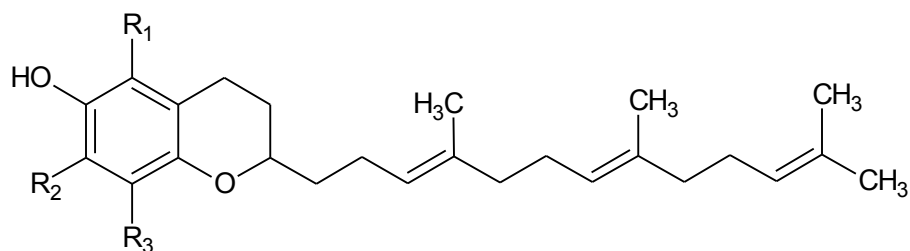
Segundo Wanasundara e Shahidi (2005), os tocoferóis e os tocotrienóis, também denominados como vitamina E, são comumente utilizados como antioxidantes na estabilização de óleos e gorduras. Eles possuem estruturas químicas derivadas do anel cromanol, substituídas por um grupamento hidroxila e por um, dois ou três grupos metílicos no anel fenólico. A principal diferença estrutural entre os tocoferóis e tocotrienóis, consiste no fato dos primeiros possuírem ligações do tipo saturadas e os segundos, ligações insaturadas, na cadeia terpênica lateral (POKORNÝ e PARKÁNYIOVÁ, 2005). A substituição dos grupamentos metílicos, origina quatro homólogos presentes em óleos vegetais, que são α -, β -, γ - e δ -tocoferóis e tocotrienóis. O isômero α - destaca-se por ser mais ativo biologicamente, e o isômero- γ por atuar como melhor antioxidante, estando presente, principalmente, em óleos ricos em ácido linolênico (AHMED, DAUN e PRZYBYLSKI, 2005; O'BRIEN, 2004; KOLAKOWSKA, 2003). O aumento da atividade antioxidante ocorre na ordem $\alpha > \beta > \gamma > \delta$, e é mais fácil de ser observado a baixas temperaturas (LAMBELET, SAUCY e LÖLIGER, 2001). As estruturas das moléculas de tocoferóis e tocotrienóis e suas possíveis substituições podem ser observadas na Figura 05.

Tocoferóis



R ₁	R ₂	R ₃	
CH ₃	CH ₃	CH ₃	α -tocoferol
CH ₃	H	CH ₃	β -tocoferol
H	CH ₃	CH ₃	γ -tocoferol
H	H	CH ₃	δ -tocoferol

Tocotrienóis



R ₁	R ₂	R ₃	
CH ₃	CH ₃	CH ₃	α-tocotrienol
CH ₃	H	CH ₃	β-tocotrienol
H	CH ₃	CH ₃	γ-tocotrienol
H	H	CH ₃	δ-tocotrienol

Figura 05 - Estruturas químicas dos tocoferóis e tocotrienóis (SHAHIDI e ZHONG, 2005).

Os tocoferóis são conhecidos como bons antioxidantes e são capazes de inibir a oxidação lipídica em alimentos pela estabilização dos radicais livres que influenciam as reações em cadeia (O'BRIEN, 2004). A atividade antioxidante é significativamente afetada pelos hidrogênios do grupo hidroxil e pela sua habilidade em formar radicais tocoferóis que são capazes de reagir entre si e formar dímeros e trímeros. Ao final, estes radicais são inativados e novas moléculas são geradas com atividade antioxidante menor comparada a dos tocoferóis iniciais (NOGALA-KALUCKA, 2003).

A inibição da produção de peróxidos e a eficiência dos tocoferóis homólogos dependem, entre diversos fatores, do sistema lipídico testado, da temperatura, luz, tipo de substrato, solvente utilizado, bem como da presença de sinergistas e de espécies químicas que possam agir como pró-oxidantes. Além disso, a atividade antioxidante de tocoferóis é dependente da concentração utilizada (NOGALA-KALUCKA et al., 2005; BRAMLEY et al., 2000). A RDC n° 23, de 15 de fevereiro de 2005, aprova o regulamento técnico que regulamenta o uso de aditivos alimentares,

estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos - óleos e gorduras e subcategoria - creme vegetal e margarinas. Essa resolução estabelece como limite máximo de concentração permitido pela legislação brasileira, a adição de 0,05 g/100g (500 ppm) de tocoferol, α -tocoferol e mistura de tocoferóis como antioxidantes em alimentos (BRASIL, 2005).

Os tocoferóis podem ser encontrados nos óleos vegetais polinsaturados na forma livre e no gérmen das sementes dos cereais, sendo que suas principais fontes são as frutas, verduras, cereais e os óleos vegetais, entre estes, o óleo de noz-pecã, no qual se pode encontrar de 88 a 420 mg/kg de tocoferóis totais. Os tocotrienóis são encontrados na camada de aleurona e subaleurona das sementes de cereais e no óleo de palma (YOSHIDA, NIKI e NOGUCHI, 2003; FIRESTONE, 1999).

Os compostos fenólicos de origem natural, presentes em extratos de diversas fontes vegetais, pertencem a uma classe de compostos que inclui uma grande diversidade de estruturas, simples e complexas, as quais possuem um anel aromático no qual um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila e/ou seus derivados funcionais tais como ésteres, metoxilas, glicosídeos entre outros (CARVALHO, GOSMANN e SCHENKEL, 2007; ZUANAZZI, 2007). A maior parte dos compostos fenólicos não é encontrada no estado livre na natureza, mas sob a forma de ésteres ou de heterosídeos (forma conjugada com açúcares). Eles são muito reativos quimicamente, sendo facilmente oxidáveis. Possuem propriedade de complexação de metais e por serem aromáticos, apresentam intensa absorção na região do ultravioleta (UV) (CARVALHO, GOSMANN e SCHENKEL, 2007).

A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades de óxido-redução, que desempenham um papel importante na absorção e neutralização de radicais livres, quelando o oxigênio triplete e singlete ou decompondo peróxidos (BRENNAN e PAGLIARINI, 2001; ZHENG e WANG, 2001; FENNEMA, 1993).

Na Tabela 01 encontram-se listadas algumas estruturas de compostos fenólicos encontrados na natureza, variando dos mais simples aos complexos, onde C_6 corresponde ao anel benzênico e C_n à cadeia substituinte com n átomos de carbono.

Tabela 01 - Classes de compostos fenólicos presentes em plantas.

Classes	Estrutura
Fenólicos simples, Benzoquinonas	C_6
Ácidos hidroxibenzóicos	C_6-C_1
Acetofenonas, Ácidos Fenilacéticos	C_6-C_2
Ácidos hidroxicinâmicos, Fenilpropanóides (cumarinas, isocumarinas, cromonas)	C_6-C_3
Naftoquinonas	C_6-C_4
Xantonas	$C_6-C_1-C_6$
Estilbenos, Antraquinonas	$C_6-C_2-C_6$
Flavonóides, Isoflavonóides	$C_6-C_3-C_6$
Lignananas, Neolignananas	$(C_6-C_3)_2$
Diflavonóides	$(C_6-C_3-C_6)_2$
Ligninas	$(C_6-C_3)_n$
Taninos condensados (proantocianidinas)	$(C_6-C_3-C_6)_n$

Fonte: Balasundram, Sundram e Samman (2006).

Entre os compostos fenólicos naturais com ampla distribuição no reino vegetal, estão os derivados dos ácidos benzóicos e de ácidos cinâmicos, cumarinas, flavonóides, e derivados de polimerização (taninos e ligninas). As demais classes de substâncias fenólicas naturais, abrangem compostos de distribuição mais restrita e menos abundante no reino vegetal (CARVALHO, GOSMANN e SCHENKEL, 2007).

Os ácidos fenólicos dividem-se em ácidos benzóicos e ácidos cinâmicos. Os ácidos benzóicos apresentam sete átomos de carbono em sua estrutura química (C_6-C_1). Entre os mais comuns estão os ácidos p-hidroxibenzóico, protocatequínico, vanílico, siríngico, salicílico, gálico e seu dímero de condensação, o ácido elágico (CARVALHO, GOSMANN e SCHENKEL, 2007; BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006). Além disso, os ácidos hidroxibenzóicos, especialmente o ácido gálico, fazem parte de estruturas complexas como os taninos hidrolisáveis (CLIFFORD e SCALBERT, 1999).

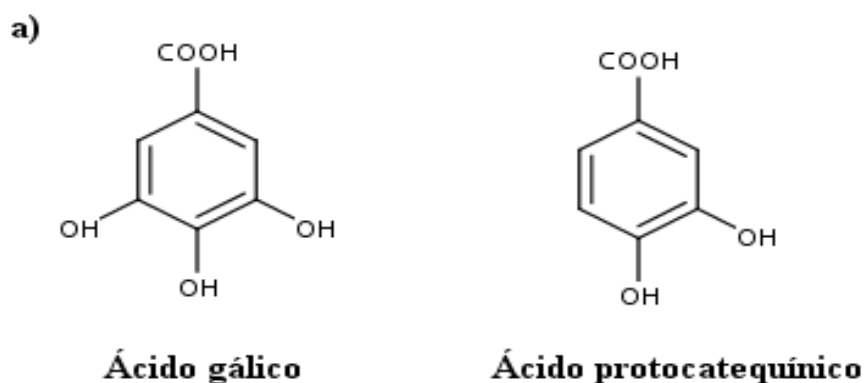
O conteúdo de ácidos hidroxibenzóicos em plantas comestíveis é geralmente muito baixo, com exceção de algumas frutas, repolho roxo e cebolas, que podem conter algumas dezenas de

miligramas por quilograma de peso fresco, sendo os chás e as nozes fontes importantes de ácido gálico (TOMAS-BARBERAN e CLIFFORD, 2000; SHAHIDI e NACZK, 1995). As nozes, entre elas, a noz-pecã, destacam-se por apresentar em torno de 78% de ácido gálico em sua composição fenólica, podendo ser encontrados também, ácidos elágico, p-hidroxibenzoico, protocatequínico, vanílico, e quantidades traços de ácido siríngico (VILLARREAL-LOZOYA, LOMBARDINI e CISNEROS-ZEVALLOS, 2007; SENTER, HORVAT e FORBUS, 1980).

Os ácidos cinâmicos possuem nove átomos de carbono (C_6-C_3) na sua estrutura. Entre eles estão o ácido p-cumárico, caféico, ferúlico e sináptico (CARVALHO, GOSMANN e SCHENKEL, 2007; BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; SOARES, 2002).

Os ácidos hidroxicinâmicos são mais comuns que os hidroxibenzoicos e raramente são encontrados na forma livre, exceto em alimentos processados. Seus ligantes são derivados glicosilados de ésteres do ácido quínico, chiquímico e tartárico. Esses ácidos fenólicos podem se ligar entre si ou com outros compostos dando origem ao ácido caféico, o qual, associado a um álcool cíclico, denominado ácido quínico, origina o ácido clorogênico, que é encontrado em vários tipos de frutas e no café (SHAHIDI e NACZK, 2004a; CLIFFORD, 2000). Na noz-pecã pode-se encontrar alguns traços de ácido p-cumárico (SENER, HORVAT e FORBUS, 1980).

Algumas estruturas de ácidos fenólicos de origem natural são apresentadas na Figura 06.



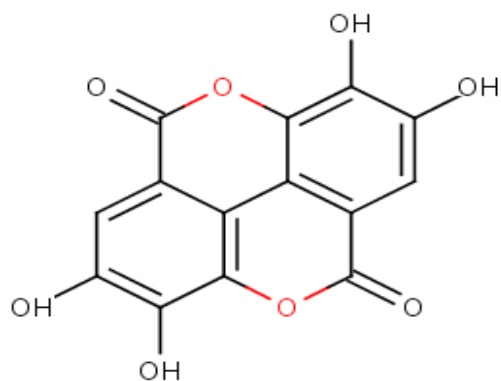
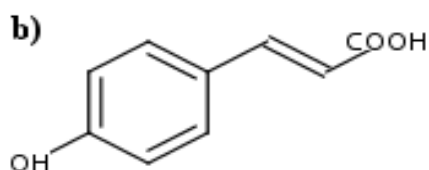
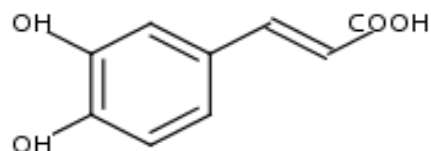
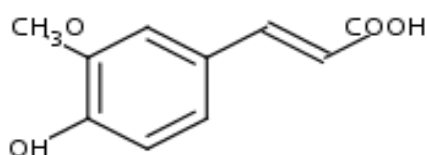
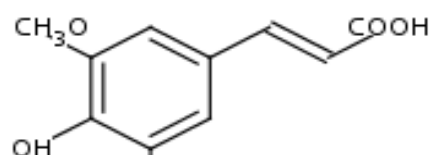
**Ácido Elágico****Ácido p-cumárico****Ácido caféico****Ácido ferúlico****Ácido sináptico**

Figura 06 - Exemplos de ácidos hidroxibenzoicos (a) e hidroxicinâmicos (b) (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

A relação da estrutura das moléculas de ácidos fenólicos e sua atividade antioxidante dependem do número e posições de grupos hidroxil em relação ao grupo funcional carboxila. De forma geral, a atividade antioxidante dos ácidos fenólicos se eleva com ao aumento do grau de hidroxilação. Ácidos hidroxicinâmicos exibem maior atividade antioxidante comparada com os

ácidos hidroxibenzóicos. Essa maior atividade, pode ser devida ao grupamento $\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$, que assegura uma maior habilidade em doar átomos de hidrogênio e estabilização de radicais que o grupo $-\text{COOH}$ nos ácidos hidroxibenzóicos (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; RICE-EVANS, MILLER e PAGANÇA, 1996).

As cumarinas são formadas através da ciclização da cadeia lateral do ácido o-cumárico. Estruturalmente são lactonas do ácido o-hidróxi-cinâmico (2H-1benzopiran-2-onas), sendo seu representante mais simples a cumarina (1,2-benzopirona). (CARVALHO, GOSMANN e SCHENKEL, 2007; KUSTER e ROCHA, 2007). A estrutura básica da cumarina pode ser observada na Figura 07.

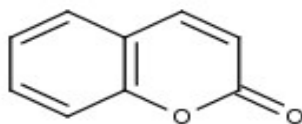


Figura 07 - Estrutura básica de uma cumarina (KUSTER e ROCHA, 2007).

Cumarinas contendo grupos di-hidroxilados em posição orto são poderosos inibidores da peroxidação lipídica, além de eliminarem o ânion radical superóxido e quelarem íons ferro. Essas propriedades as tornam substâncias de interesse como antioxidantes (KUSTER e ROCHA, 2007).

As moléculas de cumarinas encontram-se amplamente distribuídas no reino vegetal, principalmente em angiospermas, predominando as formas mais simples. Além disso, também podem ser encontradas em fungos e bactérias (KUSTER e ROCHA, 2007).

Os flavonóides constituem uma classe importante de polifenóis presentes em relativa abundância entre os metabólitos secundários de vegetais representando um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural. Os flavonóides apresentam-se freqüentemente oxigenados e um grande número ocorre conjugado com açúcares, constituindo um heterosídeo (ZUANAZZI, 2007).

Os flavonóides podem ser categorizados em seis classes (flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavonóis, flavanóis e antocianinas), compreendendo mais de cinco mil compostos, sendo os mais comuns os flavonóis, flavonas e seus glicosídeos (BRAVO, 1998 apud KRIS-

ETHERTON et al., 2002); sendo as variações nas substituições padrões do anel C e A, que resultam nas diferentes classes e compostos flavonóides dentro de cada classe, respectivamente. Eles são compostos de baixo peso molecular e a estrutura básica da molécula pode ser observada na Figura 08 (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

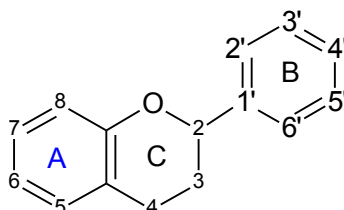


Figura 08 - Estrutura genérica de uma molécula flavonóide (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

As moléculas flavonóides são conhecidas por atuarem na captura e neutralização de espécies oxidantes como o ânion superóxido, atuando por sinergismo com outros antioxidantes como as vitaminas C e E. Alguns flavonóides são capazes de se ligar a íons metálicos, impedindo-os de atuarem como catalisadores na produção de radicais livres. Esta atividade é o resultado de um conjunto de propriedades, tais como atividade quelante de ferro, atividade seqüestrante de radicais livres, inibição de enzimas cicloxigenase lipoxigenase, NADPH-oxidase, xantina oxidase e fosfolipase, e estimulação de enzimas com atividade antioxidante como a catalase e a superóxido-dismutase. Dessa forma, os flavonóides são capazes de interferir nas reações de propagação e formação de radicais livres (TRUEBA e SANCHEZ, 2001).

A relação da estrutura da molécula flavonóide e sua atividade antioxidante é bastante complexa. Geralmente, ela varia de acordo com os recursos estruturais da molécula e as substituições nos anéis B e C. Essas moléculas podem ter sua capacidade antioxidante aumentada conforme aumenta o grau de hidroxilação no anel B (grupos catecol e pirogalol), quando possuem ligações duplas entre C-2 e C-3 combinadas com um grupo 3-OH no anel C, e ainda, quando ocorrem substituições de grupos -OH no anel B por grupos metoxila capazes de alterar o potencial redox, afetando a capacidade seqüestrante dos flavonóides (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

Outros compostos de grande interesse e importante papel na coloração de muitos frutos e vegetais, que também exerce atividade antioxidante, são as antocianinas, também conhecidas

como pigmentos antociânicos. Quimicamente as antocianinas são compostos polares, pertencentes à classe dos flavonóides, baseadas no esqueleto de carbono C6-C3-C6, cuja estrutura básica é a estrutura do cátion flavílium, como mostra a Figura 09 (JACKMAN e SMITH, 1992).

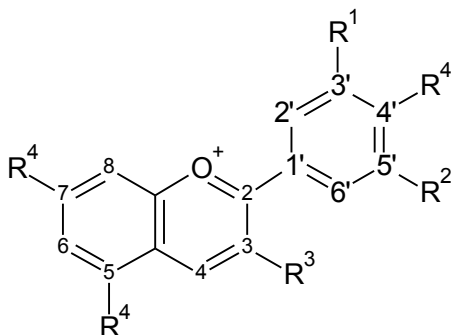


Figura 09 - Estrutura do cátion flavílium - R1, R2: H, OH ou OCH₃; R3: H ou glicosídeo; R4: OH ou glicosídeo (MAZZA e MINIATI, 1993).

O cátion flavilium é deficiente de elétrons e conseqüentemente altamente reativo, instável e susceptível a ataques por vários reagentes nucleofílicos, como água, peróxidos e dióxido de enxofre (VIGUERA e BRIDLE, 1999).

Na natureza as antocianinas ocorrem como glicosídios das antocianidinas (polihidroxi e polimetoxi derivados do cátion flavílium); os açúcares mais comumente ligados as antocianinas são glicose, galactose, ramanose e arabinose (MAZZA e MINIATI, 1993). A quase totalidade das antocianidinas são hidroxiladas nas posições 3, 5 e 7, e mais raramente, nas posições 3', 4' e 5' (Figura 05), devido a impedimentos estéricos (BROUILLARD, 1982). As antocianidinas mais encontradas em alimentos são: cianidina, malvidina, delphinidina, pelargonidina, petunidina e peonidina (TIMBERLAKE, 1980).

Nas antocianinas, uma ou mais destas hidroxilas está ligada a açúcares, aos quais, por sua vez, podem estar ligados a ácidos fenólicos como: caféico, ferúlico, tânico, cumárico e sináptico (BROUILLARD e DANGLES, 1993). Os diferentes açúcares ligados nas posições 3, 5 e 7 (Figura 05), assim como os ácidos a eles ligados produzem os diferentes tipos de antocianinas, isto é, a diferença entre as antocianinas está no número de grupamentos hidroxil na molécula, no grau de metilação destes grupamentos, na natureza e no número de açúcares ligados à molécula e

a posição destas ligações, como também na natureza e no número de compostos alifáticos e ácidos aromáticos ligados aos açúcares da molécula (MAZZA e MINIATI, 1993).

A coloração das antocianinas depende de vários fatores, sendo que a mesma antocianina poderá ter diferentes cores, dependendo do pH do meio, do número de hidroxilas e metoxilas ligados à molécula, como também da presença de copigmentos (MAZZA e BROUILLARD, 1987). A substituição no anel B da aglicona determina, em meio ácido, a cor das antocianinas monoaciladas. Um aumento na coloração vermelha requer um maior grau de metoxilação, enquanto que a coloração azul exige maior grau de hidroxilação (MAZZA e MINIATI, 1993).

Entre as diversas funções das antocianinas estão a atração de insetos e pássaros com o propósito de polinização das flores e atração de animais para a disseminação das sementes dos frutos (LEE e COLLINS, 2001; TIMBERLAKE e BRIDLE, 1982). No entanto, outras evidências indicam que a síntese de pigmentos em plantas é consequência de estresse endógeno ou senescência e da adaptação ecológica a mudanças ambientais (STINTZING e CARLE, 2004; FEILD, LEE e HOLBROOK, 2001). Acredita-se que as antocianinas protegem as plantas dos raios ultravioleta (MAZZA e MINIATI, 1993) e mascaram a clorofila presente nas organelas, protegendo os cloroplastos contra a claridade intensiva prevenindo a fotoinibição, auxiliando assim na proteção dos tecidos celulares e na recuperação dos nutrientes durante a senescência quando a clorofila é degradada (FEILD, LEE e HOLBROOK, 2001; LEE e COLLINS, 2001).

Os compostos flavonóides, incluindo suas diversas classes (flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavonóis, flavanóis e antocianinas), além de agirem como potentes antioxidantes em sistemas lipídicos onde são capazes de reduzir as modificações oxidativas de membranas por restrição das substâncias antioxidantes na bicamada lipídica (SOBRATTEE, et al., 2005), agem também proporcionando benefícios a saúde. Existe um número considerável de evidências *in vitro* (no exterior do organismo) e *ex vivo* (no exterior das células) indicando possíveis benefícios dos flavonóides na prevenção de doenças cardiovasculares, trombóticas e câncer (FRANKEL, 2007; RAUHA, 2000). Além disso, algumas propriedades, tais como ação antiinflamatória, antialérgica, antiulcerogênica e antiviral são atribuídas a essa classe de fenólicos de ocorrência natural (ZUANAZZI, 2007).

Esses benefícios à saúde são proporcionados pelo consumo regular de frutas e vegetais ricos em flavonóides, e pode depender em grande parte da biodisponibilidade desses compostos

no organismo, após serem consumidos. O mecanismo de proteção exercido pelos metabólitos dos flavonóides *in vivo* e sua intervenção nos processos patológicos, ainda não está bem estabelecido, sendo necessárias pesquisas que utilizem biomarcadores *in vivo* com metabólitos de flavonóides nas mesmas concentrações encontradas no sangue (FRANKEL, 2007).

Entre os compostos antioxidantes com características fenólicas de ampla distribuição no reino vegetal, estão os derivados de polimerização, destacando-se os taninos e as ligninas (SOARES, 2002).

Os taninos possuem alto peso molecular, e conferem a sensação de adstringência de muitos frutos e vegetais de forma geral. Baseado em sua estrutura, os taninos podem ser classificados em hidrolisáveis e taninos condensados. Os primeiros contêm um núcleo central de glicose ou um álcool poliídrico, esterificado com ácido gálico, sendo subdivididos em galotaninos e elagitaninos (Figura 10). São facilmente hidrolisáveis com ácidos, bases ou enzimas (MELLO e SANTOS, 2007).

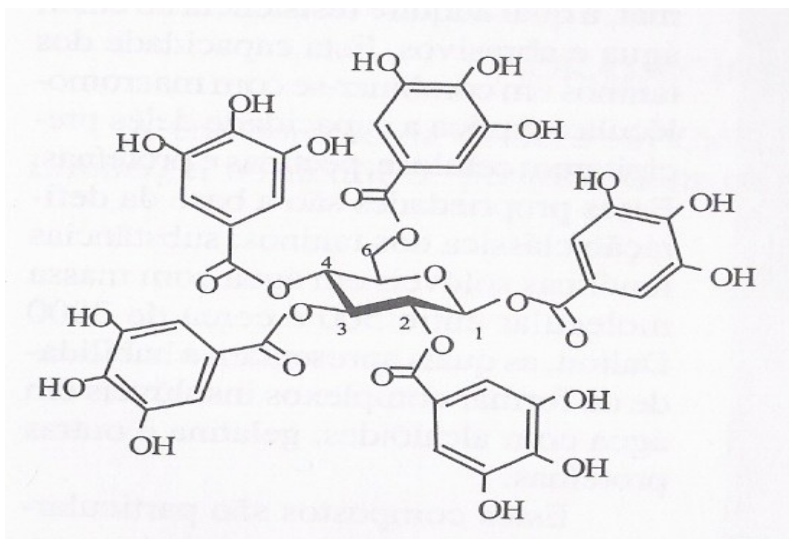


Figura 10 - Exemplo de estrutura química de um tanino hidrolizável - β 1,2,3,4,6-pentagalloyl-D-glicose (MELLO e SANTOS, 2007).

Os taninos condensados são polímeros de catequina e/ou leucoantocianidina, não sendo hidrolisáveis com facilidade por tratamento ácido (SOARES, 2002). Essas moléculas são oligômeros e polímeros formados pela policondensação de duas ou mais unidades flavan-3-ol e flavan-3,4-diol. Essa classe de taninos também é denominada como proantocianidina, devido ao

fato de os taninos condensados produzirem pigmentos avermelhados da classe das antocianidinas, tais como a cianidina e delphinidina, após degradação com ácido mineral à quente (Figura 11) (MELLO e SANTOS, 2007).

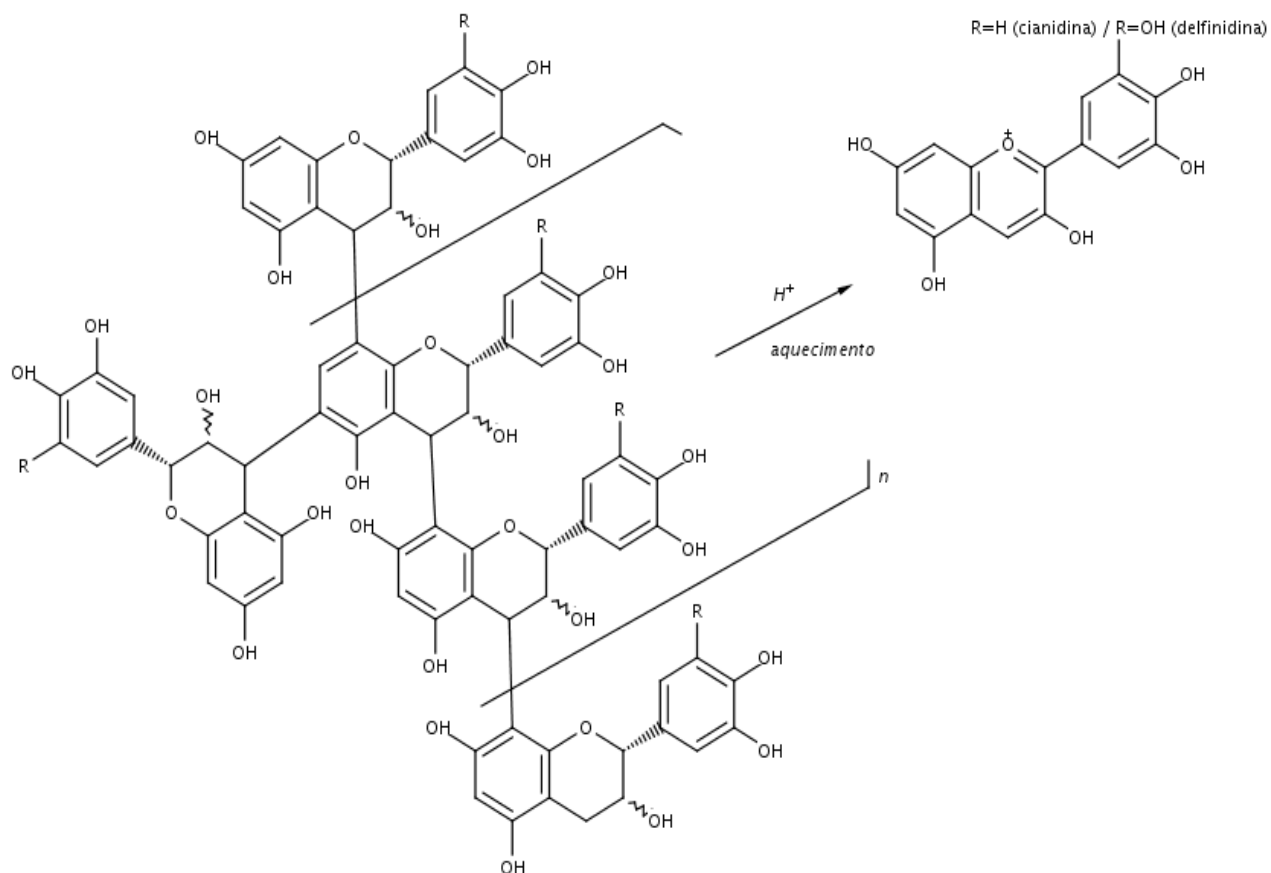


Figura 11 - Estrutura química geral de um tanino condensado / proantocianidina sofrendo catálise ácida originando seus produtos de degradação (MELLO e SANTOS, 2007).

Os taninos possuem três características gerais que são comuns em maior ou menor grau aos dois grupos de taninos, condensados e hidrolisáveis. Eles são capazes de complexar com íons metálicos, entre eles o ferro, manganês, vanádio, cobre, alumínio e cálcio, e exercer atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres. Além disso, possuem a habilidade de complexar com outras moléculas incluindo macromoléculas tais como proteínas e polissacarídeos (MELLO e SANTOS, 2007).

Os taninos hidrolisáveis ocorrem em plantas dicotiledôneas herbáceas e lenhosas, porém dentro de limites taxonômicos bem definidos. Já os taninos condensados em geral estão amplamente distribuídos em plantas lenhosas (MELLO e SANTOS, 2007). A noz-pecã possui em torno de 0,7 a 1,7 % de taninos condensados em sua constituição, sendo que na casca existem cerca de 18 vezes mais substâncias tânicas, responsáveis pelas características organolépticas adstringentes mais pronunciadas (VILLARREAL-LOZOYA, LOMBARDINI e CISNEROS-ZEVALLOS, 2007; POLLES, HANNY e HARVEY, 1981).

As ligninas, outros compostos derivados de polimerização, são substâncias que se depositam nas paredes das células vegetais, conferindo a esta notável rigidez e resistência mecânica. Elas são macromoléculas, polímeros de unidades básicas $(C_6-C_3)_n$, abrangendo, usualmente, muitas unidades fenilpropânicas. Sua hidrólise alcalina libera uma grande variedade de derivados dos ácidos benzóico e cinâmico. Subdividem-se em lignanas, neolignanas, alolignanas, norlignanas, oligolignóides e heterolignóides de acordo com a complexidade de cada estrutura química (FILHO, 2007; SOARES, 2002).

Entre as ligninas, as neolignanas destacam-se por possuírem atividade antioxidante conhecida. Seu representante utilizado amplamente, como antioxidante em alimentos, é o ácido nor-di-hidroguaiarético (NDGA) (FILHO, 2007).

Além dos antioxidantes sintéticos e os de origem natural no reino vegetal, existem ainda os antioxidantes biológicos que compõem várias enzimas, como glucose oxidase, superóxido dismutase, catalases, peroxidase e metaloproteínas, constituindo os chamados mecanismos endógenos de defesa removendo oxigênio ou compostos altamente reativos (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005).

1.3 Perspectivas para o uso de antioxidantes naturais

Os antioxidantes extraídos de frutas, vegetais e especiarias têm recebido atenção especial para o provável uso no prolongamento da vida útil de alimentos prevenindo a peroxidação lipídica a fim de proteger dos danos causados pela oxidação (MOURE et al., 2001). Além disso, a indústria de alimentos processados gera uma quantidade substancial de subprodutos ricos em compostos fenólicos, que podem vir a constituir uma fonte de antioxidantes naturais. Alguns destes subprodutos com propriedades antioxidantes têm sido objeto de investigações provendo

fontes efetivas de compostos fenólicos capazes de agir no processo oxidativo (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

A atividade antioxidante das substâncias fenólicas presentes em subprodutos tem sido avaliada freqüentemente em pesquisas realizadas com alimentos ricos em ácidos graxos insaturados, suscetíveis ao processo de oxidação. Entre os alimentos ricos em lipídios, os óleos vegetais têm sido muito utilizados nas pesquisas, em ensaios em que a estabilidade oxidativa dos mesmos é testada após a adição de extratos de substâncias naturais, confrontando com antioxidantes sintéticos de capacidade antioxidante conhecida (MOURE et al., 2001). Quando testado com óleos vegetais, óleo de peixe, produtos cárneos, extratos ricos em compostos fenólicos têm demonstrado atividade antioxidante comparável e até mesmo superior a dos antioxidantes sintéticos (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

Iqbal e Bhangar (2007) realizaram estudos do emprego de extratos de alho em óleo de girassol durante armazenamento em que os óleos foram submetidos à oxidação acelerada. Os extratos foram adicionados nas concentrações de 250, 500 e 1000 ppm, utilizando como padrões 200 ppm de BHA e BHT. Os extratos de alho demonstraram uma potente atividade antioxidante na estabilização do óleo de girassol.

Suja et al., (2004) testaram a eficácia de extratos preparados a partir da torta de gergelim na proteção de óleos vegetais. A atividade antioxidante dos extratos foi testada nas concentrações de 5, 10, 50 e 100 ppm nos óleos de soja, girassol e cártamo. Os índices de peróxido, dienos e p-anisidina foram monitorados durante armazenamento a 60°C utilizando 200 ppm de BHT como controle. O extrato da torta de gergelim demonstrou efetiva eficácia na proteção de óleos vegetais mesmo em baixas concentrações podendo ser usado como substituto de antioxidantes sintéticos.

Bera, Lahiri e Nag (2006) incorporaram extratos de *Carum copticum* no óleo de linhaça contendo ácidos graxos essenciais com o objetivo de prevenir a oxidação do mesmo. Os extratos adicionados proporcionaram uma melhora na estabilidade térmica do óleo constituindo-se uma fonte alternativa de antioxidante natural para o óleo de semente de linhaça.

Estudo da estabilização do óleo de palma utilizando folhas de *Ficus exasperata* no local de processamento proporcionou melhoras significativas mantendo as qualidades do óleo,

provavelmente devido à presença de compostos fenólicos, terpenóides e outros compostos presentes nas folhas de *Ficus exasperata* (UMERIE, OGBUAGU e OGBUAGU, 2004).

1.4 Noz-pecã

1.4.1 Características botânicas e produção

A noqueira-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] pertence à família Juglandaceae e, pode atingir grande porte, superando 40 metros de altura, 40 metros de diâmetro de copa e 2 metros de circunferência de tronco. A planta é monóica, com flores masculinas e femininas separadas e dióicas. O fruto é uma drupa, agrupando-se em cachos com normalmente três a sete unidades, com epicarpo que se separa do fruto na maturação, aproveitando-se aproximadamente 40 a 60% do fruto (BRISON, 1974 apud ORTIZ, 2000). O tamanho das nozes varia bastante de acordo com a cultivar, sendo necessárias de 60 a 160 nozes para atingir o peso de 1kg. A longevidade dessa planta pode superar 200 anos (INC, 2008). Abaixo a ilustração de uma noqueira e nozes prontas para a colheita (Figura 12).



Figura 12 - Noqueira / Noz-pecã.

A noz-pecã é nativa da América do Norte e tem sido reportada na história da América como significativo suplemento alimentar na dieta indígena desde 1700. Com a exploração e colonização da América, a noz-pecã foi extensivamente utilizada como meio de comércio entre os índios e caçadores, que exploravam ao longo dos rios, espalhando junto com eles as pecãs.

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]

Geograficamente as pecãs nativas tendem a crescer próximas aos rios navegáveis e centro sul dos Estados Unidos (SWINK, 1996).

Com o passar dos anos e sua maior popularidade, a noz-pecã, teve seu cultivo para produção comercial disseminado em diversos países como a Austrália, África do Sul e alguns países da América do Sul (SHAHIDI e MIRALIAKBARI, 2005). Atualmente, os Estados Unidos detêm mais de 80% da produção mundial de noz-pecã. Outros países produtores incluem México, Austrália, Israel, Argentina e Brasil (VENKATACHALAM, 2004; WAKELING et al., 2001).

Nos Estados Unidos existem mais de mil variedades de noz-pecã, sendo que cerca de 75% da produção provém de cultivares melhoradas através de enxertia ou seleção de sementes. O melhoramento genético das variedades de noz-pecã iniciou no ano de 1880 e, no ano de 1990, cultivares resultantes de melhoramento como Stuart (21,8%), Western Schley (14,5%), Desirable (10,9%), Wichita (10,2%) e Schley (5,4%) já somavam juntas mais de 60% do total de noz-pecã produzida nos Estados Unidos (VENKATACHALAM, 2004).

No Brasil, a noqueira-pecã foi introduzida pelos primeiros imigrantes norte-americanos, que estabeleceram núcleos em Santa Bárbara do Oeste e Americana no Estado de São Paulo. Atualmente, o estado do Rio Grande do Sul é o maior produtor de noz-pecã do país, seguido pelos estados do Paraná e Santa Catarina (ORTIZ, 2000).

De acordo com dados do Ministério da Agricultura, a lavoura permanente de nozes no Brasil produzia até o ano de 2003, cerca de 1.022 kg/há, totalizando aproximadamente duas mil toneladas de nozes ao ano. Muitos pomares que se encontravam em situação de abandono vêm sendo recuperados, outros expandidos e alguns implantados. Além de muitos pomares que superam vinte mil árvores, existem regiões nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná onde existe um grande número de pequenas propriedades que oferecem quantidades significativas de nozes para o mercado (ORTIZ, 2000).

1.4.2 Beneficiamento e aplicações

A colheita e o beneficiamento da noz-pecã são processos relativamente simples. Após a colheita das nozes, que ocorre com a abertura do epicarpo e a queda do fruto, as mesmas são colocadas em sacos e transportadas para a indústria beneficiadora. Na indústria, as nozes são submetidas a determinadas etapas de processamento. A primeira etapa constitui-se por uma

lavagem inicial com a utilização de água fria, que remove solo, matéria orgânica e impurezas e é seguida pela primeira separação, na qual as nozes passam por uma peneira e são separadas em diferentes tamanhos ainda inteiras. Na segunda lavagem é utilizada água aquecida a uma temperatura de 80°C durante cinco minutos com o objetivo de inativação de enzimas e eliminação de microrganismos. Terminada toda a etapa inicial de limpeza, ocorre o descascamento, na qual as cascas são quebradas e separadas das sementes. Simultaneamente é realizada a segunda separação, onde as nozes descascadas são classificadas em diferentes tamanhos através de peneiras. Na seqüência é realizada a etapa de secagem, na qual as nozes são submetidas à temperatura máxima de 40°C para a remoção da umidade das sementes. A umidade final deve atingir o valor máximo de 4%. Ao final do processo de secagem, as nozes são submetidas à terceira classificação. Nesta etapa, as nozes passam por esteiras e são selecionadas manualmente por tamanho, além disso, são eliminadas as sementes que não correspondam aos padrões de qualidade. Finalmente são embaladas acondicionadas em potes de polipropileno com capacidade para 100 g ou a vácuo, em filmes de nylon-polietileno com capacidade de 1 kg (ORO, 2007).

Após a quebra da noz, as cascas são reduzidas de tamanho, colocadas em embalagens plásticas de 100g e comercializadas na forma de chá.

A torta, resultante da prensagem da noz para a obtenção do óleo extra-virgem da noz-pecã, pode ser embalada em potes de polipropileno ou a vácuo, em filmes de nylon-polietileno com capacidades variadas. Ela é comercializada com a finalidade de uso em produtos de padarias e confeitarias.

A boa aceitação da noz-pecã no mercado consumidor se deve ao seu sabor e aroma agradável e a sua crocância. Além disso, refeições ricas em noz-pecã substituem parcialmente a farinha de trigo, além de aprimorar e finalizar produtos industrializados. Ela é utilizada em uma grande variedade de produtos alimentícios como saladas, sobremesas e como *snack*, podendo ser consumida crua, tostada, salgada ou revestida com açúcar ou mel. São comumente empregadas em produtos de padaria, confeitaria, na decoração de *cookies*, bolos, doces, tortas e possuem seu uso difundido nas indústrias lácteas adicionadas em sorvetes (SWINK, 1996).

O óleo de noz-pecã é comestível, e apesar do consumo pouco difundido, possui um mercado consumidor promissor, principalmente na Europa, devido às suas qualidades nutricionais e características sensoriais de óleo *gourmet*. A obtenção do óleo resulta na produção

da torta, que pode ser aproveitada para utilização em panificação e confeitaria e constitui uma fonte de nutrientes como proteínas e lipídios (ORO, 2007; VENKATACHALAM, 2004).

Além de ser amplamente usada na forma in natura e possuir um mercado promissor para o emprego do óleo e da torta, produto resultante da prensagem da noz, o processamento da noz-pecã resulta na obtenção de um volume relativamente elevado de casca (40 a 50%), subproduto industrial de cor avermelhada (WORLEY, 1994). A casca da noz-pecã pode constituir uma fonte alternativa de compostos capazes de agir como antioxidantes (VILLARREAL-LOZOYA, LOMBARDINI e CISNEROS-ZEVALLOS, 2007). Essa casca é tradicionalmente utilizada no preparo de chás pela população do sul do Brasil, que atribui ao mesmo, propriedades benéficas para a saúde .

1.4.3 Composição nutricional e fitoquímica

É conhecido que fatores genéticos, origem, condições ambientais, composição do solo, estágio de maturação e métodos de cultivo influenciam fortemente na composição nutricional das nozes. Dessa forma, os cultivos em diferentes regiões e hemisférios podem afetar significativamente a composição nutricional e componentes fitoquímicos presentes na noz-pecã (WALKELING et al., 2001; LAVEDRINE et al., 2000).

A noz-pecã é caracterizada pelo alto conteúdo de óleo (entre 65 e 75%) e matéria seca. A composição nutricional básica da noz-pecã produzida no sul do Brasil, apresenta cerca de 7,8 % de carboidratos, 9,9% de proteínas, 3,7% de umidade, e 7,8% de fibras totais, fornecendo uma média de 726,7 kcal/g. Além disso, apresenta um conteúdo médio de 1,4% de cinzas ou minerais totais, sendo considerada fonte de minerais tais como manganês, cobre, magnésio, fósforo e zinco (ORO et al., 2008; VONDERHEIDE et al., 2002).

Na composição lipídica da noz-pecã, os ácidos graxos predominantes são o oléico e o linoléico, representando cerca de 62,5 e 27,5% respectivamente no seu conteúdo total de ácidos graxos. São encontradas ainda, em concentrações menores, os ácidos graxos palmítico (5,65%), esteárico (2,84%) e gadoléico (0,24%) (ORO et al., 2008).

O óleo da noz-pecã também é rico em esteróis vegetais, conhecidos como fitoesteróis, contendo aproximadamente entre 1000 a 2900 mg/kg de esteróis totais em sua composição. Entre os fitosteróis presentes, destacam-se o β -sitosterol, o qual se encontra presente numa faixa de

81 a 93% no óleo da noz-pecã. Também são encontrados, em teores reduzidos, o campesterol (3,5 a 4,5%) e o estigmasterol (1 a 2 %) (FIRESTONE, 1999).

Encontram-se presentes também, na noz-pecã, substâncias antioxidantes naturais como os tocoferóis e compostos fenólicos (KAMAL-ELDIN, 2005; SHAHIDI e MIRALIAKBARI, 2005; KRIS-ETHERTON et al., 1999). O óleo de noz-pecã possui cerca de 88 a 420 mg/kg de tocoferóis totais. Entre os tocoferóis encontrados no óleo da noz-pecã, o α -tocoferol (50 - 370 mg/kg), o γ -tocoferol (20 - 125 mg/kg) e o δ -tocoferol (0 - 40 mg/kg), destacam-se por apresentarem as maiores concentrações (FIRESTONE, 1999).

Os compostos fenólicos presentes na noz-pecã, tais como os taninos e ácidos fenólicos são responsáveis por características como a cor e o sabor adstringente característicos da noz. Além disso, apresentam atividade antioxidante e podem inibir a ação de enzimas, como as lipoxigenases, responsáveis por alterações oxidativas (SHAHIDI e NACZK, 2004a).

A casca e a torta da noz-pecã apresentam quantidades significativas de compostos fenólicos totais (448 e 76 mg/g de equivalentes de ácido clorogênico respectivamente) com ação antioxidante. Sabe-se que a noz-pecã, apresenta em torno de 78% de ácido gálico em sua composição fenólica, podendo ser encontrados também, ácidos elágico, p-hidroxibenzoico, protocatequínico, vanílico, p-cumárico e quantidades traços de ácido siríngico (VILLARREAL-LOZOYA, LOMBARDINI e CISNEROS-ZEVALLOS, 2007; SENTER, HORVAT e FORBUS, 1980). Além disso, a casca e a torta da noz-pecã apresentam cerca de 634 e 34 mg/g de equivalentes de catequina em taninos condensados, respectivamente. Esses compostos fenólicos totais presentes na casca e torta da noz-pecã, exercem uma atividade antioxidante média de 487 e 97 mg/g de equivalentes em Trolox respectivamente (VILLARREAL-LOZOYA, LOMBARDINI e CISNEROS-ZEVALLOS, 2007).

1.5 Análise de compostos fenólicos

1.5.1 Extração de compostos bioativos em vegetais

Os métodos tradicionalmente utilizados para a extração dos compostos bioativos em vegetais envolvem a extração com solventes orgânicos. Não existe sistema de extração com solventes que seja satisfatório para o isolamento de todas ou de uma classe específica de antioxidantes naturais em alimentos, uma vez que a natureza química e a quantidade destes

compostos é muito variada. Além disso, existe a possibilidade de interação dos compostos antioxidantes com carboidratos, proteínas e outros componentes (SHAHIDI e NACZK, 1995).

Para a identificação e isolamento de compostos bioativos em fontes naturais (como frutas, sementes e especiarias), muitas vezes faz-se necessária a realização da extração com solventes de polaridades diferentes. Estudos comparativos para a seleção do solvente ótimo são necessários, uma vez que a atividade dessas substâncias depende de que compostos polifenólicos estejam presentes e que exista uma atividade antioxidante máxima exigida para cada substrato. Várias pesquisas enfocam essas extrações com o objetivo de comparar seus resultados e encontrar a melhor alternativa para a sua aplicação em alimentos (ANDREO e JORGE, 2006; MOURE et al., 2001).

O tempo de extração também afeta consideravelmente a recuperação dos polifenóis, podendo variar de 1 minuto a 24 horas. No entanto, longos períodos de extração aumentam a possibilidade de oxidação dos fenólicos exigindo que agentes redutores sejam adicionados ao solvente do sistema (SHAHIDI e NACZK, 1995).

Além da natureza química dos diferentes compostos presentes na amostra, solvente utilizado, e tempo de extração, a temperatura é outra variável importante durante o processo extrativo e de desidratação, pois ela pode afetar significativamente a estabilidade dos compostos polifenólicos. A decomposição térmica constitui-se na maior causa da redução do conteúdo de fenólicos, pois estes podem reagir com outros componentes impedindo a extração adequada (MOURE et al., 2001).

Por essas razões, nenhum método de extração é totalmente eficiente para extrair todos os fenólicos ou uma classe específica de compostos fenólicos em alimentos. Normalmente, são necessários procedimentos adicionais de extração a fim de purificar e remover fenólicos indesejáveis ou substâncias não fenólicas (SHAHIDI e NACZK, 1995).

1.5.2 Análise fitoquímica

Vários métodos para análise de compostos fenólicos já foram desenvolvidos e um grande número de revisões sobre a análise de polifenóis publicados. Os resultados da análise de compostos fenólicos são influenciados pela estrutura química do composto, método de extração empregado, tamanho das partículas da amostra e tempo e condições de armazenamento, bem

como pelo método utilizado para análise, seleção de padrões e presença de substâncias interferentes, como gorduras, terpenos e clorofilas. Os métodos Folin-Denis e Folin-Ciocalteu são exemplos de métodos utilizados para a determinação de fenólicos totais (BEAL, 2006; SALUNKHE, CHAVAN e KADAM, 1989).

Os métodos tradicionais para a determinação de fenólicos totais atualmente em uso, são ensaios colorimétricos com reagentes de cor como Folin-Ciocalteu, originalmente introduzido para determinar taninos em vinhos. Esse método tem sido amplamente aceito e vem sendo aplicado na pesquisa de fenólicos totais em materiais de plantas e alimentos. Para realizar o cálculo do conteúdo de fenólicos totais presentes na amostra são utilizadas curvas de calibração com diferentes equivalentes químicos. Os resultados de fenólicos totais são expressos em termos de equivalentes molares do fenólico ocorrente mais comum, como o ácido gálico, a (+)-catequina, o ácido tânico, e em alguns casos com menor frequência, também se usa o ácido ferúlico. O ácido gálico (3,4,5-trihidroxibenzóico) tem sido utilizado como equivalente químico na determinação de fenólicos totais de forma universal em ensaios de várias frutas e vegetais, ervas, vinhos e extratos de plantas (KYOUN CHUN e KIM, 2004).

O método da Vanilina tem sido utilizado com bastante frequência por vários grupos de pesquisadores para a determinação de taninos condensados ou proantocianidinas em frutas. Este ensaio é específico para moléculas flavan-3-ol, dihidrochalconas e proantocianidinas, que possuem uma ligação simples na posição 2, 3 e grupos livres na posição meta-hidroxi no anel B. O padrão equivalente normalmente utilizado no teste da vanilina tem sido a catequina (SHAHIDI e NACZK, 2004b; PRICE, VANSCAYOC e BUTLER, 1978). O ensaio de vanilina em metanol é mais sensível para taninos flavan-3-ol poliméricos que aos monoméricos. Devido a sua simplicidade, sensibilidade e especificidade, ele é geralmente reconhecido como de grande utilidade na detecção e quantificação de taninos condensados em materiais de plantas. O método da vanilina pode ser usado para quantificar taninos condensados na faixa de 5 a 500 µg com precisão e exatidão maior que 1 µg quando a concentração ótima de reagentes e solventes é selecionada. O uso de um branco apropriado no ensaio, elimina a interferência de moléculas que possam vir superestimar a concentração de taninos, como as antocianinas que absorvem a luz numa faixa de absorvância semelhante às moléculas de interesse na análise. Como pode ser observado na Figura 13, o método da vanilina é baseado na condensação do reagente de vanilina

com proantocianidinas em soluções acidificadas. A vanilina protonada, um radical eletrofílico fraco, reage com o anel flavonóide na posição 6 ou 8. O produto intermediário desta reação torna-se levemente rosa passando para um tom vermelho formando o produto final da reação (SHAHIDI e NACZK, 2004b; BROADHURST e JONES, 1978).

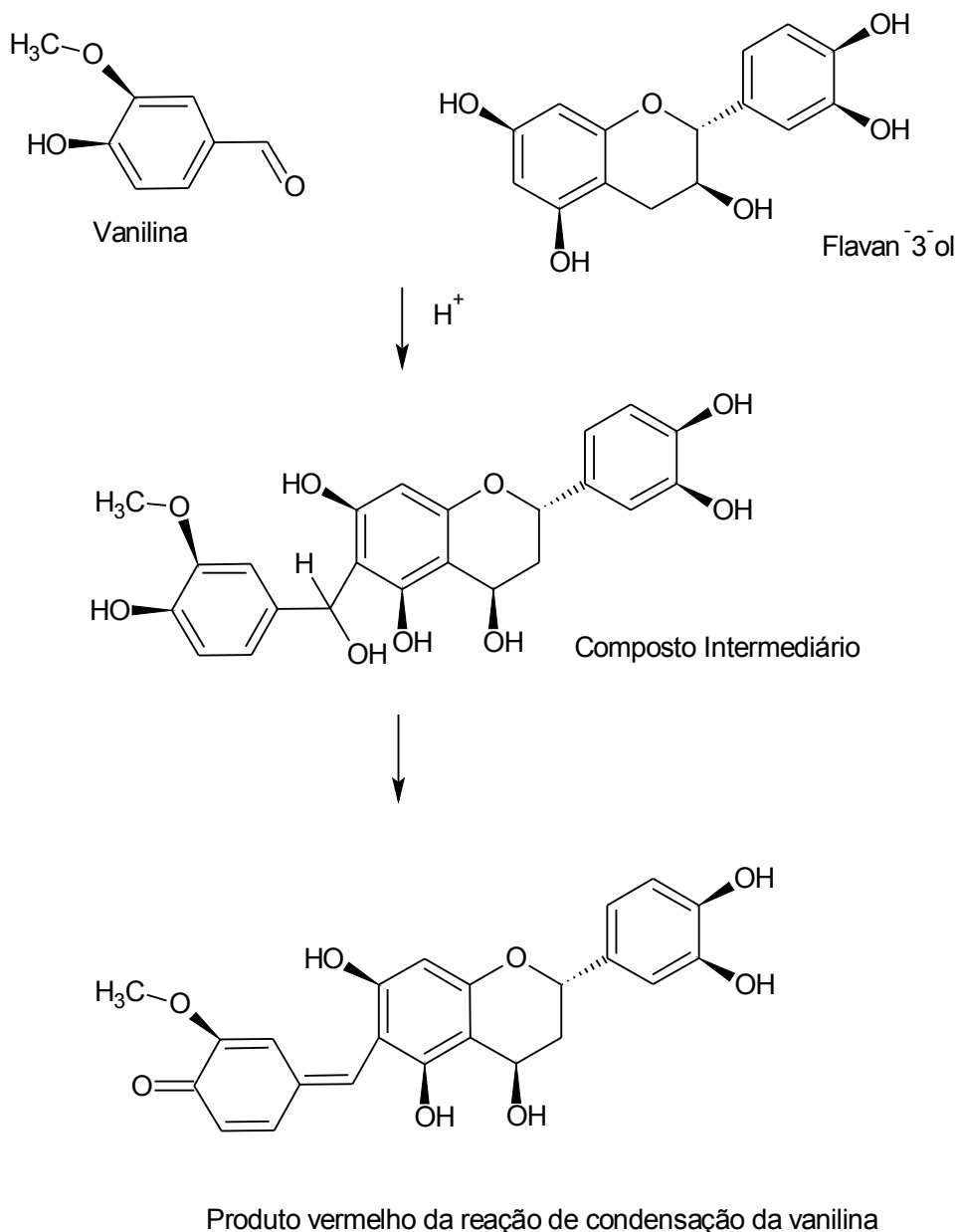


Figura 13 - Representação esquemática de reações de condensação da vanilina com leucoantocianidina (SHAHIDI e NACZK, 2004b).

1.5.3 Avaliação da atividade antioxidante

Evidências epidemiológicas do papel de antioxidantes na neutralização de radicais livres em alimentos ricos em ácidos graxos insaturados, como também na prevenção de certas doenças relacionadas a oxidação de membranas biológicas, têm estimulado o desenvolvimento de ensaios para determinar a atividade antioxidante. Vários métodos têm sido desenvolvidos, nos quais a atividade antioxidante é avaliada através de diversas formas, seja pelo seqüestro de radicais peroxil (ORAC - Capacidade de absorver radicais oxigênio, TRAP - Método de seqüestro total de radicais peroxil), poder redutor de metais (FRAP - poder redutor /antioxidante férrico, CUPRAC - capacidade antioxidante/ redutora cúprica), seqüestro do radical hidroxil (ensaio de deoxirribose), quantificação de produtos formados durante a peroxidação lipídica (TBARS - Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, oxidação do LDL) e seqüestro de radicais orgânicos (ABTS - 2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil) em solventes como o metanol, a temperatura ambiente (ARUOMA, 2003; GORDON, 2001; FRANKEL e MEYER, 2000; SÁNCHEZ-MORENO, LARRAURI e SAURA-CALIXTO, 1998).

A metodologia ORAC é baseada no seqüestro do radical peroxil, gerado pelo processo oxidativo no corpo humano. Neste ensaio o radical peroxil é gerado pela molécula orgânica 2,2'-azobi(2-aminodinopropano) dihidroclorido (AAPH) e ataca a molécula fluorescente 3,6'-dihidroxi-espiro (isobenzofurano-1 (3H), 9'(9H)-xanten)-3-ona, gerando um decréscimo na emissão da fluorescência, que é monitorada. A área na curva é mensurada e interpolada para uma curva padrão e os resultados expressos em TEAC (capacidade antioxidante equivalente em Trolox). A molécula de Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil croman-2-ácido carboxílico) é um antioxidante sintético derivado do α -tocoferol, com estrutura similar a vitamina E (PÉREZ-JIMÉNEZ e SAURA-CALIXTO, 2006; MADHAVI e SALUNKHE, 1995).

O ensaio de FRAP baseia-se na habilidade de redução do ferro e não no seqüestro de radicais livres, como no caso das metodologias DPPH e ABTS. Em meio ácido o complexo férrico-tripiridiltriazina é reduzido, formando um composto colorido na presença de antioxidantes, causando um aumento na absorbância em 595 nm. A absorbância atinge um ponto final fixo e é interpolada numa curva de calibração de Trolox, e os resultados expressos em TEAC - equivalentes de Trolox (BENZIE e STRAIN, 1996).

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]

Na metodologia com o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), o decréscimo da absorvância é monitorado em 515 nm, que ocorre devido a redução do radical (Figura 14), pela ação do antioxidante (AH) ou reação com uma espécie radicalar (R·) (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET, 1995).

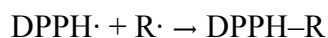
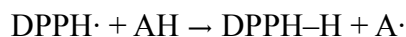


Figura 14 - Representação esquemática da redução do radical DPPH (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET, 1995).

O radical DPPH reage rapidamente com alguns fenóis e α -tocoferol, mas ocorrem reações secundárias concomitantemente de forma lenta causando um progressivo decréscimo na absorvância, podendo demorar várias horas para que a reação seja estabilizada. Muitos trabalhos, em que o método DPPH tem sido utilizado, reportam o seqüestro do radical após 15 ou 30 minutos de tempo de reação. Os dados são comumente expressos como EC50, que é a concentração de antioxidante requerida para 50% de o radical DPPH ser seqüestrado no período de tempo especificado. Paralelamente, com menor freqüência, alguns trabalhos expressam os resultados do ensaio DPPH em TEAC (capacidade antioxidante equivalente em Trolox), através da medida do decréscimo da absorvância (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET, 1995). Este método tem sido recentemente modificado para ser medido através de HPLC (cromatográfica líquida de alta eficiência) em substituição aos métodos espectrofotométricos (CHANDRASEKAR, et al., 2006).

Outra metodologia similar ao DPPH é o ABTS [2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)]. O radical cátion ABTS é mais reativo que o radical DPPH e a reação do radical ABTS com o antioxidante pode ocorrer num período de 1 a 6 minutos. O método da geração do radical cátion tem sofrido muitas mudanças desde sua primeira descrição. Trabalhos recentes descrevem o uso de persulfato de potássio para oxidar o ABTS para o cátion radical. Os resultados do método ABTS são expressos como TEAC (capacidade antioxidante equivalente em Trolox) na maioria dos trabalhos que empregam essa metodologia (RE et al., 1999).

O método ABTS é um dos mais utilizados entre os testes indiretos de avaliação da atividade antioxidante. Foi primeiramente sugerido por Rice-Evans, et al., 1993 apud Beal, 2006.

O princípio do método consiste em monitorar o decaimento do radical produzido pela oxidação do radical ABTS, causada pela adição de uma amostra contendo compostos com atividade antioxidante. O ABTS absorve na faixa de 600 – 750 nm e pode ser facilmente determinado por espectrofotometria. Na ausência de antioxidantes, o ABTS é estável, mas ele reage energeticamente com um doador de H, como os compostos fenólicos, sendo então convertido em uma forma incolor. A quantidade de radical ABTS consumida está relacionada à reação com os compostos fenólicos presentes na amostra (CAMPOS e LISSI, 1997). Na Figura 15 podem ser observadas as estruturas do radical ABTS.

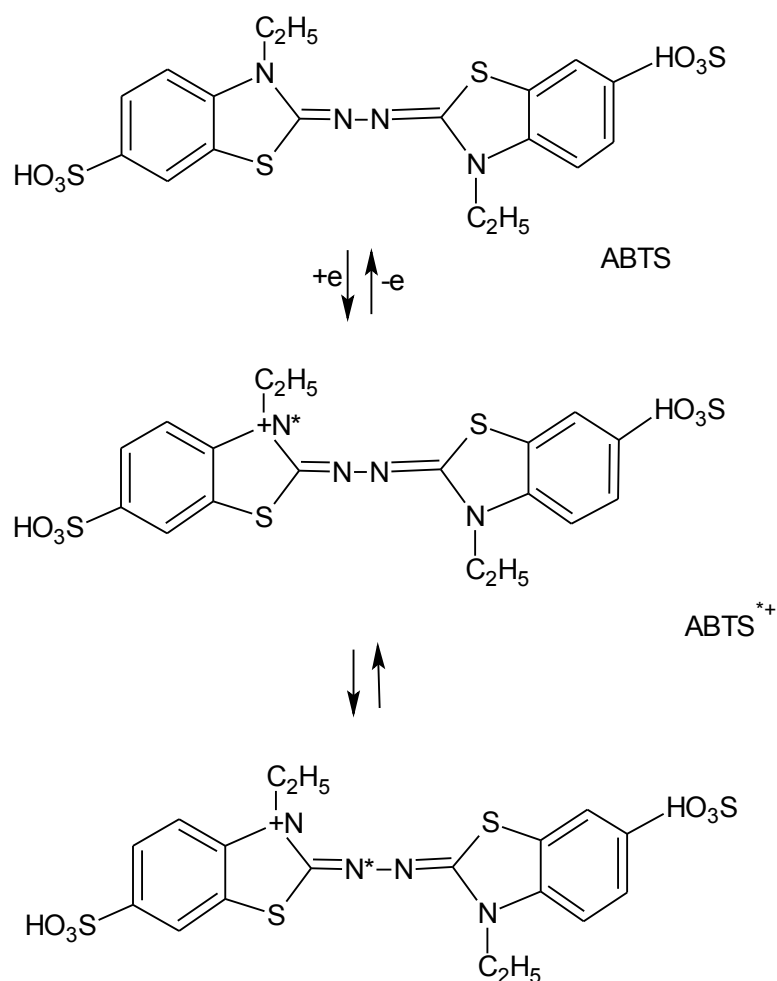


Figura 15 - Representação esquemática do radical ABTS e radical cátion ABTS (OSMAN, WONG e FERNYHOUGH, 2006).

Outra metodologia bastante utilizada na pesquisa de substâncias com atividade antioxidante é o método β -caroteno/ácido linoléico. Esse ensaio baseia-se na perda de cor do β -caroteno durante sua cooxidação com o ácido linoléico em uma emulsão aquosa, monitorada com a diminuição da absorvância na região visível na faixa de 470 nm (MILLER, 1971). A adição de uma amostra contendo antioxidantes individuais (VON GADOV, JOUBERT e HANSMANN, 1997), ou extratos naturais (MOURE et al., 2000) resulta no retardo da perda de cor do β -caroteno. O ensaio quantifica a atividade antioxidante como porcentagem de inibição.

Todos os métodos utilizados na avaliação da atividade antioxidante em alimentos, são fortemente influenciados pelos solventes utilizados durante o processo de extração (PELLEGRINI, et al., 2007). A efetividade do antioxidante nos alimentos deve ser estudada através de mais de uma metodologia, devido ao fato da atividade antioxidante sofrer influência de diversos fatores incluindo polaridade, solubilidade, e atividade quelante de metais (GORDON, 2001).

Nos últimos anos, alguns pesquisadores têm observado a influência do solvente utilizado no procedimento de extração em diversas metodologias que avaliam a atividade antioxidante, como ORAC, DPPH, FRAP e ABTS. O tipo e polaridade do solvente empregado pode afetar aspectos chave na medida da atividade antioxidante, como a transferência de elétrons e átomos de hidrogênio (PÉREZ-JIMÉNEZ e SAURA-CALIXTO, 2006).

Em estudos recentes realizados com soluções de catequina e ácido gálico e constituintes de alimentos, foram encontradas diferenças significativas nos resultados da atividade antioxidante empregando o mesmo método em amostras solubilizadas com diferentes solventes. No método ABTS, o solvente mais polar registrou os maiores valores para a solução de catequina e ácido gálico, sendo que o DPPH apresentou uma influência mais fraca nos resultados obtidos. As mesmas metodologias quando testadas utilizando uma amostra contendo constituintes presentes nos alimentos não-antioxidantes, demonstraram que certos constituintes como aminoácidos e ácidos urônicos, também apresentam um efeito interferente nesses ensaios. Esses pesquisadores concluíram seu estudo sugerindo que medidas de atividade antioxidante de uma amostra só podem ser comparadas com segurança, quando analisadas pela mesma metodologia e extraídas com o mesmo solvente (PÉREZ-JIMÉNEZ e SAURA-CALIXTO, 2006).

Alguns estudos recentes de antioxidantes naturais produziram resultados conflitantes devido o uso de métodos unidimensionais não específicos para avaliar a atividade antioxidante. Existe uma grande necessidade de padronizar os testes utilizados na avaliação da atividade antioxidante com a finalidade de minimizar a atual confusão gerada pela diversidade de metodologias utilizadas. Infelizmente, muitos dos protocolos analíticos usualmente utilizados estão baseados em sistemas modelos completamente artificiais, por vezes não relevantes para serem aplicados em sistemas biológicos. Métodos mais específicos devem ser utilizados para obter informações químicas e avaliar a deterioração oxidativa de vários alimentos e sistemas biológicos. Marcadores da atividade *in vivo* da oxidação lipídica são necessários para testar a grande diversidade de antioxidantes naturais polifenólicos e definir de forma mais específica seu papel biológico (FRANKEL, 2007).

Aruoma (2003) recomenda a realização de estudos *in vitro* através de mais de uma metodologia para que os dados possam ser extrapolados para situações *in vivo*. Além disso, fatores como biodisponibilidade e o destino dos metabólitos dos componentes antioxidantes devem ser considerados no estudo da compreensão e eficácia de uma substância com propriedades antioxidantes.

1.6 Análise instrumental da cor

A cor é um aspecto fundamental da qualidade de alimentos, sendo o primeiro atributo observado sensorialmente antes do consumo (HECKTHEUER, 1996). Ela resulta da presença de compostos coloridos já existentes no produto natural, ou da adição de corantes sintéticos, podendo ainda ser resultante da formação de compostos coloridos e reações de escurecimento enzimático e não enzimático, durante o processamento ou armazenamento (BOBBIO e BOBBIO, 1992).

O estudo da cor deve ser iniciado pelo estudo da luz, pois se constitui num fenômeno fisiológico resultante da interação entre fonte de luz, objeto, olho e cérebro humano (FEILLET, AUTRAN e VERNIERI, 2000). A cor é uma característica da luz, mensurável em termos de intensidade (energia radiante) e comprimento de onda, podendo ser separada em diferentes comprimentos de onda, criando desta forma um espectro. Ao passar um feixe de luz por um prisma, ocorre a distribuição das cores de acordo com seu comprimento de onda (MINOLTA, 1994).

Segundo Hecktheuer (1996), a cor percebida é definida como aspecto da percepção visual e a cor psicofísica como a característica da radiação visível. Nos dois casos, a cor permite ao observador distinguir as diferenças entre os objetos de mesma dimensão, forma e estrutura. A cor psicofísica fornece as características de um estímulo de luz (isto é, a luz produzindo uma sensação de cor) denotada pelas especificações colorimétricas através da Comissão Internationale de L'Éclairage (CIE, 1931). Desta maneira, a especificação puramente objetiva da cor de um objeto pode ser expressa em termos de transmitância espectral.

De acordo com Feillet, Autran e Vernieri (2000), a cor é composta por dois atributos visuais (matiz e saturação) e um fator luminoso (claridade ou luminosidade). Matiz é um termo utilizado para classificar as cores como: vermelho, amarelo, azul, etc. Desta maneira, quando misturamos dois ângulos de matiz diferentes produzimos uma terceira cor, diferente das que a originou.

As fontes luminosas não são apenas caracterizadas pelo matiz (hue) que é a presença de um comprimento de onda dominante, mas também pela intensidade, brilho ou claridade (brightness), que é a amplitude do comprimento de onda, ou seja, é a relação entre a luz refletida e a luz absorvida, sem levar em consideração um comprimento de onda específico; e a saturação (croma) que é a concentração em torno do comprimento de onda dominante. É a quantidade de reflexão de luz, em um dado comprimento de onda, e indica a proporção em que a cor está misturada com o branco, preto ou cinza (MINOLTA, 1994).

O processo de formação de cores por pigmentação, baseia-se nas três principais características de uma fonte luminosa (matiz, luminosidade e saturação), uma vez que a luz ao atingir a camada de pigmentos sofre processos de reflexão, absorção e transmissão (fenômeno conhecido como espalhamento) produzindo assim a(s) cor (es) desejada(s) (HUCHTINGS, 1997; MINOLTA, 1994).

A Comissão Internationale de L'Éclairage (CIE), em 1931, propôs um método para representação perceptual de cores, utilizando as cores básicas: vermelho (Red), verde (Green) e azul (Blue), sendo que a mistura destas cores resultaria em todas as outras cores conhecidas. O CIE definiu padrões primários: X, Y e Z (valores tristímulo), que representa a sensibilidade espectral correspondente ao olho humano. Estes padrões não correspondem a estímulos reais de cor, ou seja, não são cores visíveis (MINOLTA, 1994).

Os valores tristímulos XYZ são utilizados para definir uma cor, mas estes resultados não são facilmente visualizados. Por esta razão em 1931, o CIE, também definiu um espaço de cor para representá-la graficamente em duas dimensões, independente da luminosidade, ou seja, o espaço de cor Yxy, no qual Y é a luminosidade (e é idêntica ao valor tristímulo Y) e x e y são as coordenadas de cromaticidade calculadas a partir dos valores tristímulos YXZ (FELIPE e ARTIGAS, 1986).

Em 1976, o CIE desenvolveu um novo método para definição de cores, reduzindo ao máximo um dos problemas apresentados pelo diagrama original Yxy: onde iguais distâncias no diagrama de cromaticidade x e y, não correspondem às diferenças iguais percebidas entre as cores. Desta maneira, propôs o sistema de cores $L^*a^*b^*$ (também conhecido como CIEL $^*a^*b^*$), o qual é um dos mais populares sistemas utilizados para medir cor de um objeto devido a sua uniformidade (FELIPE e ARTIGAS, 1986).

Segundo Oliver, Blakeney e Allen (1993), a cor pode ser determinada pelo sistema CIELAB (1976), através de seus parâmetros: luminosidade (L^*) e coordenadas de cromaticidade (a^* e b^*). Neste sistema, L^* indica a luminosidade e pode determinar valores entre zero (0) e cem (100), sendo denominado preto e branco, respectivamente. As coordenadas de cromaticidade a^* e b^* formam um plano perpendicular em relação à luminosidade. As coordenadas do diagrama a^* e b^* indicam as direções das cores, a partir do centro acromático: define as coordenadas de cromaticidade (FEILLET, AUTRAN e VERNIERI, 2000; HECKTHEUER, 1996; GILABERT, 1992; FELIPE e ARTIGAS, 1986).

A Figura 16 mostra às coordenadas do diagrama a^* e b^* , as quais indicam as direções das cores: $a^* > 0$ é a direção do vermelho, $a^* < 0$ é a direção da cor verde, $b^* > 0$ é a direção da cor amarela e $b^* < 0$ é a direção da cor azul. O centro do diagrama é acromático, e os valores das coordenadas aumentam do centro para as extremidades, assim como a saturação das cores (MINOLTA, 1994).

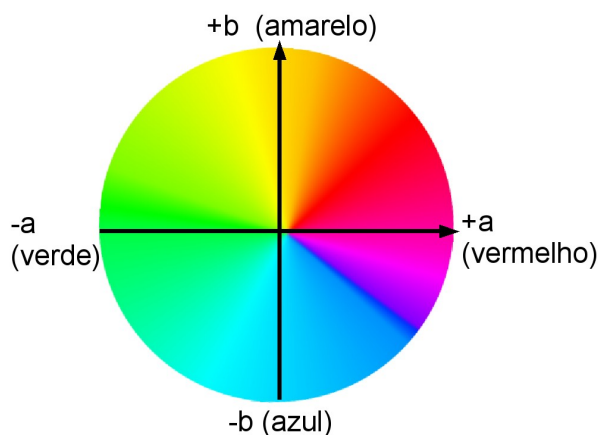


Figura 16 - Diagrama de Cromaticidade a^* e b^* (MIRANDA, 1998; MINOLTA, 1994).

Outros métodos foram criados para representação de cor de um objeto: Sistema de cor $L^*C^*h^*$ e Sistema Hunter Lab. O sistema de cor $L^*C^*h^*$ utiliza o mesmo diagrama do sistema CIELAB, mas as coordenadas são cilíndricas ao invés de coordenadas retangulares. Neste sistema L^* é denominado de luminosidade (equivalente ao L^* do CIELab), C^* é denominado de croma, sendo “zero” no centro do diagrama e seu valor aumenta de acordo com a distância do centro. A tonalidade ou matiz “ h^* ” é expressa em ângulos e inicia em 0° =vermelho (equivalente ao $+a^*$), 90° =amarelo ($+b^*$), 180° =verde ($-a^*$) e 270° definido com sendo o azul ($-b^*$) (HECKTHEUER, 1996).

O sistema Hunter Lab foi desenvolvido por R.S. Hunter para ser o sistema de cor mais uniforme que o sistema Yxy criado pelo CIE (1931). É similar ao sistema CIELAB, porém o valor obtido para a coordenada de cromaticidade b^* é duas vezes maior que o valor obtido para a coordenada b de Hunter (MINOLTA, 1994; GILABERT, 1992).

Os instrumentos para medida de cor foram criados para fornecer dados numéricos, mais objetivos, a fim de substituir a percepção “subjetiva” de um observador. Os valores tristímulos obtidos desta forma constituem uma especificação de cor de um dado objeto, mas não pode ser reprodutível devido fundamentalmente a duas causas: ao observador e a fonte de luz utilizada (HECKTHEUER, 1996). Por isso, foram especificados os fatores que podem afetar a cor de um

objeto, em: iluminante, objeto e observador. As fontes luminosas ou iluminantes utilizadas por estes aparelhos são comumente conhecidas como: Iluminante C ou D65 é utilizado para substituir a luz do dia; Iluminante A, utilizado para substituir a luz incandescente e Iluminante F2 para substituir a luz fluorescente (MINOLTA, 1994; FELIPE e ARTIGAS, 1986).

Os principais instrumentos utilizados para medição de cor são: os colorímetros e os espectrofotômetros. Os colorímetros medem de maneira direta a cor de um objeto usando filtros que reproduzem a resposta do olho humano, por isso são aparelhos muito simples e que fornecem dados rápidos. Os espectrofotômetros são aparelhos mais complexos e que utilizam dados de reflectância real através do espectro de luz visível. O principal objetivo das análises de cor, usando os diferentes equipamentos, é encontrar repetibilidade nos valores encontrados que estejam de acordo com a percepção visual (MINOLTA, 1994; GILABERT, 1992).

2 Referências Bibliográficas

AHMED, M. K.; DAUN, J. K.; PRZYBYLSKI, R. FT – IR based methodology for quantitation of total tocopherols, tocotrienols and plastochromanol-8 in vegetable oils.

Journal of Food Composition and Analysis, v.18, p. 359 – 364, 2005.

ANDREO, D.; JORGE, N. **Antioxidantes naturais: técnicas de extração**. B.CEPPA, Curitiba v.24, n.2, p. 319 - 336, 2006.

ARUOMA, O.I. Methodological characterizations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. **Mutation Research**, v. 9, n. 20, p. 523 - 524, 2003.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191 - 203, 2006.

BEAL, B.H. **Atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe)** 2006. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, [2006].

BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70 - 76, 1996.

- BERA, D.; LAHIRI, D.; NAG, A. Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. **Journal of Food Engineering**, v.74, p.542-545, 2006.
- BIRCH, A.E. et al. Antioxidant proprieties of evening primrose seed extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p. 4502 - 4507, 2001.
- BOBBIO, P. A. ; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Varela, 1992.
- BRAMLEY, P. M.; ELMADFA, I.; KAFATOS, A.; KELLY, F. J.; MANIOS, Y.; ROXBOROUGH, H. E.; SCHUCH, W.; SHEEHY, P. J. A.; WAGNER, K-H. Rewiew Vitamin E. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 913 - 938, 2000.
- BRAND-WILLIAMS W.; CUVELIER A.E.; BERSET C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, **Lebensm.-Wiss. u.- Technol**, v.28, p. 25 - 30, 1995.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 23, de 15 de fevereiro de 2005. **Regulamento Técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos óleos e gorduras - subcategoria creme vegetal e margarinas**. Brasília: Diário Oficial da União, 2005.
- BRENNA, O.V.; PAGLIARINI, E. Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p. 4841-4844, 2001.
- BROADHURST, R.B.; JONES, W.T. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. **J. Sci. Food Agric.**, v. 29, p 788 - 794, 1978.
- BROUILLARD, R. **Anthocyanins as food colors**. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, Inc. 1982.
- BROUILLARD, R.; DANGLES, O. **The Flavonoids. Advances in research since 1986**. In: HARBORNE, J.B., London: Chapman & Hall Ltda, p. 565 - 588, 1993.

CAMPOS, A. M.; LISSI, E. A. Kinetics of the reaction between 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) derived radical cations and phenols.

International Journal of Chemical Kinetics, v. 29, p. 219 - 224, 1997.

CARVALHO, J.C.T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E.P. Compostos fenólicos simples e heterocíclicos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, G.G.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed., ver., Porto Alegre /Florianópolis, Ed. Universidade/ UFGRS/ Ed. da UFSC, 2007.

CHANDRASEKAR, D.; MADHUSUDHANA, K.; RAMAKRISHNA, S.; DIWAN, P.V. Determination of DPPH free radical scavenging activity by reversed-phase HPLC: a sensitive screening method for polyherbal formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 40, p. 460 - 464, 2006.

C.I.E. Proceedings of the 8th session of the Commission Internationale de l'Eclairage. Cambridge University Press, 1931. AO, 22-23.

C.I.E. Colorimetry. 2a ed. Publication C.I.E. n° 15,2. Central Bureau of the Commission Internationale de l'Eclairage. Vienna, 1976.

CLIFFORD, M.N. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1118 – 1125, 2000.

CLIFFORD, M.N.; SCALBERT, A. Ellagitannins: occurrence in food, bioavailability and cancer prevention. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, p. 362 - 372, 1999.

DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v.5, n.1, p.33-40, 2004.

DIMITRIOS, B. Sources of natural phenolic antioxidants. **Trends in Food Science & Technology**, v.17, p.505 - 512, 2006.

FEILD, T.; LEE, D.W.; HOLBROOK, N.M. Why leaves turn red in autumn. The role of anthocyanins in senescing leaves of red-osier dogwood. **Plant Physiology**, v. 127, p. 566 - 574, 2001.

FEILLET, P.; AUTRAN, J.C.; VERNIÈRE, C.I. Pasta brownness: an assessment. **Journal of Cereal Science**, v.32, p. 215 - 233, 2000.

FELIPE, A.; ARTIGAS, J.M. Limitaciones, anomalias y particularidades del espacio uniforme de color CIELab. **Optica pura y aplicada** (19): 173 - 178, 1986.

FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1993.

FILHO, M.B. Lignanas, neolignanas e seus análogos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, G.G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed., ver., Porto Alegre /Florianópolis, Ed. Universidade/ UFGRS/ Ed. da UFSC, 2007.

FIRESTONE, D. Physical and Chemical Characteristics of Oils, Fats, and Waxes. USA, AOCS Press, 152 p. 1999.

FRANKEL, E.N. Effects of Antioxidants (Part II). **Inform AOCS**, v. 18, n. 8, p. 564 - 566, 2007.

FRANKEL, E.N.; MEYER, A.S. The problem of using one-dimensional methods to evaluated multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1925 - 1941, 2000.

FRANKEL, E.N.; HUANG, S.-W.; KANNER, J.; GERMAN, J.B. Interfacial Phenomena in the Evaluation of Antioxidants: Bulk Oils vs Emulsionst. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, p.1054 - 1059, 1994.

GILABERT, E.J. **Medida del color**. Universidad Politécnica de Valencia, 1992.

GORDON, M.H. Measuring antioxidant activity. In: POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M.H. **Antioxidants in food: Pratical applications**. Published by Woodhead Publishing Limited, Abington Hall, Abington Cambridge CB1 6AH, England, CRC Press, 2001.

HALLIWELL, B. How to characterize a biological antioxidant. **Free Radical research Communications**, v. 9 (1), p. 1 - 32, 1990.

HALLIWELL, B., AESCHBACH, R., LÖLIGER, J.; ARUOMA, O.I. The characterization of antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33 (7), p. 601 - 617, 1995.

- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 15, (4), p.129 - 135, 1989.
- HECKTHEUER, L.H.R. **Envejecimiento em botella de vinos tintos varietales de tempranillo, bobal y monastrell**. 1996. 222 p. Tesis Doctoral (Doctor em Ciencia y Tecnología de Alimentos) – Universidad Politécnica de Valencia, [1996].
- HUCHTINGS, J.B. **Food colour and appearance**. Chapman & Hall, 1997, p.142.
- INC – International Nut Tree Council – disponível em www.nuthealth.org, acesso em 28/01/2008.
- IQBAL, S.; BHANGER, M.I. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. **Food Chemistry**, v.100, p.246 - 254, 2007.
- JACKMAN, R.L.; SMITH, J.L. **Anthocyanins and betalains**. In: HENDRY, G.A.F. e HOUGHTON, J.D. **Natural Food Colourants**. London: Academic Blackie. 1992, p. 183 - 241.
- KAMAL-ELDIN, A. Minor Components of fats and Oils. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Specialty Oils & Oil Products**. 6.ed., v.3, EUA, Wiley – interscience, 2005.
- KOŁAKOWSKA, A. Lipid Oxidation in Food Systems. In: SIKORSKI, Z. E.; KOLAKOWSKA, A. (Eds). **Chemical and Functional Properties of Food Lipids**. CRC Press LLC, Boca Raton, 2003.
- KORNSTEINER, M.; WAGNER, K.H.; ELMADFA, I. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. **Food Chemistry**, vol.98, p.381 - 387, 2006.
- KRIS-ETHERTON, P.M.; HECKER, K.D.; BONANOME, A.; COVAL, S.M.; BINKOSKI, A.E.; HILPERT, K.F.; GRIEL, A.E.; ETHERTON, T.D. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **The American Journal of Medicine**, v.113, p.71 - 88, 2002.
- KRIS-ETHERTON, P.M.; YU-POTH, S.; SABATÉ, J.; RATCLIFFE, H.E.; ZHAO, G.; ETHERTON, T.D. Nuts and their bioactive constituents: effects on serum lipids and other

factors that affect disease risk. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.70, p.504 - 511, 1999.

KUSTER, R.M.; ROCHA, L.M. Cumarinas, Cromonas e Xantonas. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, G.G.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed., ver., Porto Alegre /Florianópolis, Ed. Universidade/ UFGRS/ Ed. da UFSC, 2007.

KYOUNG CHUN, O.K.; KIM, D. Consideration on equivalent chemicals in total phenolic assay of chlorogenic acid-rich plums. **Food Research International**, v. 37, p. 337 - 342, 2004.

LAMBELET, P.; SAUCY, F.; LÖLIGER, J. Mecanismos de Acción de los Antioxidantes. **Asociación Argentina de Grasas y Aceites. Libro 10º Aniversario. Recopilación de Artículos Técnicos de 1990/2000**. Ed. 1-41, Tomo II, p. 693 – 695, 2001.

LAVEDRINE, F.; RAVEL, A.; VILLET, A.; DUCROS, V.M.; ALARY, J. Mineral composition of two walnut cultivars originating in France and California. **Food Chemistry**, v. 68, p. 347 - 351, 2000.

LEE, D.W.; COLLINS, T.M. Phylogenetic and ontogenetic influences on the distribution of anthocyanins and betacyanins in leaves of tropical plants. **International Journal of Plant Sciences**, v. 162, n. 5, p. 1141 - 1153, 2001.

MADHAVI, D.L.; SALUNKHE, D.K. Antioxidants. In: MAGA, J.A.; TU, A.T. **Food Additive Toxicology**. 1.ed., v.1, New York-Basel-Hong Kong, EUA, Marcel Dekker, Inc. 1995.

MALCOLMSON, L.J. Flavor and Sensory Aspects. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Chemistry, Properties and Health Effects**. 6.ed., v.1, EUA, Wiley – interscience, 2005.

MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. **Food Chemistry**, v. 25, p. 207 - 225, 1987.

MAZZA, G.; MINIATI, E. **Anthocyanins in fruits, vegetables and grains**. Boca Raton, Florida (USA): CRC Press. 1993, 362p.

MELLO, J.C.P.; SANTOS, S.C. Taninos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, G.G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed., ver., Porto Alegre /Florianópolis, Ed. Universidade/ UFGRS/ Ed. da UFSC, 2007.

MILLER, H.E. A simplified method for the evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v.48, p.91, 1971.

MINOLTA. **Precise color communication**: color control from feeling to instrumentation. MINOLTA Co. Ltd., 1994.

MIRANDA, M.Z. **Efeito do tempo de germinação do trigo e das variáveis de extrusão na qualidade tecnológica e nutricional de farinha integral**. 1998. 216 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, [1998].

MOURE, A.; FRANCO, D.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; NÚÑEZ, M. J.; LEMA, J. M. Evaluation of extracts from *Gevuina avellana* hulls as antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48 (9), p. 3890 – 3897, 2000.

MOURE, A.; CRUZ, J.M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J.M.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; NÚÑEZ, M.J.; PARAJÓ, J.C. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, London, v.72, n.2, p. 145 - 171, 2001.

NOGALA-KALUCKA, M.; KORCZAK, J.; DRATWIA, M.; LAMPSRT-SZCZAPA, E.; SIGER, A.; BUCHOWSKI, M. Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests. **Food Chemistry**, v. 93, p. 227 – 235, 2005.

NOGALA-KALUCKA, M. Fat Soluble Vitamins. In: SIKORSKI, Z. E. e KOLAKOWSKA, A. (Eds). **Chemical and Functional Properties of Food Lipids**. CRC Press LLC, Boca Raton, 2003.

O'BRIEN, R. D. **Fats and Oils – Formulating and Processing for Applications**. 2nd ed., CRC Press LLC, Boca Raton, 2004.

OLIVER, J.R.; BLAKENEY, A.B.; ALLEN, H.M. The colour of flour streams as related to ash and pigment contents. **Journal of Cereal Science**, v.17, p.169-182, 1993.

ORO, T.; OGLIARI P.J.; AMBONI, R.D.M.C.; BARRERA-ARELLANO, D. y BLOCK, J.M. Evaluación de la calidad durante el almacenamiento de nueces Pecán [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] acondicionadas en diferentes envases. **Grasas y Aceites**, n.2 (abril-junio), In Press, 2008.

ORO, T. **Composição nutricional, compostos bioativos e vida útil de noz e óleo extra-virgem de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]** 2007. 105 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, [2007].

ORTIZ, E. R. N. Propriedades nutritivas e nutracêuticas das nozes. **Monografia – Especialização em Tecnologia de Alimentos**, Universidade de Santa Cruz do Sul, RS, 2000.

OSMAN, A.M.; WONG, K.K.Y.; FERNYHOUGH, A. ABTS radical-driven oxidation of polyphenols: Isolation and structural elucidation of covalent adducts, **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 346, p. 321 - 329, 2006.

PELLEGRINI, N.; COLOMBI, B.; SALVATORE, S.; BRENNAN, O.V.; GALAVERNA, G.; DEL RIO, D.; BIANCHI, M.; BENNETT, R.N.; BRIGHENTI, F. Evaluation of antioxidant capacity of some fruit and vegetable foods: efficiency of extraction of a sequence of solvents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 103 - 111, 2007.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v. 39, p. 791 - 800, 2006.

POLLES, S.G.; HANNY, B.W.; HARVEY, A.J. Condensed tannins in kernels of thirty one Pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Kock] cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 29(1), p.196 - 197, 1981.

POKORNY, J. Natural antioxidants for food use. **Trends in Food Science & Technology**, v.2, p.223 - 227, 1991.

POKORNÝ, J.; PARKÁNYIOVÁ, J. Lipids with antioxidant properties. **Healthful Lipids**. AOCS Press, 2005.

- PRICE, M.L.; VAN SCOYOC, S.; BUTLER, L.G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 26, p. 1214 - 1218, 1978.
- RAFECAS, M.; GUARDIOLA, F.; ILLERA, M.; CODONY, R.; BOATELLA, J. Liquid chromatographic determination of phenolic antioxidants in bakery products. **Journal of Chromatography A**, v.822, p.305 - 309, 1998.
- RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v.29, n.4, p. 755-760, 2006.
- RAUHA, J.P. et. al. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **International Journal of Food Microbiology**, v.56, n.1, p. 3 - 12, 2000.
- RE, R; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, n. 9/10, p.1231 -1 237, 1999.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANÇA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in plant science**, v.2, n.4, p.152 - 159, 1997.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANÇA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 20, p. 933 - 956, 1996.
- SALUNKHE, O.K.; CHAVAN, J.K.; KADAM, S.S. **Dietary Tannins: Consequences and Remedies**, CRC Press, Boca Raton, FL, 1989.
- SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J.A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 76, p. 270 - 276, 1998.
- SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavail-ability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v.130 (Suppl. 8S), p.2073S - 2085S, 2000.

- SENER, S.D.; HORVAT, R.J.; FORBUS JR, W.R. Relation between phenolic acid content and stability of pecans in accelerated storage. **Journal of Food Science**, v. 45, p. 1380 - 1382, 1980.
- SHAHIDI, F.; MIRALIKBARI, H. Tree Nut Oils. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Specialty Oils & Products**. 6.ed., v.3, EUA, Wiley – interscience, 2005.
- SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Cereals, Legumes and Nuts**. In: Phenolics in Food and Nutraceutical. Boca Raton, CRC Press LLC, 2004a.
- SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Methods of Analysis and Quantification of Phenolic Compounds**. In: Phenolics in Food and Nutraceutical. Boca Raton, CRC Press LLC, 2004b.
- SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. Lancaster: Technomic Publishing, 1995. p. 281 - 319.
- SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Antioxidants: Regulatory Status. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Chemistry, Properties and Health Effects**. 6.ed., v.1, EUA, Wiley – interscience, 2005.
- SHERWIN, E.R. Antioxidants for vegetable oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.53, n.6, p.430 - 436, 1978.
- SILVA, F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v.22, n.1, p.94 - 103, 1999.
- SIMOPOULOS, A.P. The mediterranean diets: what is so special about the diet of Greece? The scientific evidence. **Journal of Nutrition**, v.131 (Suppl. 11), p. 3065S - 3073S, 2001.
- SOARES, S.E. Ácidos Fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p.71 - 81, 2002.
- SOBRATTEE, M.A.; NEERGHEEN, V.S.; LUXIMON-RAMMA, A.; ARUOMA, O.I. ; BAHORUN, T. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions, **Molecular Research**, v. 579, p. 200 - 213, 2005.
- STINTZING, F.C.; CARLE, R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, p. 19 - 38, 2004.

- SUJA, K.P.; ABRAHAM, J.T.; THAMIZH, N.S.; JAYALEKSHMY, A.; ARUMUGHAN, C. Antioxidant efficacy of sesame cake extract in vegetable oil protection. **Food Chemistry**, v.84, p. 393 - 400, 2004.
- SWINK J.W. **Pecans as a "young" ingredient**. Food Tech Europe, v.3, n.2, p. 75 - 76, 1996.
- TIMBERLAKE, C.F. Anthocyanins occurrence, extraction and chemistry. **Food Chemistry**, n. 5, p. 69 - 80, 1980.
- TIMBERLAKE, C.F.; BRIDLE, P. **Distribution of anthocyanins in food plants**. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, Inc. 1982.
- THOMAS, M.J. The role of free radicals and antioxidants. **Nutrition**, v.16, n.7/8, p. 716 - 718, 2000.
- TOMAS-BARBERAN F.A.; CLIFFORD, M.N. Dietary hydroxybenzoic acid derivatives and their possible role in health protection. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1024 - 1032, 2000.
- TRUEBA, G.P.; SANCHEZ, G.M. Los flavonóides como antioxidantes naturales. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 20, p. 297 - 306, 2001.
- UMERIE, S.C.; OGBUAGU, A.S.; OGBUAGU, J.O. Stabilization of palm oils by using *Ficus exasperata* leaves in local processing methods. **Bioresource Technology**, v.94, p. 307 - 310, 2004.
- VALENZUELA, A. B.; NIETO S. K. Los antioxidantes: protectores de la calidad en la industria alimentaria. **Asociación Argentina de Grasas y Aceites. Libro 10º Aniversario. Recopilación de Artículos Técnicos de 1990 - 2000**. Ed 1 - 41, Tomo III, p. 85 - 94, 2001.
- VENKATACHALAM, M. **Chemical composition of select pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] varieties and antigenic stability of pecan proteins**. 2004. 90p. (Dissertation) - College of Human Sciences, The Florida State University, [2004].
- VIGUERA, C.G.; BRIDLE, P. Influence of structure on colour stability of anthocyanins ad flavylum salts with ascorbic acid. **Food Chemistry**, v. 64, p. 21 - 26, 1999.

- VILLARREAL-LOZOYA, J.E.; LOMBARDINI, L.; CISNEROS-ZEVALLOS.
Phytochemical constituents and antioxidant capacity of different pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] cultivars. **Food Chemistry**, v.102, p. 1241-1249, 2007.
- VON GADOW, A.; JOUBERT, E.; HANSMANN, C.F. Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of rooibos tea (*Aspalanthus linearis*), α -tocopherol, BHT and BHA, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 632 - 638, 1997.
- VONDERHEIDE, A.P.; WROBEL, K.; KANNAMKUMARATHA, S.S.; B'HYMER, C.; MONTES-BAYOÄ, N.M.; DE LEOÄ, N.C.P.; CARUSO, J.A. Characterization of Selenium Species in Brazil Nuts by HPLC-ICP-MS and ES-MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p. 5722 - 5728, 2002.
- WAKELING, L.T.; MASON, R.L.; D'ARCY, B.R.; CAFFIN, N.A. Composition of pecan cultivars Wichita and Western Schley [*Caraya illinoensis* (Wangenh) K. Koch] grown in Australia. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p. 1277 - 1281, 2001.
- WANASUNDARA, P.K.P.D.; SHAHIDI, F. Antioxidants: Science, Technology, and Applications. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Chemistry, Properties and Health Effects**. 6.ed., v.1, EUA, Wiley – interscience, 2005.
- WORLEY, R. E. Pecan physiology and composition. In C. R. Santerre (Ed.), **Pecan technology** . New York: Chapman &Hall, p. 39 – 45, 1994.
- YOSHIDA, Y., NIKI, E., NOGUCHI, N. Comparative study on the action of tocopherols and tocotrienols as antioxidant: chemical and physical effects. **Chemistry an Physics of Lipids**, v.123, p. 63 - 75, 2003.
- ZAMBIAZI, C. Oxidation reactions of vegetable oils and fats. **Boletim SBCTA**, v. 33, n. 1, p. 1 –7, 1999.
- ZHENG, W.; WANG, S.Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p. 5165 - 5170, 2001.

ZUANAZZI, J.A.S. Flavonóides. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, G.G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed., ver., Porto Alegre /Florianópolis, Ed. Universidade/ UFGRS/ Ed. da UFSC, 2007.

CAPÍTULO 2

**Compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos da casca de noz-pecã
[*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] obtidos através de extração
seqüencial**

Compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos da casca de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] obtidos através de extração seqüencial

Ana Cristina Pinheiro do Prado^a; Analu Monalise Aragão^a; Roseane Fett^a e Jane Mara Block^{a*}.

^aUniversidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Rod. Ademar Gonzaga, 1346, Itacorubi, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil, CEP: 88040-900.

* e-mail: jmblock@cca.ufsc.br

Resumo

As nozes têm sido recomendadas na dieta devido à presença de moléculas bioativas em sua constituição com possíveis efeitos benéficos à saúde. Este trabalho teve por objetivo determinar o teor de fenólicos totais, taninos condensados, a atividade antioxidante e as variações na cor da casca de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch], de uma mistura de variedades produzidas no sul do Brasil. Após serem moídas e secas, as cascas de noz-pecã foram submetidas a uma extração seqüencial com diferentes solventes (éter, acetona, álcool e água). A atividade antioxidante das amostras foi determinada através das metodologias ABTS, DPPH e β -caroteno / ácido linoléico. A atividade antioxidante dos extratos da casca foi comparada com a atividade de um antioxidante comercial, composto de uma mistura de tocoferóis naturais (MT), nas mesmas concentrações e, o efeito sinérgico dos extratos e dos tocoferóis foi estudado através da mistura de concentrações iguais de ambos (100, 150 e 250 ppm de cada). As análises de cor foram determinadas através de análise instrumental da cor utilizando o sistema CIE Lab. Os teores significativos ($p < 0,05$) para fenólicos totais, taninos condensados e atividade antioxidante, medidos através dos sistemas ABTS e DPPH (30 min e 24 h), foram observados na fração extraída com álcool, apresentando valores médios de 118,4 mg GAE/g; 736,5 mg CE/g; 2600,6 $\mu\text{mol TEAC/g}$; 453,9 e 617,4 mg TEAC/g respectivamente. A correlação entre o conteúdo de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante determinada nos extratos apresentou valores semelhantes nos sistemas ABTS e DPPH ($r_{\text{ABTS}} = 0,9320$, $r_{\text{DPPH}} = 0,9363$). A atividade antioxidante determinada pelo método β -caroteno / ácido linoléico, apresentou resultados superiores para a fração acetona na concentração de 500 ppm, inibindo 94,9 % da oxidação. Na

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]

análise instrumental da cor do pó das amostras, os valores médios para luminosidade (L^*) e saturação da cor (C^*) ficaram entre 34,6 e 8,2. Para a análise de contrastes que mede as variações de cor, do verde ao vermelho (a^*) e do azul ao amarelo (b^*), a média foi de 5,2 e 6,3 respectivamente, sendo que o ângulo H (hue) apresentou valor médio de 50,3. As amostras que se destacaram por apresentar parâmetros de cor com maior tendência aos tons vermelhos, também apresentaram maior teor de taninos condensados. Os resultados indicaram um teor elevado de compostos fenólicos e elevada atividade antioxidante na casca de noz-pecã.

Palavras chave: noz-pecã, casca de noz-pecã, oxidação, atividade antioxidante, compostos fenólicos.

1 Introdução

Entre os alimentos tradicionalmente utilizados, as nozes têm sido recomendadas na dieta em função de apresentar efeitos benéficos à saúde. A noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch], pertence à família juglandaceae e é originária do sul dos Estados Unidos e norte do México (HANACOCK, 1997). No Brasil, o gênero *Carya*, conhecido como nogueira-pecã, se desenvolve e é comercializada principalmente no Estado do Rio Grande do Sul (JOLY, 1993). A composição de nutrientes, micronutrientes e compostos fitoquímicos da noz-pecã é conhecida por variar dependendo da localização, condições climáticas, práticas de horticultura, cultivar, estação e nível de maturidade (WAKELING, 2001).

A noz-pecã apresenta baixo conteúdo de ácidos graxos saturados, e índices elevados de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados (ORO et al., 2008). Além disso, apresenta em sua composição moléculas bioativas, como os esteróis, tocoferóis e compostos fenólicos. Estes compostos apresentam atividade antioxidante através da estabilização de radicais livres (KORNSTEINER, WAGNER e ELMADFA, 2006; KRIS-ETHERTON et al., 1999).

Os radicais livres são moléculas que contêm um elétron isolado, o que as torna espécies instáveis e extremamente reativas, desencadeando reações de oxidação nos ácidos graxos presentes nas membranas biológicas e em alimentos, levando a rancidez e ao desenvolvimento de odores e sabores desagradáveis e perda de valor nutricional. Além disso, a oxidação de compostos relacionados com a pigmentação dos alimentos podem levar a descoloração ou formação de outros compostos de coloração diferenciada da apresentada pelo alimento no estado

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]

fresco. Esse processo pode ser retardado através da modificação das condições ambientais ou pela utilização de substâncias antioxidantes (SOARES, 2002; SCALBERT e WILLIAMSON, 2000; RICE-EVANS, MILLER e PAGANÇA 1997; SENTER e FORBUS, 1978). Entre os compostos antioxidantes presentes naturalmente nas plantas, destacam-se os tocoferóis, os compostos fenólicos e os taninos (SANTOS-BUELGA e SCALBERT, 2000).

Tocoferóis são compostos naturais com atividade antioxidante amplamente encontrados em diversos tecidos e denominados como vitamina E (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005). São estruturas derivadas do anel cromanol e substituídas por um grupamento hidroxila e grupos metílicos no anel fenólico, contendo uma longa cadeia lateral terpênica (POKORNÝ e PARKÁNYIOVÁ, 2005). A atividade antioxidante de tocoferóis é dependente da sua concentração, temperatura, luz, tipo de substrato e de solvente, bem como da presença de sinergistas e de espécies químicas que possam agir como pró-oxidantes. A inibição da produção de peróxidos e a eficiência dos tocoferóis homólogos também dependem do sistema lipídico testado (NOGALA-KALUCKA et al., 2005; BRAMLEY et al., 2000).

Os taninos são também conhecidos como proantocianidinas de grau variado de polimerização, que exercem atividade antioxidante, podendo ser encontrados na forma hidrolisada ou condensada (SANTOS-BUELGA e SCALBERT, 2000). Eles são parcialmente responsáveis pela estabilidade da coloração e sabor das nozes. Entre os taninos, os flobafenos, também chamados de taninos vermelhos, constituem grupos de polímeros coloridos, derivados de taninos condensados, formados pela polimerização das leucoantocianidinas (HEATON, WORTHINGTON e SHEWFELT, 1975; ROBINSON, 1975).

O processamento da noz-pecã resulta na obtenção de um volume relativamente elevado de casca (40 a 50%), subproduto industrial de cor avermelhada (WORLEY, 1994). Essas cascas vêm sendo utilizadas pela população do sul do Brasil na forma de chá como auxiliar no tratamento de várias patologias, sendo que seus possíveis efeitos benéficos podem estar relacionados a presença de substâncias com ação antioxidante. No entanto, os dados referentes a composição e atividade antioxidante da casca da noz-pecã, produzida no sul do Brasil, ainda são escassos. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi verificar a presença destes compostos, em extratos da casca de noz-pecã produzida no sul do Brasil.

Foi determinado o teor de compostos fenólicos totais e taninos condensados, a atividade antioxidante e as variações na cor da casca de noz-pecã produzida no sul do Brasil. Além disso, a atividade antioxidante dos extratos da casca determinada através do sistema β -caroteno / ácido linoléico foi comparada com a atividade antioxidante de um antioxidante natural comercial, composto de uma mistura de tocoferóis e a atividade antioxidante da mistura de extratos da casca de noz-pecã e de tocoferóis também foi analisada.

2 Metodologia

2.1 Matéria-prima

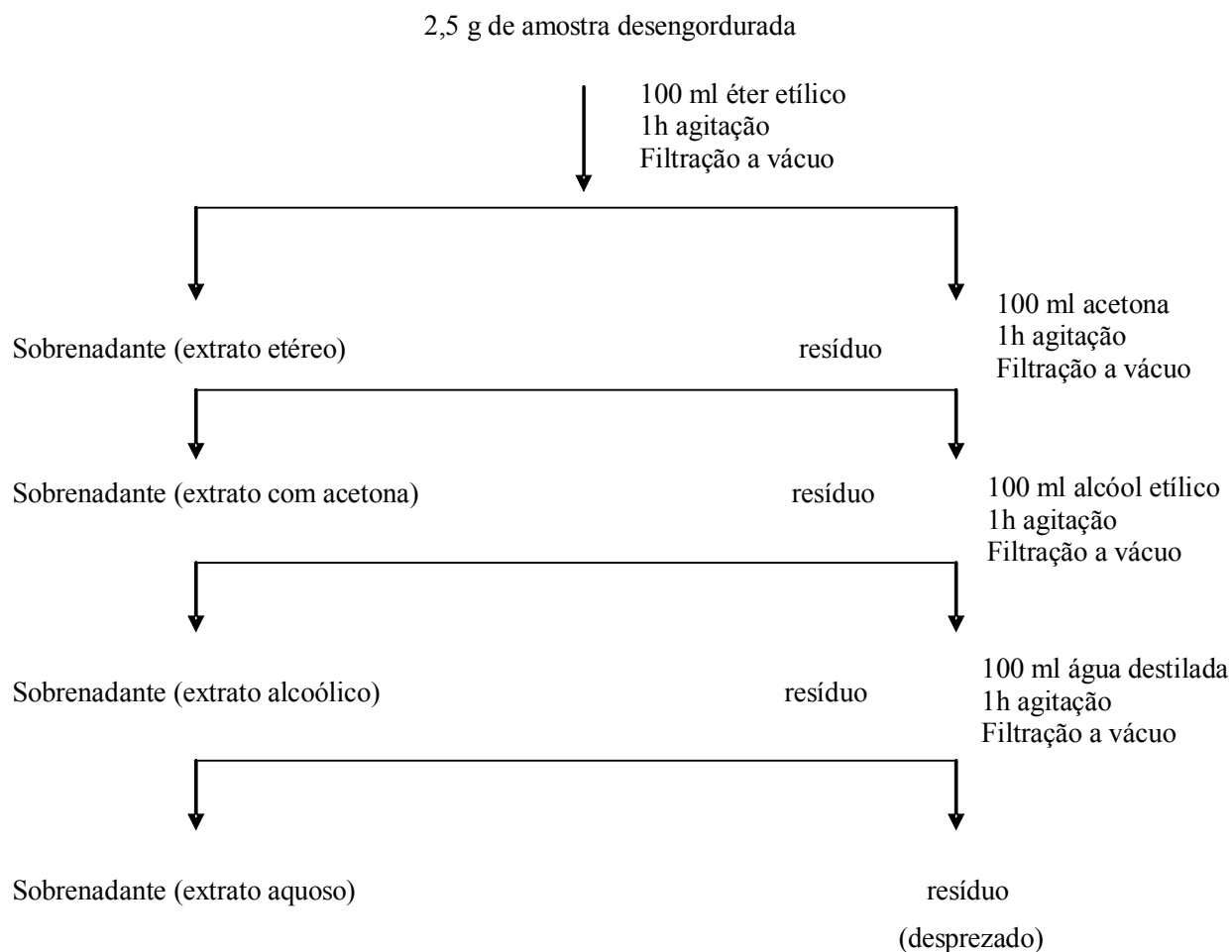
Casca de noz-pecã de 3 lotes diferentes (2 kg de cada lote), constituída de uma mistura das variedades Barton (cerca de 50%), Shoshone, Shawnee, Choctaw e Cape Fear; provenientes da colheita do ano de 2006.

Antioxidante natural comercial, com indicação para uso em óleos e gorduras vegetais e animais (de 100 a 500 ppm), composto de uma mistura de tocoferóis naturais (MT), contendo 0,64g de tocoferóis/g de produto (sendo 58,6% de γ - tocoferol, 25,1% de δ -tocoferol 14,7% de α -tocoferol e, 1,6% de β -tocoferol).

2.2 Preparo da amostra

2.2.1 Obtenção dos extratos da casca de noz-pecã

Após ser triturada em um processador de alimentos, a casca foi seca em estufa com circulação de ar (modelo 400/D 200°C da marca Nova Ética[®]), moída em moinho analítico de laboratório (modelo A-11 da marca IKA Works[®]), o pó peneirado a 60 mesh e, submetido à extração seqüencial com éter, acetona, álcool e água destilada a temperatura ambiente, conforme ilustra a Figura 1.



* após cada etapa de extração os resíduos foram secos em estufa com circulação de ar a 40°C até evaporação completa do solvente.

Figura 01 – Diagrama do procedimento de extração (MOREIRA, 2003).

Os extratos foram filtrados a vácuo em papel filtro, marca Whatman 541, 125 mm., e os volumes completados para 100 ml e armazenados em frasco âmbar, com atmosfera de nitrogênio, em *freezer* para análises posteriores (WILKINSON, 2000). A determinação do peso seco foi realizada por gravimetria, tomando-se uma alíquota de 5 ml em cadinho de porcelana, previamente tarado, seguido de secagem em estufa a 105,0 ± 0,5°C até peso constante (AOAC, 2005). As extrações foram realizadas em triplicata.

2.3 Determinação de compostos fenólicos totais

O conteúdo de fenólicos totais foi determinado utilizando o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu com algumas modificações (BEAL, 2006; BUDINI, TONELLI, GIROTTI, 1980). Alíquotas (100 µl) de diluições apropriadas dos extratos foram oxidadas com 500 µl do reagente de Folin-Ciocalteu, a reação foi neutralizada com 1,5 ml de carbonato de sódio saturado (75g/L) e, os volumes completados até 10 ml através da adição de água deionizada. Após incubação por 2 horas a temperatura ambiente, a absorbância da solução azul resultante foi medida a 764 nm. A quantificação foi feita com base em curva padrão de ácido gálico e os resultados expressos em mg GAE/g (equivalente de ácido gálico) em peso seco.

2.4 Determinação do teor de taninos condensados

Para a determinação do teor de taninos condensados procedeu-se de acordo com Price, Vanscoyoc e Butter (1978) e adaptado por Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007). Foram coletadas alíquotas de 1 ml de diluições apropriadas dos extratos e colocadas em 2 tubos de ensaio separados (1 para a amostra e outro para o branco). Após foram adicionados 5 ml do reagente Vanilina (0,5g de reagente e 200 mL de HCl 4%/metanol) para as amostras, e HCl 4%/metanol para o branco. Os tubos de ensaio foram mantidos ao abrigo da luz por um período de 20 minutos e as medidas das absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro em 500 nm. Os resultados foram expressos em mg CE/g (mg equivalente de catequina/g de amostra desengordurada).

2.5 Determinação da capacidade antioxidante

Método ABTS: o método ABTS [2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolona-6-ácido sulfônico)] foi realizado de acordo com Re et al. (1999) com algumas modificações. Após o preparo do radical ABTS (7mM - 0,03836g do reativo ABTS dissolvido em 10 ml de água deionizada), foi preparada uma solução de persulfato potássico (2,45 mM - 10 ml de ABTS e 10 ml de persulfato misturados, homogeneizados e mantidos num frasco âmbar pelo mínimo 16 horas protegido da luz). Para o ensaio da amostra, foi pipetada uma alíquota de 200 µl do radical formado e diluído em 10 ml de etanol 96° P.A. Medidas de absorbância em cubetas de 10 mm a 734 nm, foram realizadas para certificação da densidade óptica em torno de $0,700 \pm 0,05$. Uma alíquota de 980 µl do radical diluído foi pipetada e transferida para uma cubeta de 10 mm (1 ml) procedendo a

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]

medida da absorbância ($A_{754}=A_0$) adicionando imediatamente 20 μl da amostra e homogeneizando e agitando por alguns segundos. Trolox foi utilizado como padrão (15 μM = 0,13209g/500 ml). O cálculo da porcentagem de inibição do radical foi realizado pela seguinte fórmula: % de inibição do radical = $(1 - A_f/A_0) \times 100$, onde, “ A_0 ” é a absorbância inicial e “ A_f ” é a absorbância final. Os cálculos foram realizados para cada concentração de amostras analisadas de forma que ao obter os resultados se pôde realizar uma curva dose-resposta. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol TEAC/g}$ (capacidade antioxidante equivalente em Trolox).

Método DPPH: o método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), foi realizado de acordo com Brand-William, Cuvelier e Berset (1995) seguido de modificações conforme Kim et al. (2002) e Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007). Após o preparo do radical (0,1 mM - 0,03943g do reativo DPPH dissolvido em 10 ml de metanol a 80%), foi pipetada uma alíquota de 2,9 ml do mesmo e colocados para reagir em tubos de ensaio adicionados de 0,1 ml do extrato da casca de noz-pecã. As amostras foram mantidas ao abrigo da luz e, as medidas de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro a 515 nm após 30 minutos e 24 horas. Trolox foi utilizado como padrão (150 mg/L). O cálculo da porcentagem de inibição do radical foi realizado pela seguinte fórmula: % de inibição do radical = $(1 - A_f/A_0) \times 100$, onde, “ A_0 ” é a absorbância inicial e “ A_f ” é a absorbância final. Os cálculos foram realizados para cada concentração de amostras analisadas de forma que ao obter os resultados se pôde realizar uma curva dose-resposta. Os resultados foram expressos em mg TEAC/g (capacidade antioxidante equivalente em Trolox).

β -caroteno / ácido linoléico: a atividade antioxidante medida *in vitro* através do sistema modelo β -caroteno e ácido linoléico foi realizada seguindo-se a metodologia descrita por Marco (1968) e modificado por Miller (1971). β -caroteno foi dissolvido em clorofórmio (20 mg/ml). Uma alíquota de 20 μl desta solução foi colocada em um frasco erlenmeyer com 40 μl de ácido linoléico, 1ml de clorofórmio e 500 mg de Tween 40. O clorofórmio foi completamente evaporado com vapor de nitrogênio. Em seguida, adicionou-se 150 ml de água destilada deionizada saturada com oxigênio (30 min.) à emulsão de β -caroteno agitando a mistura. Foram adicionados 200, 300 e 500 ppm dos extratos da casca, e paralelamente concentrações iguais de um antioxidante comercial, composto de uma mistura de tocoferóis naturais (MT), que foi utilizado como antioxidante padrão. Além disso, o efeito sinergista foi avaliado através da

mistura dos extratos da casca e de tocoferóis nas concentrações de 100, 150 e 250 ppm de cada (E + MT 1:1). As leituras das absorvâncias a 470 nm foram realizadas em intervalos de 15 minutos por um período de 2 horas, mantendo as cubetas em banho-maria a 50°C. A atividade antioxidante foi calculada em termos de percentual de inibição, relativo ao controle, utilizando a seguinte equação: $AA = [(A_s - A_c) / (A_o - A_c)] \times 100$, onde A_s e A_c são, respectivamente, as absorvâncias da amostra e do controle ao final da análise e A_o é a absorvância da amostra (470 nm) no início do ensaio.

2.6 Análise instrumental da cor da casca da noz-pecã

Para a análise instrumental da cor foi utilizado colorímetro Minolta Chromo Meter CR 400 (Minolta, Osaka, Japão), acoplado a um processador DP-100, com iluminante D65 e ângulo de 10°. Foi utilizado o sistema de avaliação CIE Lab (Commission Internationale de Eclairage), escala de cor L^* , a^* , e b^* , onde L^* corresponde à luminosidade (0 = preto e 100 = branco); a^* corresponde à variação de cor de verde a vermelho [-80 até zero = verde (-a), de zero a +100 = vermelho (+a)]; b^* corresponde à variação de cor de azul a amarelo [-100 até zero = azul (-b), de zero a +70 = amarelo (+b)]. Também foram determinados o C^* (chroma), que indica a saturação da cor (proporção que a cor está misturada com o branco, preto ou cinza) e, H , que corresponde a tonalidade ou matiz, expressa em ângulos (0° = vermelho, 90° = amarelo, 180° = verde e 270° = azul, equivalentes ao +a, +b, -a e -b respectivamente).

2.7 Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do programa SAS “for Windows”. Os dados foram submetidos à análise de variância de comparação de médias ANOVA e testes de Tukey ($p < 0,05$). As análises foram realizadas em triplicata, com exceção da atividade antioxidante através do sistema β -caroteno / ácido linoléico, que foi realizada em duplicata.

3 Resultados e Discussão

Na Tabela 01 podem ser observados os teores de extrato seco (ES), compostos fenólicos totais (FT), taninos condensados (TC) e capacidade antioxidante (CA) dos extratos obtidos da casca de noz-pecã.

Tabela 01 – Extrato Seco, conteúdo de fenólicos totais, taninos condensados e atividade antioxidante, determinada pelos sistemas ABTS e DPPH, da casca de noz-pecã.

	Extrato	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média
ES^A (g/100g)	Éter	0,5 ^b ± 0,01	0,4 ^b ± 0,05	3,2 ^a ± 0,01	1,4 ± 1,6
	Acetona	7,9 ^b ± 0,5	10,4 ^a ± 0,3	10,6 ^a ± 1,3	9,6 ± 1,5
	Álcool	20,6 ^b ± 1,6	17,1 ^b ± 3,1	32,0 ^a ± 4,5	23,2 ± 7,8
	Água	2,0 ^b ± 0,2	2,0 ^b ± 0,4	3,8 ^a ± 0,04	2,6 ± 1,0
FT^B (mg GAE/g)	Éter	0,6 ^b ± 0,03	0,7 ^b ± 0,1	1,3 ^a ± 0,03	0,9 ± 0,4
	Acetona	39,4 ^a ± 0,1	49,2 ^a ± 0,1	49,4 ^a ± 0,03	46 ± 5,7
	Álcool	110,6 ^b ± 0,1	80,3 ^b ± 0,2	164,2 ^a ± 0,2	118,4 ± 42,5
	Água	2,4 ^b ± 0,03	2,9 ^b ± 0,2	6,7 ^a ± 0,06	4,0 ± 2,4
TC^C (mg CE/g)	Éter	nd**	nd**	nd**	-
	Acetona	151,8 ^b ± 0,04	201,3 ^a ± 0,03	202,3 ^a ± 0,1	185,1 ± 28,9
	Álcool	660,8 ^{ab} ± 0,1	495,2 ^b ± 0,2	1053,4 ^a ± 0,2	736,5 ± 286,7
	Água	nd**	nd**	nd**	-
CA_{ABTS}^D (µmol TEAC/g)	Éter	1,6 ^a ± 1,4	2,0 ^a ± 0,5	1,3 ^a ± 4,7	1,6 ± 0,4
	Acetona	1452,1 ^b ± 0,1	1828,9 ^a ± 0,01	1739,2 ^a ± 0,06	1673,4 ± 196,8
	Álcool	1560,3 ^b ± 0,2	1631,1 ^b ± 0,1	4610,4 ^a ± 0,1	2600,6 ± 174,1
	Água	44,6 ^b ± 0,2	52,8 ^b ± 0,3	368,3 ^a ± 0,1	155,2 ± 184,6
CA_{DPPH}^E 30 min (mg TEAC/g)	Éter	na***	na***	na***	-
	Acetona	155,4 ^b ± 0,08	218,5 ^a ± 0,03	245,3 ^a ± 0,1	206,4 ± 46,2
	Álcool	410,0 ^b ± 0,1	331,1 ^b ± 0,3	620,6 ^a ± 0,1	453,9 ± 149,7
	Água	na***	na***	na***	-
CA_{DPPH}^F 24 h (mg TEAC/g)	Éter	na***	na***	na***	-
	Acetona	294,3 ^b ± 0,06	258,8 ^b ± 0,01	390,6 ^a ± 0,1	314,6 ± 68,2
	Álcool	617,4 ^a ± 0,08	528,5 ^a ± 0,2	706,4 ^a ± 0,1	617,4 ± 89
	Água	na***	na***	na***	-

A: Extrato Seco - rendimento (ensaio gravimétrico); B: Fenólicos Totais - mg GAE/g (equivalentes em ácido gálico) de peso seco (ensaio de Folin-Ciocalteu); C: Taninos Condensados - mg CE/g (equivalentes de catequina) de peso seco (ensaio de Vanilina); D: Capacidade Antioxidante - µmol TEAC/g (atividade antioxidante equivalente em Trolox) de peso seco (ABTS); E: Capacidade Antioxidante - mg TEAC/g (atividade antioxidante equivalente em Trolox) de peso seco (DPPH – 30 minutos); F: Capacidade Antioxidante - mg TEAC/g (atividade antioxidante equivalente em Trolox) de peso seco (DPPH – 24 horas); média ± desvio padrão (n=3).

* valores com letras iguais na mesma linha não apresentam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$).

** (nd) níveis não detectados *** (na) não avaliado.

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]

De acordo com os resultados obtidos foi observado um maior rendimento para o extrato seco em álcool (23,2 %) e acetona (9,6 %), seguidos pela água e éter, com rendimentos muito inferiores (2,6 e 1,4 % respectivamente). Estes resultados estão de acordo com o teor de compostos fenólicos obtidos para estas frações, de $118,4 \pm 42,5$; $46 \pm 5,7$; $4 \pm 2,4$ e $0,9 \pm 0,4$ mg GAE/g respectivamente.

O lote 3 apresentou um rendimento de extração (éter: 3,2; acetona: 10,6; álcool: 32 e água: 3,8 %) e, teor de compostos fenólicos maior para todos os solventes testados (éter: $1,3 \pm 0,03$; acetona: $49,4 \pm 0,03$; álcool: $164,2 \pm 0,2$ e água: $6,7 \pm 0,06$ mg GAE/g), sendo a diferença significativa ($p < 0,05$) para os extratos alcoólico, aquoso e etéreo. Para o extrato em acetona os rendimentos de extração dos lotes 2 e 3 (10,4 e 10,6 %), foram significativamente maiores em relação ao lote 1 (7,9 %), mas o teor de fenólicos totais não diferiu significativamente entre os lotes.

Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007), reportaram em extratos de casca de noz-pecã de uma mistura de acetona e água (70:30, v/v) um teor de compostos fenólicos totais de 448 mg CAE/g (equivalentes de ácido clorogênico). De acordo com Kyoung Chun e Kim (2004), é possível fazer a conversão de CAE para GAE, assumindo um fator de conversão de 0,6. Desta forma, este resultado seria o equivalente a 80,64 mg GAE/g.

Os valores médios obtidos no presente trabalho, para as frações em éter, acetona e água foram muito inferiores aos reportados por Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007), ($0,9 \pm 1,6$; $46 \pm 5,7$ e $4,0 \pm 2,4$ mg GAE/g respectivamente) e, superior para o resultado médio obtido para a fração alcoólica ($118,4 \pm 42,5$ mg GAE/g).

A casca de noz-pecã apresentou teores de compostos fenólicos totais no extrato alcoólico semelhantes a matérias primas consideradas ricas em compostos fenólicos totais, como o chá verde e o cravo da Índia, que tiveram reportados teores de 117,3 e 113,2 mg GAE/g, respectivamente (SAMMAN, 2001; WU et al., 2004).

O teor de taninos condensados foi maior na fração alcoólica (média de $736,5 \pm 286,7$ mg CE/g), quando comparada com a fração em acetona, onde foram observadas baixas concentrações (média de $185,1 \pm 28,9$ mg CE/g). Para a fração alcoólica foi observada uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre os teores obtidos para o lote 3 ($1053,4 \pm 0,2$ mg CE/g) e o

lote 2 ($495,2 \pm 0,2$ mg CE/g), sendo que para o lote 1 ($660,8 \pm 0,1$ mg CE/g), as diferenças em relação aos lotes 2 e 3 não foram significativas ($p < 0,05$). Para a fração acetona foi observada uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre os lotes 2 e 3 ($201,3 \pm 0,03$ e $202,3 \pm 0,1$ mg CE/g respectivamente), e o lote 1 ($151,8 \pm 0,04$ mg CE/g CE). Os extratos etéreo e aquoso não apresentaram teores de taninos condensados em níveis detectados no ensaio.

Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007) reportaram valores inferiores de taninos condensados em extratos compostos de uma mistura de acetona e água (70:30, v/v), de casca de noz-pecã de diferentes cultivares do Texas nos Estados Unidos (média de 634 ± 67 mg CE/g).

Em função dos resultados obtidos para fenólicos totais e taninos condensados, nas frações etérea e aquosa, terem sido relativamente baixos, apresentando atividade antioxidante reduzida no sistema ABTS comparada as demais frações, os ensaios de atividade antioxidante através dos sistemas DPPH e β -caroteno e ácido linoléico foram realizados apenas para as frações em acetona e álcool.

A atividade antioxidante determinada pelos sistemas ABTS e DPPH após 30 minutos e 24 horas de reação, foi maior para o extrato alcoólico (média de $2600,6 \pm 174,1$ μ mol TEAC/g; $453,9 \pm 149,7$ e $617,4 \pm 89$ mg TEAC/g respectivamente). Estes resultados estão de acordo com os resultados de ES, FT e TC obtidos para esta fração. Para a fração alcoólica os resultados foram significativamente maiores ($p < 0,05$) para o lote 3 nos sistemas ABTS e DPPH após 30 minutos de reação e, no sistema DPPH após 24 horas de reação não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os lotes.

O extrato em acetona apresentou atividade antioxidante média no sistema ABTS de $1673,4 \pm 196,8$ μ mol TEAC/g e, no sistema DPPH após 30 minutos e 24 horas de reação de $206,4 \pm 46,2$ e $314,6 \pm 68,2$ mg TEAC/g respectivamente. Os resultados obtidos nos sistemas ABTS e DPPH após 30 minutos de reação foram significativamente ($p < 0,05$) para os lotes 2 e 3 ($1818,9$ e $1739,2$ μ mol TEAC/g no sistema ABTS e, $218,5$ e $245,3$ mg TEAC/g no sistema DPPH após 30 minutos de reação), quando comparados com o lote 1 ($1452,1$ μ mol TEAC/g no sistema ABTS e, $155,4$ e $294,3$ mg TEAC/g no sistema DPPH após 30 minutos de reação). Para o sistema DPPH, o extrato em acetona foi significativamente superior para o lote 3 e não diferiu significativamente nos lotes 1 e 2.

Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007) reportaram atividade antioxidante da casca de noz-pecã em extratos de acetona e água (70:30, v/v), no sistema DPPH após 24 horas de reação, de 487 ± 42 mg TEAC/g. Estes valores foram superiores para o extrato em acetona obtido no presente trabalho após 30 minutos e 24 horas de reação ($206,4 \pm 46,2$ e $314,6 \pm 68,2$ mg TEAC/g respectivamente), mas inferiores aos obtidos para a fração alcoólica (média de $453,9 \pm 149,7$ e $617,4 \pm 89$ mg TEAC/g respectivamente).

Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007) reportaram para a casca da noz-pecã valores de fenólicos totais, taninos condensados e atividade antioxidante (DPPH) de 6, 18 e 4,5 vezes superiores aos obtidos para a noz-pecã.

Os diferentes níveis dos compostos fenólicos, em determinados solventes observado nesse estudo, dependem entre diversos fatores, da natureza química dessas substâncias fenólicas (como os ácidos fenólicos, antocianinas e taninos), da interação com outros nutrientes e micronutrientes presentes na amostra e da polaridade do solvente empregado no procedimento de extração (SHAIDI e NACZK, 1995). Além disso, segundo a teoria do paradoxo polar, substâncias antioxidantes apolares ou de baixo balanço hidrofílico/lipofílico, funcionam relativamente melhor em emulsões lipídicas mais polares, enquanto antioxidantes de características mais hidrofílicas são mais efetivos em sistemas mais lipofílicos (PORTER, 1993).

A correlação entre o teor de compostos fenólicos totais (FT) e a atividade antioxidante determinada para os sistemas ABTS e DPPH, dos extratos, pode ser observada na figura 02.

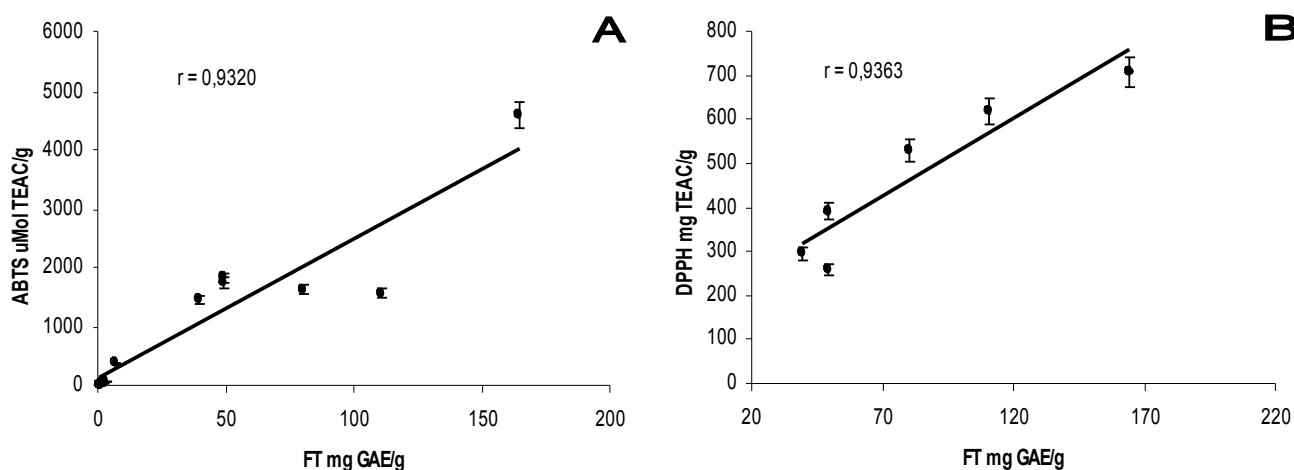


Figura 02 - (A) Correlação entre o conteúdo de fenólicos totais (FT) e a atividade antioxidante medida pelo método ABTS. (B) Correlação entre o conteúdo de fenólicos totais (FT) e a atividade antioxidante medida pelo método DPPH (24 horas).

Os resultados obtidos demonstram uma forte correlação entre o teor de fenólicos totais presentes na casca de noz-pecã e a atividade antioxidante dos extratos, obtidos no procedimento de extração seqüencial, nos sistemas ABTS ($r = 0,9320$) e DPPH ($r = 0,9363$). Os extratos que apresentaram o maior teor de compostos fenólicos totais (alcoólico), apresentaram também atividade antioxidante significativamente maior ($p < 0,05$) para os dois sistemas estudados.

Na Tabela 02, podem ser observados os percentuais da inibição da oxidação, medidos através do sistema modelo β -caroteno e ácido linoléico, para a mistura de tocoferóis naturais que foi utilizada como padrão (MT); para os extratos em acetona e álcool da casca de noz-pecã (200, 300 e 500 ppm), e para as misturas dos extratos e tocoferóis naturais na mesma proporção 1:1 (100, 150 e 250 ppm cada).

Tabela 02 – Percentual da inibição da oxidação dos tocoferóis (MT), dos extratos da casca de noz-pecã (acetona e álcool) e misturas dos extratos com tocoferóis na mesma proporção (E+MT 1:1), medidos *in vitro* através do sistema modelo β -caroteno e ácido linoléico.

<i>Extrato</i>	% inibição da oxidação em diferentes concentrações		
	200 ppm	300 ppm	500 ppm
MT (padrão)	23,4 ^C ± 4,9	42,3 ^B ± 1,4	62,2 ^A ± 0,7
Acetona - Lote 01	84,0 ^{Ba} ± 2,0	89,1 ^{ABa} ± 0,6	93,4 ^{Aa} ± 1,0
Acetona - Lote 02	81,4 ^{Ca} ± 0,7	90,5 ^{Ba} ± 0,5	94,9 ^{Aa} ± 0,6
Acetona - Lote 03	65,2 ^{Bb} ± 3,3	71,9 ^{Bb} ± 4,8	88,2 ^{Ab} ± 1,6
Álcool - Lote 01	66,7 ^{Bb} ± 1,6	83,7 ^{Aa} ± 4,2	89,7 ^{Aa} ± 1,6
Álcool - Lote 02	71,6 ^{Bb} ± 2,3	84,5 ^{Aa} ± 0,6	88,6 ^{Aa} ± 0,8
Álcool - Lote 03	82,0 ^{Aa} ± 0,1	84,5 ^{Aa} ± 0,1	89,6 ^{Aa} ± 3,5
Acetona + MT - Lote 01	73,4 ^{Ca} ± 1,3	83,8 ^{Ba} ± 0,6	90,2 ^{Aa} ± 0,1
Acetona + MT - Lote 02	70,6 ^{Ba} ± 1,8	77,4 ^{Ba} ± 3,8	89,3 ^{Aa} ± 0,8
Acetona + MT - Lote 03	43,1 ^{Cb} ± 1,4	61,7 ^{Bb} ± 2,4	79,8 ^{Ab} ± 2,0
Álcool + MT - Lote 01	49,0 ^{Bb} ± 4,6	66,0 ^{Aa} ± 3,6	78,7 ^{Aa} ± 1,3
Álcool + MT - Lote 02	50,7 ^{Cb} ± 2,7	66,6 ^{Ba} ± 1,8	83,1 ^{Aa} ± 1,3
Álcool + MT - Lote 03	68,1 ^{Ba} ± 0,1	69,9 ^{Ba} ± 2,5	83,7 ^{Aa} ± 4,0

* ppm: parte por milhão (1 mg/1000 mL); ** E+MT 1:1 (100, 150 e 250 ppm de cada) *** valores com letras iguais maiúsculas na mesma linha não apresentam diferenças significativas (Tukey $p < 0,05$); **** valores com letras iguais minúsculas na mesma coluna não apresentam diferenças significativas (Tukey $p < 0,05$) entre os lotes, para um mesmo tipo de amostra (Extrato ou Extrato + MT); ***** resultados expressos em porcentagem (%); média \pm desvio padrão (n=3).

Como pode ser observado na Tabela 02, na análise de atividade antioxidante pelo sistema modelo β -caroteno e ácido linoléico, a mistura de tocoferóis naturais utilizada como padrão (MT), apresentou percentuais de inibição da oxidação entre 23,4 a 62,2 %, sendo significativamente mais efetivo ($p < 0,05$) na concentração de 500 ppm. Estes resultados foram inferiores aos extratos de acetona e álcool e às misturas de extratos e tocoferóis naturais testados, que apresentaram valores significativamente superiores ($p < 0,05$).

A fração com acetona, apresentou percentual de inibição da oxidação entre 65,2 e 94,9 %. Os lotes 1 e 2 apresentaram percentuais da inibição da oxidação significativamente superiores ($p < 0,05$), sendo mais efetivo na concentração de 500 ppm.

Para o extrato alcoólico foi observada uma inibição da oxidação entre 66,7 a 89,7 %, sendo a concentração significativamente mais efetiva ($p < 0,05$) a de 500 ppm. Foram observadas diferenças significativas nos tratamentos entre os lotes, apenas na menor concentração testada

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]

onde o lote 3 apresentou percentual significativamente superior aos demais lotes analisados (82 %).

Os percentuais da inibição da oxidação para os extratos em acetona e álcool adicionados da mistura de tocoferóis ficaram entre 43,1 e 90,2 % e; 49 e 83,7 % respectivamente. Para as misturas de extratos em acetona e tocoferóis naturais, os lotes 1 e 2 apresentaram percentuais significativamente superiores ($p < 0,05$) em todas as concentrações testadas. Nas misturas de extratos alcoólicos e tocoferóis naturais, o lote 3 apresentou percentuais da inibição da oxidação significativamente superior ($p < 0,05$) aos demais lotes analisados (68,1%). Não foi observado efeito sinérgico entre a mistura dos extratos e o padrão utilizado.

Sabe-se que as diferentes concentrações das substâncias utilizadas como antioxidantes e, a natureza química das estruturas desses compostos, exercem forte influência no percentual de inibição da oxidação observado dependendo do meio onde são adicionados (FRANKEL et al., 1994; PORTER, 1993).

Duarte-Almeida et al. (2006), avaliou a atividade antioxidante de compostos fenólicos através do sistema β -caroteno e ácido linoléico. Eles determinaram a atividade antioxidante de vários compostos utilizados como padrões numa faixa de concentração de 700 a 1000 μ M. Os ácidos clorogênico (25 %), elágico (34%), gálico (41%) e, a catequina (34%) apresentaram percentuais de inibição do processo oxidativo inferiores aos observados para a mistura de tocoferóis naturais e amostras de extratos da casca de noz-pecã.

Tepe (2007), determinou a atividade antioxidante através do sistema β -caroteno e ácido linoléico para o BHT, α -tocoferol e ácido rosmarínico, fazendo uso de 350 μ L do extrato na concentração de 2g/L. Os percentuais de inibição do processo oxidativo foram de 96,0; 96,6 e 100 % para o BHT, α -tocoferol e ácido rosmarínico respectivamente, apresentando resultados próximos aos encontrados para a concentração de 500 ppm dos extratos da casca de noz-pecã em acetona.

Na Tabela 03 são apresentados os dados da avaliação instrumental da cor de três lotes de casca de noz-pecã produzida no sul do Brasil.

Tabela 03 - Avaliação instrumental da cor através do sistema CIE Lab (Comission Internationale de Eclairage) de três lotes de casca de noz-pecã produzida no sul do Brasil.

Parâmetros	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média
L*	35,3 ^a ± 0,1	36,4 ^a ± 1,2	32,2 ^b ± 0,7	34,6 ± 2,2
C*	8,2 ^{ab} ± 0,1	8,9 ^a ± 0,5	7,4 ^b ± 0,5	8,2 ± 0,7
a*	5,0 ^a ± 0,1	5,4 ^a ± 0,4	5,2 ^a ± 0,3	5,2 ± 0,2
b*	6,6 ^a ± 0,01	7,1 ^a ± 0,3	5,3 ^b ± 0,3	6,3 ± 0,9
H	52,7 ^a ± 0,7	52,4 ^a ± 0,7	45,9 ^b ± 0,2	50,3 ± 3,8

* L* = luminosidade, C* = saturação da cor, a* = Δ verde ao vermelho, b* = Δ amarelo ao azul, H = tonalidade ou matiz ** valores com letras iguais na mesma linha não apresentam diferença significativa (Tukey, p < 0,05) *** média ± desvio padrão (n=3).

De acordo com os resultados obtidos, a casca de noz-pecã apresentou valor médio de luminosidade (**L***) de 34,6 ± 2,2. Os lotes 1 e 2 apresentaram valores significativamente (p < 0,05) maiores (35,3 ± 0,1 e 36,4 ± 1,2) em relação ao lote 3 (32,2 ± 0,7).

Com relação a saturação da cor (**C***), a média apresentada foi de 8,2 ± 0,7, sendo que a diferença foi significativa entre os lotes 2 e 3 (8,9 ± 0,5 e 7,4 ± 0,5), não sendo observada diferença entre o lote 1 (8,2 ± 0,1) e os demais.

Para a variação da cor verde ao vermelho (**a***) não foram observadas diferenças entre os lotes (média de 5,2 ± 0,2). Para a variação da cor azul ao amarelo (**b***), os lotes 1 e 2 apresentaram resultados com tendência maior ao amarelo quando comparados com o lote 3. A mesma tendência dos lotes 1 e 2 para os tons mais amarelos, pode ser confirmada através da análise do parâmetro **H**, indicador da tonalidade ou matiz, que apresentou ângulos significativamente superiores (p < 0,05) para os lotes 1 e 2 comparado ao lote 3 (52,7 ± 0,7; 52,4 ± 0,7 e 45,9 ± 0,2 respectivamente). Os lotes 1 e 2 apresentaram cascas com coloração marrom claro, enquanto que o lote 3 apresentou uma casca mais avermelhada numa tonalidade marrom mais escura.

Senter e Forbus (1978) reportou que as alterações na coloração vermelho-marrom das nozes pode ser devido a oxidação da leucoantocianidina e leucodelfinidina presente na noz, aos seus respectivos flobafenos de graus variados de polimerização e, em menor extensão, pela reação de formação da cianidina e delfinidina. A relação entre acumulação de flobafeno

(pigmento vermelho) e as mudanças de coloração reportadas por Senter e Forbus (1978), juntamente com os resultados obtidos no presente trabalho, sugerem que as variações nos tons representados pelo ângulo **H** e parâmetro **a***, da coloração da casca da noz, possam estar diretamente relacionadas com a concentração de flobafenos, já que o lote número 3, que resultou tons com maior tendência ao vermelho, apresentou também teores superiores de taninos condensados comparados aos demais lotes analisados.

4 Conclusões

De acordo com os resultados obtidos, a fração alcoólica da extração seqüencial apresentou os maiores teores de fenólicos totais e taninos condensados extraídos da casca de noz-pecã, bem como uma atividade antioxidante elevada, determinada através de diferentes metodologias. Considerando o fato de que o método da extração seqüencial esgota a amostra à medida que esta é submetida à extração com diferentes solventes, conforme a solubilização dos mesmos durante o processo de extração, a casca da noz-pecã apresentou teores superiores para fenólicos totais e atividade antioxidante maior que os resultados reportados em trabalhos anteriores realizados por Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007).

O paradoxo polar, diferentes locais de produção, composição do solo, época de colheita, variações climáticas e o número de variedades de cultivares nos diferentes lotes, bem como os fatores geográficos e climáticos podem constituir fatores envolvidos diretamente com as diferenças nos teores de compostos fitoquímicos nos lotes analisados.

Novas pesquisas são necessárias para identificar e quantificar compostos fenólicos presentes na casca da noz-pecã, investigando a contribuição individual de cada composto à sua atividade antioxidante total. Dessa forma, poderá ser elucidada a ação e solubilização dessas substâncias fenólicas no sistema de solventes empregado neste trabalho, como também testar extratos que possam possuir atividade antioxidante em sistemas biológicos realizando estudos *in vivo*.

Agradecimentos

À empresa Divinut Ind. de Nozes Ltda, localizada na cidade de Cachoeira do Sul – RS, pelo fornecimento da matéria-prima e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

5 Referências

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the AOAC. 18th. Ed. AOAC, Arlington, VA, 2005.

BEAL, B.H. **Atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe)** 2006. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, [2006].

BRAMLEY, P. M.; ELMADFA, I.; KAFATOS, A.; KELLY, F. J.; MANIOS, Y.; ROXBOROUGH, H. E.; SCHUCH, W.; SHEEHY, P. J. A.; WAGNER, K-H. Review Vitamin E. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 913 - 938, 2000.

BRAND-WILLIAMS W.; CUVELIER A.E.; BERSET C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, **Lebensm.-Wiss. u.- Technol**, v. 28, p. 25 - 30, 1995.

BUDINI, R.; TONELLI, D.; GIROTTI, S. Analysis of total phenols using the Prussian blue method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, 1236-1238, 1980.

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

FRANKEL, E.N.; HUANG, S.-W.; KANNER, J.; GERMAN, J.B. Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: Bulk oils vs emulsions. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 42, p. 1054 - 1059, 1994.

HANACOCK, B.G. **Development of Pecan Industry**. In: Texas Pecan Handbook. Texas Agricultura, 1997 .

HEATON, E.K.; WORTHINGTON, R.E.; SHEWFELT, A.L. Pecan nut quality. Effect of time of harvest on composition, sensory and quality characteristics. **Journal Food Science** v. 40, p.1260, 1975.

JOLY, A.B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Nacional, 222 p., 1993.

KIM, D.O.; LEE, K.W.; LEE, H.J.; LEE, C.Y. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolics phytochemicals. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 50, p. 3713 - 3717, 2002.

KORNSTEINER, M.; WAGNER, K.H.; ELMADFA, I. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. **Food Chemistry**, v. 98, p.381 - 387, 2006.

KRIS-ETHERTON, P.M.; YU-POTH, S.; SABATÉ, J.; RATCLIFFE, H.E.; ZHAO, G.; ETHERTON, T.D. Nuts and their bioactive constituents: effects on serum lipids and other factors that affect disease risk. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, p.504 - 511, 1999.

KYOUNG CHUN, O.K.; KIM, D. Consideration on equivalent chemicals in total phenolic assay of chlorogenic acid-rich plums. **Food Research International**, v. 37, p. 337 - 342, 2004.

MARCO, G. J. A rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 45, p.494-598, 1968.

MILLER, H.E. A simplified method for the evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 48, p.91, 1971.

MOREIRA, A. V. B.; MANCINI FILHO, J. Atividade Antioxidante das Especiarias Mostarda, Canela e Erva-doce em sistemas aquoso e lipídico. **Nutrire – Journal of the Brazilian Society of Food and Nutrition**, v. 25, p. 31-46, 2003.

NOGALA-KALUCKA, M.; KORCZAK, J.; DRATWIA, M.; LAMPSRT-SZCZAPA, E.; SIGER, A.; BUCHOWSKI, M. Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests. **Food Chemistry**, v. 93, p. 227 – 235, 2005.

- ORO, T.; OGLIARI P.J.; AMBONI, R.D.M.C.; BARRERA-ARELLANO, D. y BLOCK, J.M. Evaluación de la calidad durante el almacenamiento de nueces Pecán [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] acondicionadas en diferentes envases. **Grasas y Aceites**, v. 59 (2), p. 132 - 138, 2008.
- POKORNÝ, J.; PARKÁNYIOVÁ, J. Lipids with antioxidant properties. **Healthful Lipids**. AOCS Press, 2005.
- PORTER, W.L. Paradoxical Behavior of antioxidants in food and biological systems. **Toxicology and Industrial Health**, v. 09 (1-2), p. 93 - 122, 1993.
- PRICE, M.L.; VAN SCOYOC, S.; BUTLER, L.G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 26, p. 1214 - 1218, 1978.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, n. 9/10, p.1231 -1 237, 1999.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANÇA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in plant science**, v.2, n.4, p.152 - 159, 1997.
- ROBINSON, T. **The organic constituents of higher plants. Their chemistry and interrelationships**. 3rd ed. Cordus Press, North Amherst, Mass, 1975.
- SAMMAN, S.; SANDSTRÖM, B.; TOFT, M.B.; BUKHAVE, K.; JENSEN, M.; SORENSEN, S.S. Green tea or rosemary extract added to foods reduces nonheme-iron absorption. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, p. 607 - 612, 2001.
- SANTOS-BUELGA, C. E.; SCALBERT, A. Proantocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**,v. 80, p. 1094 - 1117, 2000.
- SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavail-ability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v.130 (Suppl. 8S), p.2073S - 2085S, 2000.
- SENER, S.D.; FORBUS, JR W.R. Leucoanthocyanidin oxidation in pecan kernels: relation to discoloration and kernel quality. **Journal of Food Science**, v. 43, p. 128 - 134, 1978.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: souces, chemistry, effects and applications.**

Lancaster: Technomic Publishing, 1995. p. 281 - 319.

SOARES, S.E. Ácidos Fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p.71 - 81, 2002.

TEPE, B. Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia virgata* (Jacq), *Salvia staminea* (Montbret & Aucher ex Bentham) and *Salvia verbenacea* (L.) from Turkey. **Bioresource Technology**, v. 99 (6), p. 1584 - 1588, 2008.

VILLARREAL-LOZOYA, J.E.; LOMBARDINI, L.; CISNEROS-ZEVALLOS.

Phytochemical constituents and antioxidant capacity of different pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] cultivars. **Food Chemistry**, v.102, p. 1241-1249, 2007.

WAKELING, L.T.; MASON, R.L.; D'ARCY, B.R.; CAFFIN, N.A. Composition of pecan cultivars Wichita and Western Schley [*Caraya illinoensis* (Wangenh) K. Koch] grown in Australia. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p. 1277 - 1281, 2001.

WANASUNDARA, P.K.P.D.; SHAHIDI, F. Antioxidants: Science, Technology, and Applications. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Chemistry, Properties and Health Effects**. 6.ed., v.1, EUA, Wiley – interscience, 2005.

WILKINSON, J. Effect of ginger tea on the fetal development of Sprague-Dawley rats. **Reproductive Toxicology**, v. 14, p. 507 - 512, 2000.

WORLEY, R. E. Pecan physiology and composition. In C. R. Santerre (Ed.), **Pecan technology** . New York: Chapman &Hall, p. 39 – 45, 1994.

WU, X.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; GEBHARDT, S.E.; PRIOR, R.L. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p.4026 - 4037, 2004.

CAPÍTULO 3

**Propriedades antioxidantes do chá da casca de noz-pecã [*Carya illinoensis*
(Wangenh.) C. Koch]**

**Propriedades antioxidantes do chá da casca de noz-pecã [*Carya illinoensis*
(Wangenh.) C. Koch]**

Ana Cristina Pinheiro do Prado^a; Analu Monalise Aragão^a; Roseane Fett^a, e Jane Mara Block^{a*}.

^aUniversidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Rod. Ademar Gonzaga, 1346, Itacorubi, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil, CEP: 88040-900.

* e-mail:jmblock@cca.ufsc.br

Resumo

A composição nutricional, o teor de compostos fenólicos totais e de taninos condensados, da casca de noz-pecã foram determinados, e a atividade antioxidante de diferentes concentrações do chá da casca (200, 300 e 500 ppm), foram avaliadas através dos sistemas ABTS, DPPH e β -caroteno/ácido linoléico. A atividade antioxidante do chá foi comparada com a atividade de um antioxidante comercial, indicado para uso em óleos e gorduras em geral, composto de uma mistura de tocoferóis naturais (MT), nas mesmas concentrações e, o efeito sinérgico do chá e dos tocoferóis foi estudado através da mistura de concentrações iguais de ambos (100, 150 e 250 ppm de cada). De acordo com os resultados obtidos a casca apresentou um teor elevado de fibras (48,6 % \pm 0,06, sendo 45,5% de fibras insolúveis e 3,1% de fibras solúveis). O teor de compostos fenólicos totais determinado foi de 116,7 a 167,2 mg GAE/g e o de taninos condensados entre 35,5 e 48 mg CE/g. A atividade antioxidante medida através do sistema ABTS variou entre 1112,6 a 1763,2 μ mol TEAC/g. De acordo com a metodologia DPPH a atividade antioxidante foi de 305,6 a 488,4 mg TEAC/g (reação de 30 min.) e, de 482,5 a 683,7 mg TEAC/g (reação de 24 horas). Em ambos os métodos foi observada uma correlação elevada entre o conteúdo de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante ($r_{ABTS} = 0,9973$, $r_{DPPH} = 0,9980$). Os percentuais de inibição do processo oxidativo obtidos no sistema β -caroteno/ácido linoléico variaram de 70,2 a 96,4% nas diferentes concentrações analisadas, sendo que as concentrações de 500 ppm apresentaram resultados significativamente superiores aos testes com os tocoferóis naturais e com as misturas de tocoferóis e chá. Os resultados indicaram um teor elevado de compostos fenólicos na casca e elevada atividade antioxidante do chá da casca de noz-pecã.

Palavras chave: casca de noz-pecã, composição nutricional, atividade antioxidante, compostos fenólicos, chá.

1 Introdução

Muitos estudos têm demonstrado uma relação inversa entre o consumo de frutas, vegetais e cereais com a incidência de doenças cardiovasculares e câncer entre outras. Estas doenças estão associadas à oxidação nos sistemas biológicos devido à ação de radicais livres (RL) no organismo (SCALBERT e WILLIAMSON, 2000). Os RL são moléculas que contêm um elétron isolado, o que as torna espécies instáveis e extremamente reativas, responsáveis por alterações em alguns componentes celulares, podendo desencadear reações de oxidação nos ácidos graxos da membrana lipoprotéica, afetando sua integridade estrutural e funcional. Os processos oxidativos podem ser retardados através da modificação das condições ambientais ou pela utilização de substâncias antioxidantes (SOARES, 2002; RICE-EVANS, MILLER e PAGANÇA, 1997).

Diversos ensaios *in vivo* e *in vitro* vêm comprovando a atividade antioxidante de uma ampla variedade de substâncias, entre elas os compostos fenólicos. Esta atividade biológica tem sido atribuída às propriedades de óxido-redução dos compostos fenólicos, desempenhando um importante papel na adsorção ou neutralização de radicais livres (BASILE et al., 2005).

Entre os alimentos tradicionalmente utilizados, as nozes têm sido recomendadas na dieta tendo em vista seus efeitos benéficos à saúde. A noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch], pertence à família juglandaceae e é originária do sul dos Estados Unidos e norte do México (HANACOCK, 1997). No Brasil, o gênero *Carya*, conhecido como nogueira-pecã, se desenvolve no sul e sudeste (JOLY, 1993). A noz-pecã apresenta baixo conteúdo de ácidos graxos saturados, e índices elevados de ácidos graxos monoinsaturados e polinsaturados. Evidências indicam também a presença de moléculas bioativas, tais como esteróis e tocoferóis e, conteúdo expressivo de compostos fenólicos totais com possível ação antioxidante natural (KORNSTEINER, WAGNER e ELMADFA, 2006; KRIS-ETHERTON et al, 1999). Um grupo importante de compostos fenólicos presentes em vegetais são os taninos, metabólitos secundários das plantas, que podem ser encontrados na forma condensada ou hidrolisada. Essas moléculas são de grande interesse nutricional e medicinal em função da sua potente capacidade antioxidante (SANTOS-BUELGA e SCALBERT, 2000).

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]

O processamento da noz-pecã resulta na obtenção de um volume relativamente elevado de casca (40 a 50%), subproduto industrial de cor avermelhada, que pode constituir uma fonte alternativa de compostos com alta capacidade antioxidante (WORLEY, 1994). No sul do Brasil a casca de noz-pecã é utilizada como chá, mas não existem estudos a respeito da composição da casca e de compostos com possíveis efeitos benéficos. Desta forma o presente trabalho teve como objetivo determinar a composição nutricional, o teor de compostos fenólicos totais e taninos condensados do chá da casca de noz-pecã e, avaliar a atividade antioxidante de extratos do chá de noz-pecã *in vitro* através dos sistemas ABTS [2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)]; DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e β -caroteno / ácido linoléico. A atividade antioxidante do chá determinada através do sistema β -caroteno / ácido linoléico foi comparada com um antioxidante comercial, composto de uma mistura de tocoferóis naturais, com indicação de uso em óleos e gorduras e, com a mistura de chá e tocoferóis na mesma proporção.

2 Materiais e Métodos

2.1 Matéria-prima

Chá da casca de noz-pecã de 3 lotes diferentes (2 kg de cada lote), constituído de uma mistura das variedades de cascas de nozes das cultivares Barton (cerca de 50%), Shoshone, Shawnee, Choctaw e Cape Fear; provenientes da colheita do ano de 2006.

Antioxidante natural comercial, com indicação para uso em óleos e gorduras vegetais e animais (de 100 a 500 ppm), composto de uma Mistura de Tocoferóis naturais (MT), contendo 0,64g de tocoferóis/g de produto (sendo 58,6% de γ - tocoferol, 25,1% de δ -tocoferol 14,7% de α -tocoferol e, 1,6% de β -tocoferol).

2.2 Metodologia

2.2.1 Composição nutricional

A composição nutricional da casca de noz-pecã foi determinada de acordo com a metodologia oficial da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2005), através das seguintes análises: umidade (925.09); proteínas (920.87); lipídios totais (920.85); fibras totais, solúveis e insolúveis (991.43) e minerais representados pelas cinzas (923.03); os carboidratos foram estimados por diferença.

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]

2.2.2 Obtenção do chá da casca de noz-pecã

Após ser triturada em um processador de alimentos, a casca de noz-pecã foi seca em estufa com circulação de ar (modelo 400/D 200°C da marca Nova Ética[®]), moída em moinho analítico de laboratório (modelo A-11 da marca IKA Works[®]) e, peneirada a 60 mesh. Dois gramas da amostra foram colocados sob infusão em 100 mL água destilada (20 g/L em base seca), a uma temperatura de 98/100°C durante 10 minutos seguidos de imersão em banho de gelo. Procedeu-se a filtração a vácuo em papel filtro, marca Whatman 541, 125 mm. Os volumes foram completados para 100 mL e os extratos obtidos em triplicata foram armazenados em frasco âmbar, com atmosfera de nitrogênio, sob congelamento para análises posteriores (WILKINSON, 2000). A determinação do peso seco foi realizada por gravimetria, tomando-se uma alíquota de 5 mL em cadinho de porcelana, previamente tarado, seguido de secagem em estufa a $105,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ até peso constante (AOAC, 2005).

2.2.3 Determinação de compostos fenólicos totais

O conteúdo de fenólicos totais foi estimado utilizando o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu com algumas modificações (BEAL, 2006; BUDINI, TONELLI, GIROTTI, 1980). Alíquotas (100 µL) de diluições apropriadas dos extratos do chá foram oxidadas com 500 µL do reagente de Folin-Ciocalteu, a reação foi neutralizada com carbonato de sódio saturado (75g/L; 1,5 ml) e os volumes completados até 10 ml através da adição de água deionizada. Após incubação por 2 horas a temperatura ambiente, a absorbância da solução azul resultante foi medida a 764 nm. As análises foram realizadas em triplicata. A quantificação foi feita com base em uma curva padrão de ácido gálico e os resultados expressos em mg GAE/g (equivalente de ácido gálico) em peso seco.

2.2.4 Determinação do teor de taninos condensados

Para a determinação do teor de taninos condensados procedeu-se de acordo com Price, Vanscoyoc e Butter (1978) adaptado por Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007). Foram coletadas alíquotas de 1 ml de diluições apropriadas dos extratos e colocadas em 2 tubos de ensaio separados (1 para a amostra e outro para o branco). Após foram adicionados 5 ml do reagente Vanilina (0,5g de reagente e 200 ml de HCl 4%/metanol) para as amostras, e HCl 4%/metanol para o branco. Os tubos de ensaio foram mantidos ao abrigo da luz por um período

de 20 minutos e as medidas das absorvâncias foram realizadas em espectrofotômetro em 500 nm. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em mg CE/g (mg equivalente de catequina/g de amostra desengordurada).

2.2.5 Determinação da capacidade antioxidante

Método ABTS: o método ABTS [2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico)] foi realizado de acordo com Re et al. (1999) com algumas modificações. Após o preparo do radical ABTS (7mM - 0,03836g do reativo ABTS dissolvido em 10 ml de água deionizada), foi preparada uma solução de persulfato potássico (2,45 mM - 10 ml de ABTS e 10 ml de persulfato misturados, homogeneizados e mantidos num frasco âmbar pelo mínimo 16 horas protegido da luz). Para o ensaio da amostra, foi pipetada uma alíquota de 200 µl do radical formado e diluído em 10 ml de etanol 96° P.A. Medidas de absorvância em cubetas de 10 mm a 734 nm, foram realizadas para certificação da densidade óptica em torno de $0,700 \pm 0,05$. Uma alíquota de 980 µl do radical diluído foi pipetada e transferida para uma cubeta de 10 mm (1 ml) procedendo a medida da absorvância ($A_{754}=A_0$) adicionando imediatamente 20 µl da amostra e homogeneizando e agitando por alguns segundos. Trolox foi utilizado como padrão (15 µM=0,13209g/500 ml). O cálculo da porcentagem de inibição do radical foi realizado pela seguinte fórmula: % de inibição do radical = $(1 - A_f/A_0) \times 100$, onde, "A₀" é a absorvância inicial e "A_f" é a absorvância final. Os cálculos foram realizados para cada concentração de amostras analisadas de forma que ao obter os resultados se pôde realizar uma curva dose-resposta. Os resultados foram expressos em µmol TEAC/g (capacidade antioxidante equivalente em Trolox). As análises foram realizadas em triplicata.

Método DPPH: o método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), foi realizado de acordo com Brand-William, Cuvelier e Berset (1995) seguido de modificações conforme Kim et al. (2002) e Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007). Após o preparo do radical (0,1 mM - 0,03943g do reativo DPPH dissolvido em 10 ml de metanol a 80%), foi pipetada uma alíquota de 2,9 ml do mesmo e colocados para reagir em tubos de ensaio adicionados de 0,1 ml do extrato do chá. As amostras foram mantidas ao abrigo da luz e, as medidas de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro a 515 nm após 30 minutos e 24 horas. Trolox foi utilizado como padrão (150 mg/L). O cálculo da porcentagem de inibição do radical foi realizado pela seguinte fórmula: % de inibição do radical = $(1 - A_f/A_0) \times 100$, onde, "A₀" é a absorvância inicial e "A_f" é a

absorbância final. Os cálculos foram realizados para cada concentração de amostras analisadas de forma que ao obter os resultados se pôde realizar uma curva dose-resposta. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em mg TEAC/g (capacidade antioxidante equivalente em Trolox).

Sistema β -caroteno / ácido linoléico: a atividade antioxidante medida *in vitro* através do sistema modelo β -caroteno e ácido linoléico foi realizada seguindo-se a metodologia descrita por Marco (1968) e modificado por Miller (1971). β -caroteno foi dissolvido em clorofórmio (20 mg/ml). Uma alíquota de 20 μ l desta solução foi colocada em um frasco erlenmeyer com 40 μ l de ácido linoléico, 1mL de clorofórmio e 500 mg de Tween 40. O clorofórmio foi completamente evaporado com vapor de nitrogênio. Em seguida, adicionou-se 150 ml de água destilada deionizada saturada com oxigênio (30 min.) à emulsão de β -caroteno agitando a mistura. Foram adicionados 200, 300 e 500 ppm dos extratos do chá, e paralelamente concentrações iguais de um antioxidante comercial, com indicação de uso em óleos e gorduras em geral, composto de uma mistura de tocoferóis naturais (MT), que foi utilizado como antioxidante padrão. Além disso, o efeito sinergista foi avaliado através da mistura dos extratos do chá e de tocoferóis nas concentrações de 100, 150 e 250 ppm de cada (E + MT 1:1). As leituras das absorbâncias a 470 nm foram realizadas em intervalos de 15 minutos por um período de 2 horas, mantendo as cubetas em banho-maria a 50°C. A atividade antioxidante foi calculada em termos de percentual de inibição, relativo ao controle, utilizando a seguinte equação: $AA = [(As - Ac) / (Ao - Ac)] \times 100$, onde As e Ac são, respectivamente, as absorbâncias da amostra e do controle ao final da análise e Ao é a absorbância da amostra (470 nm) no início do ensaio. As análises foram realizadas em duplicata.

2.2.6 Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do programa SAS “for Windows”. Os dados foram submetidos à análise de variância de comparação de médias ANOVA e testes de Tukey ($p < 0,05$).

3 Resultados e Discussão

Na Tabela 01 são apresentados os resultados da composição nutricional da casca da noz-pecã.

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]

Tabela 01 – Composição nutricional da casca de noz-pecã.

Componente (g/100g) ¹	Casca de noz-pecã Média ± desvio padrão (n=3)
Proteínas ²	2,2 ± 0,04
Umidade	16,8 ± 0,1
Lipídios totais	1,1 ± 0,1
Minerais	1,4 ± 0,03
Fibra total	48,6 ± 0,06
Fibra solúvel	3,1 ± 0,09
Fibra insolúvel	45,4 ± 0,4
Carboidratos ³	29,6
Valor calórico ⁴ (kcal/100g)	331,6

1Média ± desvio padrão (n=3); ²N x 6,25; ³Calculado por diferença: 100 – (% lipídios totais + % proteínas + % umidade + % minerais + % fibra total). ⁴Calculado pela soma das porcentagens de proteínas e carboidratos multiplicados pelo fator 4 (kcal/g) mais o conteúdo de lipídios totais multiplicado por 9 (kcal/g).

De acordo com os resultados obtidos, o conteúdo de fibras representa a fração principal da casca da noz (48,6%), seguido do teor de carboidratos (29,6%), umidade (16,8%) e teores reduzidos de proteínas (2,2%) e lipídios totais (1,1%).

Na Tabela 02 podem ser observados os teores de Extrato Seco (ES), Compostos Fenólicos totais (FT), Taninos Condensados (TC) e a Capacidade Antioxidante (CA) do chá da casca de noz-pecã.

Tabela 02 – Extrato seco, conteúdo de fenólicos totais, taninos condensados e capacidade antioxidante do chá da casca de noz-pecã.

	ES ^A (g/100g)	FT ^B (mg GAE/g)	TCC ^C (mg CE/g)	CA _{ABTS} ^D (μ mol TEAC/g)	CA _{DPPH} ^E 30 min (mg TEAC/g)	CA _{DPPH} ^F 24 h (mg TEAC/g)
Lote	20,9 ^b \pm 1,3	116,7 ^b \pm 6,7	35,5 ^a \pm 12,8	1112,6 ^b \pm 13,8	305,56 ^b \pm 3,4	482,5 ^b \pm 61,5
01						
Lote	20,9 ^b \pm 3,3	130,8 ^b \pm 11,5	46,8 ^a \pm 8,3	1338,2 ^b \pm 19,5	361,32 ^b \pm 3,9	550,5 ^{ab} \pm 63,7
02						
Lote	29,6 ^a \pm 2,3	167,2 ^a \pm 9,8	48,0 ^a \pm 14,8	1763,2 ^a \pm 8,6	488,45 ^a \pm 2,0	683,7 ^a \pm 34,6
03						
Média	23,8 \pm 5	138,2 \pm 26,1	43,4 \pm 6,9	1404,7 \pm 330,4	385,1 \pm 93,7	572,2 \pm 102,3

A: Extrato Seco - rendimento (ensaio gravimétrico); B: Fenólicos Totais - mg GAE/g (equivalentes em ácido gálico) de peso seco (ensaio de Folin-Ciocalteu); C: Taninos Condensados - mg CE/g (equivalentes de catequina) de peso seco (ensaio de Vanilina); D: Capacidade Antioxidante - μ mol TEAC/g (atividade antioxidante equivalente em Trolox) de peso seco (ABTS); E: Capacidade Antioxidante - mg TEAC/g (atividade antioxidante equivalente em Trolox) de peso seco (DPPH – 30 minutos); F: Capacidade Antioxidante - mg TEAC/g (atividade antioxidante equivalente em Trolox) de peso seco (DPPH – 24 horas); média para extrato seco do chá \pm desvio padrão (n=3).

* valores com letras iguais na mesma linha não apresentam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$).

Os resultados obtidos para os extratos secos dos diferentes lotes, demonstram um rendimento superior no procedimento de extração para o lote 3 (29,6 \pm 2,3 g/100g), que apresentou também um teor significativamente maior ($p < 0,05$) de compostos fenólicos (167,2 \pm 9,8 mg GAE/g). Os lotes 1 e 2 apresentaram rendimento de extração semelhantes (20,9 g/100g) e a diferença no teor de compostos fenólicos não foi significativa (116,7 \pm 6,7 e 130,8 \pm 11,5 mg GAE/g respectivamente).

Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007), reportaram em extratos de casca de noz-pecã de uma mistura de acetona e água (70:30, v/v) um teor de compostos fenólicos totais de 448 mg CAE/g (equivalentes de ácido clorogênico) ou 80,64 mg GAE/g, assumindo um fator de conversão de 0,6 de CAE para GAE (KYOUNG CHUN e KIM, 2004). Esses valores foram inferiores aos encontrados no presente trabalho, assim como para matérias-primas consideradas ricas em compostos fenólicos como o cravo-da-índia, que, de acordo com Wu et al.,

(2004) apresenta 113,19 mg GAE/g e; o chá verde com 117,30 mg GAE/g de acordo com Samman et al., (2001).

O teor de taninos condensados determinados, não diferiu significativamente ($p < 0,05$) entre os lotes ($35,52 \pm 12,84$; $46,77 \pm 8,30$ e $48,02 \pm 14,82$ mg CE/g para os lotes 1, 2 e 3 respectivamente). Esses valores estão de acordo com Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007), que reportaram uma média de $42 \pm 1,5$ mg CE/g em diferentes cultivares analisadas.

Com relação a atividade antioxidante determinada através do sistema ABTS, os extratos obtidos do lote número 3 apresentaram valores significativamente superiores ($p < 0,05$) aos encontrados nos lotes 1 e 2 ($1763,2 \pm 8,63$; $1112,6 \pm 13,80$ e $1338,2 \pm 19,47$ $\mu\text{mol TEAC/g}$ respectivamente).

Resultados semelhantes foram observados para a atividade antioxidante determinada com o radical DPPH durante 30 minutos de reação, com valores significativamente superiores ($p < 0,05$) para o lote 3 ($488,45 \pm 41,97$ mg TEAC/g), quando comparados aos valores determinados nos lotes 1 e 2 ($305,56 \pm 43,42$ e $361,32 \pm 53,94$ mg TEAC/g respectivamente). Para o mesmo procedimento realizado com 24 horas de reação com o radical DPPH, o lote 3 também apresentou atividade maior ($683,75 \pm 34,61$ mg TEAC/g), seguido pelo lote 2 ($550,48 \pm 63,72$ mg TEAC/g). O lote 1 apresentou atividade significativamente inferior ($p < 0,05$), em relação aos lotes 2 e 3 ($482,48 \pm 61,50$ mg TEAC/g).

Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007) reportaram uma atividade antioxidante média para extratos de casca de noz-pecã de uma mistura de acetona e água (70:30, v/v) menor do que os resultados obtidos nos lotes 2 e 3 no presente trabalho (487 ± 42 mg TEAC/g). Esses pesquisadores demonstraram em seus estudos uma elevada atividade antioxidante da casca da noz-pecã, apresentando um conteúdo de fenólicos totais, capacidade antioxidante (DPPH) e taninos condensados superior em aproximadamente 6, 4.5 e 18 vezes respectivamente, em relação ao conteúdo encontrado na noz.

Na Figura 01 pode ser observada a correlação entre o teor de compostos fenólicos totais (FT) e a atividade antioxidante determinada para os sistemas ABTS e DPPH.

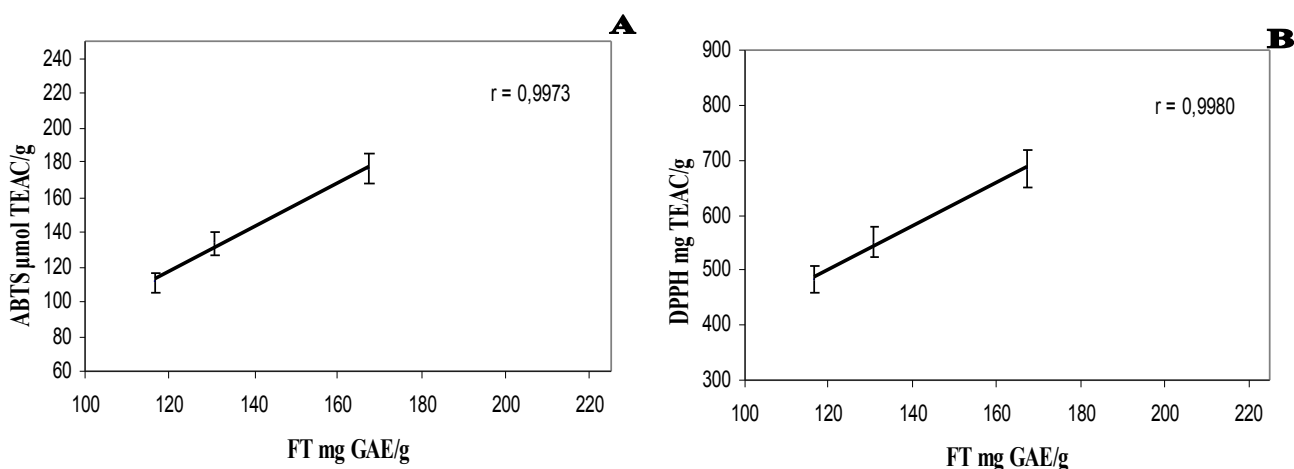


Figura 01 - (A) Correlação entre o conteúdo de fenólicos totais (FT) e a atividade antioxidante medida pelo método ABTS. (B) Correlação entre o conteúdo de fenólicos totais (FT) e a atividade antioxidante medida pelo método DPPH (24 horas).

Os resultados obtidos demonstram uma forte correlação entre o teor de fenólicos totais presentes na casca de noz-pecã e a atividade antioxidante dos extratos nos sistemas ABTS ($r=0,9973$) e DPPH ($r = 0,9980$). A amostra que apresentou o maior teor de compostos fenólicos (lote 3), apresentou também atividade antioxidante significativamente maior ($p < 0,05$) para os dois sistemas estudados.

Na Tabela 03, podem ser observados os percentuais da inibição da oxidação para a mistura de tocoferóis naturais que foi utilizada como padrão (MT); para o chá da casca de noz-pecã e para as misturas do chá e tocoferóis naturais na mesma proporção (100, 150 e 250 ppm cada), medidos *in vitro* através do sistema modelo β -caroteno e ácido linoléico para os diferentes lotes estudados.

Tabela 03 – Percentual da inibição da oxidação dos tocoferóis (MT), dos extratos do chá da casca de noz-pecã e misturas dos extratos com tocoferóis na mesma proporção (E+MT 1:1), medidos *in vitro* através do sistema modelo β -caroteno e ácido linoléico.

<i>Amostra</i>	<i>% inibição da oxidação em diferentes concentrações</i>		
	<i>200 ppm</i>	<i>300 ppm</i>	<i>500 ppm</i>
MT (padrão)	21,7 ^C ± 0,2	40,6 ^B ± 0,2	57,6 ^A ± 0,6
Extrato - Lote 01	70,2 ^{Cb} ± 2,2	79,0 ^{Bc} ± 0,6	89,5 ^{Ab} ± 0,7
Extrato - Lote 02	81,1 ^{Ba} ± 0,9	85,3 ^{Bb} ± 0,1	95,3 ^{Aa} ± 0,1
Extrato - Lote 03	84,3 ^{Ca} ± 1,5	89,0 ^{Ba} ± 0,9	96,4 ^{Aa} ± 0,8
E + MT - Lote 01	55,5 ^{Cb} ± 0,2	70,9 ^{Bb} ± 1,2	79,0 ^{Ab} ± 0,1
E + MT - Lote 02	70,8 ^{Ba} ± 1,9	75,4 ^{Bab} ± 1,9	85,4 ^{Aa} ± 1,0
E + MT - Lote 03	67,9 ^{Ca} ± 0,9	79,2 ^{Ba} ± 1,2	87,9 ^{Aa} ± 1,7

* ppm: parte por milhão (1 mg/1000 mL); ** E+MT 1:1 (100, 150 e 250 ppm de cada) *** valores com letras iguais maiúsculas na mesma linha não apresentam diferenças significativas (Tukey $p < 0,05$); **** valores com letras iguais minúsculas na mesma coluna não apresentam diferenças significativas (Tukey $p < 0,05$) entre os lotes, para um mesmo tipo de amostra (Extrato ou Extrato + MT); **** resultados expressos em porcentagem (%); média \pm desvio padrão (n=3).

O percentual de inibição da oxidação para as diferentes concentrações em cada lote foram significativas ($p < 0,05$), exceto para as concentrações de 200 e 300 ppm no lote 2, que não apresentaram diferença estatística significativa.

Para os resultados obtidos entre os lotes, o lote 3 apresentou uma diferença significativamente superior ($p < 0,05$) aos resultados obtidos para o lote 1 em todas as concentrações de chá e mistura de chá e tocoferóis. Para os lotes 2 e 3 foi observada diferença significativa apenas para a concentração de 300 ppm. Entre os lotes 1 e 2 as diferenças foram significativas para as concentrações de 200 e 500 ppm.

Os extratos do chá apresentaram os maiores percentuais de inibição da oxidação quando comparados com os tocoferóis e as misturas de chá e tocoferóis, indicando que não houve efeito sinérgico entre os componentes.

A concentração de 500 ppm nas 3 condições estudadas (tocoferóis, chá e mistura de tocoferóis e chá) apresentou um percentual de inibição significativamente superior ($p < 0,05$) e, o chá de noz-pecã apresentou um percentual de inibição do processo oxidativo significativamente

superior ($p < 0,05$) em todas as concentrações estudadas, quando comparado ao padrão de tocoferóis e as misturas de tocoferóis e chá de noz-pecã.

4 Conclusões

Os resultados obtidos indicaram um teor elevado de compostos fenólicos totais e taninos condensados no chá da casca de noz-pecã bem como uma atividade antioxidante elevada, determinada através de diferentes metodologias. Mais pesquisas são necessárias para isolar, identificar e quantificar compostos fenólicos da casca de noz-pecã, para que seja possível investigar a contribuição individual de cada composto na atividade antioxidante total. Estudos a respeito da atividade *in vivo* e experimentos toxicológicos são necessários para o uso seguro do chá da casca de noz-pecã.

Agradecimentos

À empresa Divinut Ind. de Nozes Ltda, localizada na cidade de Cachoeira do Sul – RS, pelo fornecimento da matéria-prima e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

5 Referências

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the AOAC. 18th. Ed. AOAC, Arlington, VA, 2005.

BASILE, A.; FERRARA, L.; DEL POZZO, M. MELE, G.; SORBO, S.; BASSI, P.; MONTESANO, D. Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extract from *Paullinia cupana* Mart. **J Ethnopharmacol**, v. 102, p. 32 - 36, 2005.

BEAL, B.H. **Atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe)** 2006. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, [2006].

BRAND-WILLIAMS W.; CUVELIER A.E.; BERSET C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, **Lebensm.-Wiss. u.- Technol**, v. 28, p. 25 - 30, 1995.

BUDINI, R.; TONELLI, D.; GIROTTI, S. Analysis of total phenols using the Prussian blue method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, 1236-1238, 1980.

- HANACOCK, B.G., 1997. **Development of Pecan Industry**. In: Texas Pecan Handbook. Texas Agricultura.
- JOLY, A.B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Nacional, 222 p., 1993.
- KIM, D.O.; LEE, K.W.; LEE, H.J.; LEE, C.Y. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolics phytochemicals. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 50, p. 3713 - 3717, 2002.
- KORNSTEINER, M.; WAGNER, K.H.; ELMADFA, I. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. **Food Chemistry**, v. 98, p.381 - 387, 2006.
- KRIS-ETHERTON, P.M.; YU-POTH, S.; SABATÉ, J.; RATCLIFFE, H.E.; ZHAO, G.; ETHERTON, T.D. Nuts and their bioactive constituents: effects on serum lipids and other factors that affect disease risk. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, p.504 - 511, 1999.
- KYOUNG CHUN, O.K.; KIM, D. Consideration on equivalent chemicals in total phenolic assay of chlorogenic acid-rich plums. **Food Research International**, v. 37, p. 337 - 342, 2004.
- MARCO, G. J. A rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 45, p.494-598, 1968.
- MILLER, H.E. A simplified method for the evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 48, p.91, 1971.
- PRICE, M.L.; VAN SCOYOC, S.; BUTLER, L.G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 26, p. 1214 - 1218, 1978.
- RE, R; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, n. 9/10, p.1231 -1 237, 1999.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANÇA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in plant science**, v.2, n.4, p.152 - 159, 1997.

- SAMMAN, S.; SANDSTRÖM, B.; TOFT, M.B.; BUKHAVE, K.; JENSEN, M.; SORENSEN, S.S. Green tea or rosemary extract added to foods reduces nonheme-iron absorption. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, p. 607 - 612, 2001.
- SANTOS-BUELGA, C. E.; SCALBERT, A. Proantocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1094 - 1117, 2000.
- SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v.130 (Suppl. 8S), p.2073S - 2085S, 2000.
- SOARES, S.E. Ácidos Fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p.71 - 81, 2002.
- VILLARREAL-LOZOYA, J.E.; LOMBARDINI, L.; CISNEROS-ZEVALLOS. Phytochemical constituents and antioxidant capacity of different pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] cultivars. **Food Chemistry**, v.102, p. 1241-1249, 2007.
- WILKINSON, J. Effect of ginger tea on the fetal development of Sprague-Dawley rats. **Reproductive Toxicology**, v. 14, p. 507 - 512, 2000.
- WORLEY, R. E. Pecan physiology and composition. In C. R. Santerre (Ed.), **Pecan technology** . New York: Chapman &Hall, p. 39 – 45, 1994.
- WU, X.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; GEBHARDT, S.E.; PRIOR, R.L. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p.4026 - 4037, 2004.

CAPÍTULO 4

**Compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos da torta de noz-pecã
[*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] obtidos através de extração
seqüencial**

Compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos da torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] obtidos através de extração seqüencial

Ana Cristina Pinheiro do Prado^a; Analu Monalise Aragão^a; Roseane Fett^a e Jane Mara Block^{a*}.

^aUniversidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Rod. Ademar Gonzaga, 1346, Itacorubi, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil, CEP: 88040-900.

* e-mail: jmblock@cca.ufsc.br

Resumo

A noz-pecã tem sido recomendada na dieta devido à presença de moléculas bioativas em sua constituição com efeitos benéficos à saúde. Este trabalho teve por objetivo determinar o teor de fenólicos totais, taninos condensados e a atividade antioxidante desses compostos presentes na torta de noz-pecã, como também as variações na cor da torta de variedades produzidas no sul do Brasil. As amostras foram submetidas a uma extração seqüencial com diferentes solventes (éter, acetona, álcool e água), avaliando sua capacidade antioxidante através das metodologias ABTS, DPPH e β -caroteno / ácido linoléico. A atividade antioxidante dos extratos da torta foi comparada com a atividade de um antioxidante comercial, composto de uma mistura de tocoferóis naturais (MT), nas mesmas concentrações e, o efeito sinérgico dos extratos e dos tocoferóis foi estudado através da mistura de concentrações iguais de ambos (100, 150 e 250 ppm de cada). As análises de cor foram determinadas através de análise instrumental da cor utilizando o sistema CIE Lab. Os teores significativos ($p < 0,05$) para fenólicos totais, taninos condensados e atividade antioxidante, medidos através dos sistemas ABTS e DPPH (30 min e 24 h), foram observados na fração extraída com acetona, apresentando valores médios de 16,4 mg GAE/g; 31,2 m CE/g; 235,3 μ mol TEAC/g e; 68,6 e 100,3 mg TEAC/g respectivamente. Verificou-se uma correlação significativa entre o conteúdo de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante exercida pelos extratos ($r_{ABTS} = 0,9655$, $r_{DPPH} = 0,9821$). A atividade antioxidante determinada pelo método β -caroteno / ácido linoléico, apresentou resultados superiores para a fração acetona na concentração de 300 ppm, inibindo 93,1 % da oxidação. Na análise instrumental da cor do pó das amostras, os valores médios para luminosidade (L^*) e saturação da cor (C^*) ficaram entre 37,2 e 9,43 respectivamente. Para a análise de contrastes que mede as variações de cor, do verde ao

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]

vermelho (a*) e do azul ao amarelo (b*), a média foi de 3,0 e 8,9, respectivamente, sendo que o o ângulo H (hue) apresentou valor médio de 71,3. As amostras que se destacaram por apresentar parâmetros de cor com maior tendência aos tons vermelhos, também apresentaram maior teor de taninos condensados. Os resultados obtidos indicaram teores significativos de compostos fenólicos totais na fração em acetona, capaz de agir no processo oxidativo.

Palavras chave: noz-pecã, torta de noz-pecã, oxidação, atividade antioxidante, compostos fenólicos.

1. Introdução

A noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch], pertence a família Juglandaceae, cultivada originariamente por indígenas da América do Norte, podendo ser encontrada desde as regiões do Nebraska e Iowa nos Estados Unidos até o sul do México e tem sua produção comercial sendo estendida para a Austrália, sul da África, Israel, Argentina, Chile e sul do Brasil. A composição de nutrientes, micronutrientes, compostos fitoquímicos e, a coloração da noz-pecã varia dependendo das condições de crescimento, disponibilidade de umidade, localização, condições climáticas, práticas de horticultura, cultivar e nível de maturidade (SHAHIDI e NACZK, 2004; VENKATACHALAM, 2004; WAKELING et al., 2001; THOMPSON, GRAUKE e YOUNG JR, 1996).

O óleo da noz-pecã é rico em ácidos graxos monoinsaturados e polinsaturados, sendo obtido pela prensagem das nozes, que resulta na torta. A torta ainda possui elevado teor de lipídios (36,2%) e quantidades significativas de proteínas (22,1%), carboidratos (16,3%), fibra total (14,3%), umidade (7,9%) e minerais (3,2%) quando comparado com a noz inteira (ORO et al., 2008). Além disso, a noz-pecã apresenta em sua composição moléculas bioativas, como os esteróis, tocoferóis e compostos fenólicos. Estes compostos apresentam atividade antioxidante através da estabilização de radicais livres (KORNSTEINER, WAGNER e ELMADFA, 2006; KRIS-ETHERTON et al., 1999).

Os radicais livres são moléculas que contêm um elétron isolado, o que as torna espécies instáveis e extremamente reativas, desencadeando reações de oxidação nos ácidos graxos presentes nas membranas biológicas e em alimentos, levando a rancidez e ao desenvolvimento de odores e sabores desagradáveis e perda de valor nutricional. Além disso, a oxidação de

compostos relacionados com a pigmentação dos alimentos podem levar a descoloração ou formação de outros compostos de coloração diferenciada da apresentada pelo alimento no estado fresco. Esse processo pode ser retardado através da modificação das condições ambientais ou pela utilização de substâncias antioxidantes (SOARES, 2002; SCALBERT e WILLIAMSON, 2000; RICE-EVANS, MILLER e PAGANÇA 1997; SENTER e FORBUS, 1978). Entre os compostos antioxidantes presentes naturalmente nas plantas, destacam-se os tocoferóis, os compostos fenólicos e os taninos (SANTOS-BUELGA e SCALBERT, 2000).

Tocoferóis são compostos naturais com atividade antioxidante amplamente encontrados em diversos tecidos e denominados como vitamina E (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005). São estruturas derivadas do anel cromanol e substituídas por um grupamento hidroxila e grupos metílicos no anel fenólico, contendo uma longa cadeia lateral terpênica (POKORNÝ e PARKÁNYIOVÁ, 2005). A atividade antioxidante de tocoferóis é dependente da sua concentração, temperatura, luz, tipo de substrato e de solvente, bem como da presença de sinergistas e de espécies químicas que possam agir como pró-oxidantes. A inibição da produção de peróxidos e a eficiência dos tocoferóis homólogos também dependem do sistema lipídico testado (NOGALA-KALUCKA et al., 2005; BRAMLEY et al., 2000).

Os taninos são também conhecidos como proantocianidinas de grau variado de polimerização, que exercem atividade antioxidante, podendo ser encontrados na forma hidrolisada ou condensada (SANTOS-BUELGA e SCALBERT, 2000). Alguns taninos, presentes na casca da noz-pecã, podem ser lixiviados para o interior das nozes durante o pré-condicionamento antes de serem quebradas no processo de descascamento. Essas substâncias são parcialmente responsáveis pela estabilidade da coloração e sabor da noz (HEATON e WORTHINGTON, 1975). Entre os taninos, os flobafenos, também chamados de taninos vermelhos, constituem grupos de polímeros coloridos, derivados de taninos condensados, formados pela polimerização das leucoantocianidinas (ROBINSON, 1975).

A cor da noz descascada constitui um dos principais critérios de determinação da qualidade. Baseada em sua coloração, elas são classificadas em claras, marrom claro, marrom médio âmbar e marrom escuro. A cor mais clara é indicativo de nozes plenamente maduras, devidamente colhidas, processadas e armazenadas. A cor escura é causada pela exposição à condições adversas, que por sua vez pode levar o metabolismo vegetal a sintetizar enzimas,

compostos fenólicos e taninos condensados, que agem nos processos oxidativos (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; SHAHIDI e NACZK, 2004).

Existe uma ampla variedade de utilidades para a noz-pecã. Ela pode ser comercializada descascada como um ingrediente de confeitaria, padaria e indústrias lácteas e, em *snacks* na forma natural, torrada, salgada ou revestida com açúcar ou mel, aprimorando e finalizando produtos industrializados (SWINK, 1996). Além disso, o consumo de nozes faz parte da dieta mediterrânea, sendo relatada por proporcionar efeitos cardioprotetores e desempenhar papel importante na proteção de membranas biológicas retardando os efeitos ocasionados por radicais livres (KRIS-ETHERTON et al., 2002). No entanto, os dados referentes a composição fenólica e atividade antioxidante da torta da noz-pecã, produzida no sul do Brasil, ainda são escassos. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi verificar a presença destes compostos, em extratos da torta de noz-pecã produzida no sul do Brasil.

Foi determinado o teor de compostos fenólicos totais e taninos condensados, a atividade antioxidante e as variações na cor da torta de noz-pecã produzida no sul do Brasil. Além disso, a atividade antioxidante dos extratos da torta determinada através do sistema β -caroteno / ácido linoléico foi comparada com a atividade antioxidante de um antioxidante natural comercial, composto de uma mistura de tocoferóis e a atividade antioxidante da mistura de extratos da torta de noz-pecã e de tocoferóis também foi analisada.

2 Metodologia

2.1 Matéria-prima

Torta de noz-pecã de 3 lotes diferentes (2 kg de cada lote), de uma mistura das variedades Barton (cerca de 50%), Shoshone, Shawnee, Choctaw e Cape Fear; provenientes da colheita do ano de 2006.

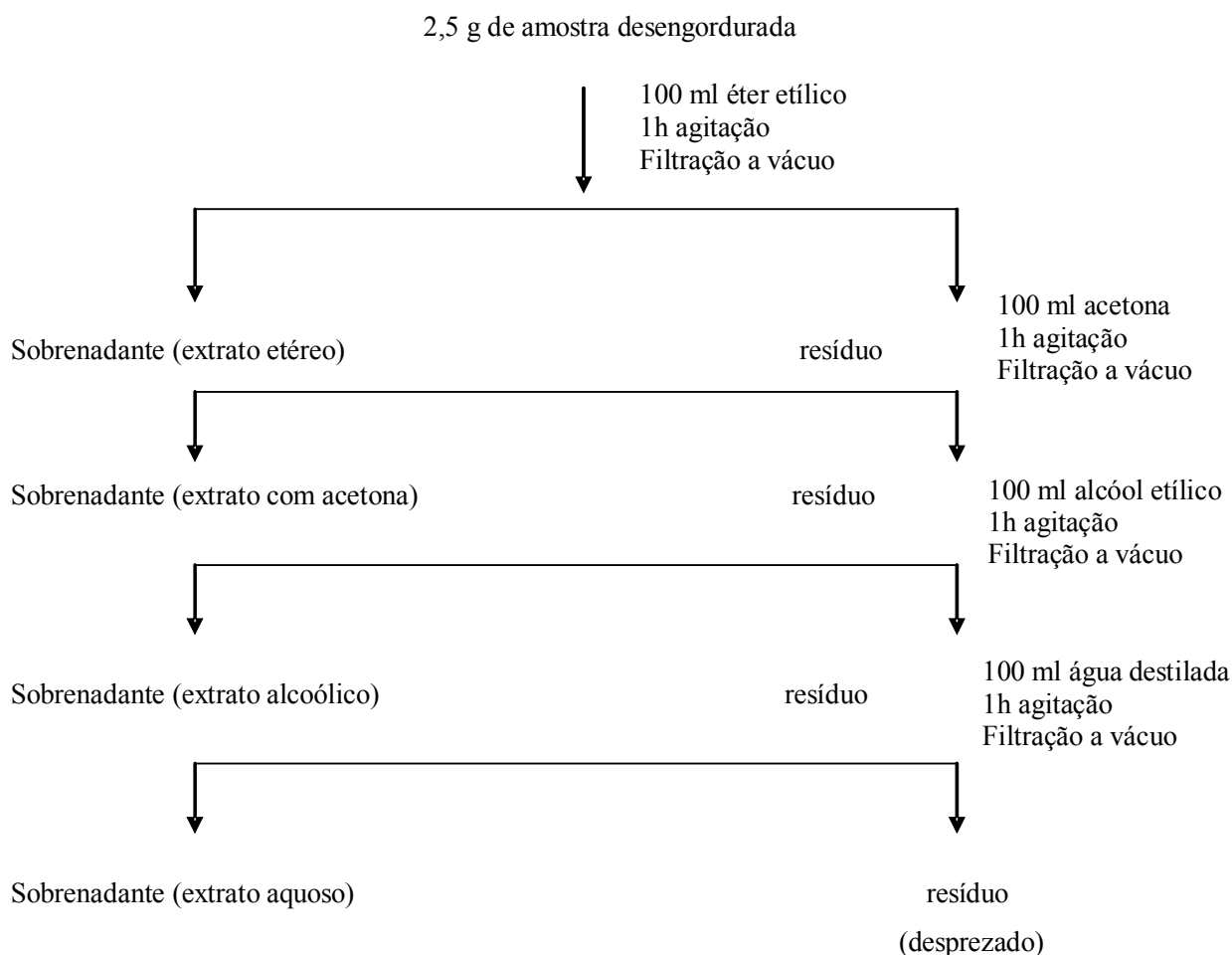
Antioxidante natural comercial, com indicação para uso em óleos e gorduras vegetais e animais (de 100 a 500 ppm), composto de uma mistura de tocoferóis naturais (MT), contendo 0,64g de tocoferóis/g de produto (sendo 58,6% de γ - tocoferol, 25,1% de δ -tocoferol 14,7% de α -tocoferol e, 1,6% de β -tocoferol).

2.2 Preparo da Amostra

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]

2.2.1 Obtenção dos extratos da torta de noz-pecã

Após ser triturada em um processador de alimentos, a torta de noz-pecã foi desengordurada com hexano (1:20 m/v), utilizando agitador mecânico (modelo TE-139, da marca Tecnal®), seca em estufa com circulação de ar (modelo 400/D 200°C da marca Nova Ética®), moída em moinho analítico de laboratório (modelo A-11 da marca IKA Works®), o pó peneirado a 60 mesh e, submetido à extração seqüencial com éter, acetona, álcool e água destilada a temperatura ambiente, conforme ilustra a Figura 1.



* após cada etapa de extração os resíduos foram secos em estufa com circulação de ar a 40°C até evaporação completa do solvente.

Figura 01 – Diagrama do procedimento de extração (MOREIRA, 2003).

Os extratos foram filtrados a vácuo em papel filtro, marca Whatman 541, 125 mm., e os volumes completados para 100 ml e armazenados em frasco âmbar, com atmosfera de nitrogênio, em *freezer* para análises posteriores (WILKINSON, 2000). A determinação do peso seco foi realizada por gravimetria, tomando-se uma alíquota de 5 ml em cadinho de porcelana, previamente tarado, seguido de secagem em estufa a $105,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ até peso constante (AOAC, 2005). As extrações foram realizadas em triplicata.

2.3 Determinação de compostos fenólicos totais

O conteúdo de fenólicos totais foi determinado utilizando o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu com algumas modificações (BEAL, 2006; BUDINI, TONELLI, GIROTTI, 1980). Alíquotas (100 μl) de diluições apropriadas dos extratos foram oxidadas com 500 μl do reagente de Folin-Ciocalteu, a reação foi neutralizada com 1,5 ml de carbonato de sódio saturado (75g/L) e, os volumes completados até 10 ml através da adição de água deionizada. Após incubação por 2 horas a temperatura ambiente, a absorbância da solução azul resultante foi medida a 764 nm. A quantificação foi feita com base em curva padrão de ácido gálico e os resultados expressos em mg GAE/g (equivalente de ácido gálico) em peso seco.

2.4 Determinação do teor de taninos condensados

Para a determinação do teor de taninos condensados procedeu-se de acordo com Price, Vanscoyoc e Butler (1978) e adaptado por Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007). Foram coletadas alíquotas de 1 ml de diluições apropriadas dos extratos e colocadas em 2 tubos de ensaio separados (1 para a amostra e outro para o branco). Após foram adicionados 5 ml do reagente Vanilina (0,5g de reagente e 200 ml de HCl 4%/metanol) para as amostras, e HCl 4%/metanol para o branco. Os tubos de ensaio foram mantidos ao abrigo da luz por um período de 20 minutos e as medidas das absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro em 500 nm. Os resultados foram expressos em mg CE/g (mg equivalente de catequina/g de amostra desengordurada).

2.5 Determinação da capacidade antioxidante

Método ABTS: o método ABTS [2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolona-6-ácido sulfônico)] foi realizado de acordo com Re et al. (1999) com algumas modificações. Após o preparo do radical ABTS (7mM - 0,03836g do reativo ABTS dissolvido em 10 ml de água deionizada), foi

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]

preparada uma solução de persulfato potássico (2,45 mM - 10 ml de ABTS e 10 ml de persulfato misturados, homogeneizados e mantidos num frasco âmbar pelo mínimo 16 horas protegido da luz). Para o ensaio da amostra, foi pipetada uma alíquota de 200 µl do radical formado e diluído em 10 ml de etanol 96° P.A. Medidas de absorvância em cubetas de 10 mm a 734 nm, foram realizadas para certificação da densidade óptica em torno de $0,700 \pm 0,05$. Uma alíquota de 980 µl do radical diluído foi pipetada e transferida para uma cubeta de 10 mm (1 ml) procedendo a medida da absorvância ($A_{754}=A_0$) adicionando imediatamente 20 µl da amostra e homogeneizando e agitando por alguns segundos. Trolox foi utilizado como padrão (15 µM = 0,13209g/500 ml). O cálculo da porcentagem de inibição do radical foi realizado pela seguinte fórmula: % de inibição do radical = $(1 - A_f/A_0) \times 100$, onde, “A₀” é a absorvância inicial e “A_f” é a absorvância final. Os cálculos foram realizados para cada concentração de amostras analisadas de forma que ao obter os resultados se pôde realizar uma curva dose-resposta. Os resultados foram expressos em µmol TEAC/g (capacidade antioxidante equivalente em Trolox).

Método DPPH: o método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), foi realizado de acordo com Brand-William, Cuvelier e Berset (1995) seguido de modificações conforme Kim et al. (2002) e Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007). Após o preparo do radical (0,1 mM - 0,03943g do reativo DPPH dissolvido em 10 ml de metanol a 80%), foi pipetada uma alíquota de 2,9 ml do mesmo e colocados para reagir em tubos de ensaio adicionados de 0,1 ml do extrato da torta de noz-pecã. As amostras foram mantidas ao abrigo da luz e, as medidas de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro a 515 nm após 30 minutos e 24 horas. Trolox foi utilizado como padrão (150 mg/L). O cálculo da porcentagem de inibição do radical foi realizado pela seguinte fórmula: % de inibição do radical = $(1 - A_f/A_0) \times 100$, onde, “A₀” é a absorvância inicial e “A_f” é a absorvância final. Os cálculos foram realizados para cada concentração de amostras analisadas de forma que ao obter os resultados se pôde realizar uma curva dose-resposta. Os resultados foram expressos em mg TEAC/g (capacidade antioxidante equivalente em Trolox).

β-caroteno / ácido linoléico: a atividade antioxidante medida *in vitro* através do sistema modelo β-caroteno e ácido linoléico foi realizada seguindo-se a metodologia descrita por Marco (1968) e modificado por Miller (1971). β-caroteno foi dissolvido em clorofórmio (20 mg/ml). Uma alíquota de 20µl desta solução foi colocada em um frasco erlenmeyer com 40 µl de ácido

linoléico, 1ml de clorofórmio e 500 mg de Tween 40. O clorofórmio foi completamente evaporado com vapor de nitrogênio. Em seguida, adicionou-se 150 ml de água destilada deionizada saturada com oxigênio (30 min.) à emulsão de β -caroteno agitando a mistura. Foram adicionados 200, 300 e 500 ppm dos extratos da torta, e paralelamente concentrações iguais de um antioxidante comercial, composto de uma mistura de tocoferóis naturais (MT), que foi utilizado como antioxidante padrão. Além disso, o efeito sinergista foi avaliado através da mistura dos extratos da torta e de tocoferóis nas concentrações de 100, 150 e 250 ppm de cada (E + MT 1:1). As leituras das absorbâncias a 470 nm foram realizadas em intervalos de 15 minutos por um período de 2 horas, mantendo as cubetas em banho-maria a 50°C. A atividade antioxidante foi calculada em termos de percentual de inibição, relativo ao controle, utilizando a seguinte equação: $AA = [(As - Ac) / (Ao - Ac)] \times 100$, onde As e Ac são, respectivamente, as absorbâncias da amostra e do controle ao final da análise e Ao é a absorbância da amostra (470 nm) no início do ensaio.

2.6 Análise instrumental da cor da torta da noz-pecã

Para a análise instrumental da cor foi utilizado colorímetro Minolta Chromo Meter CR 400 (Minolta, Osaka, Japão), acoplado a um processador DP-100, com iluminante D65 e ângulo de 10°. Foi utilizado o sistema de avaliação CIE Lab (Commission Internationale de Eclairage), escala de cor L^* , a^* , e b^* , onde L^* corresponde à luminosidade (0 = preto e 100 = branco); a^* corresponde à variação de cor de verde a vermelho [-80 até zero = verde (-a), de zero a +100 = vermelho (+a)]; b^* corresponde à variação de cor de azul a amarelo [-100 até zero = azul (-b), de zero a +70 = amarelo (+b)]. Também foram determinados o C^* (chroma), que indica a saturação da cor (proporção que a cor está misturada com o branco, preto ou cinza) e, H , que corresponde a tonalidade ou matiz, expressa em ângulos (0° = vermelho, 90° = amarelo, 180° = verde e 270° = azul, equivalentes ao +a, +b, -a e -b respectivamente).

2.7 Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do programa SAS “for Windows”. Os dados foram submetidos à análise de variância de comparação de médias ANOVA e testes de Tukey ($p < 0,05$). As análises foram realizadas em triplicata, com exceção da atividade antioxidante através do sistema β -caroteno / ácido linoléico, que foi realizada em duplicata.

3 Resultados e Discussão

Na Tabela 01 podem ser observados os teores de extrato seco (ES), compostos fenólicos totais (FT), taninos condensados (TC) e capacidade antioxidante (CA) dos extratos obtidos da torta de noz-pecã.

Tabela 01 – Extrato Seco, conteúdo de fenólicos totais, taninos condensados e atividade antioxidante, determinada pelos sistemas ABTS e DPPH, da torta de noz-pecã.

	Extrato	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média
ES^A (g/100g)	Éter	8,7 ^{ab} ± 0,4	7,9 ^b ± 0,3	9,1 ^a ± 0,3	8,6 ± 0,6
	Acetona	4,4 ^a ± 0,4	3,1 ^b ± 0,1	2,9 ^b ± 0,3	3,5 ± 0,8
	Álcool	7,4 ^a ± 0,9	6,6 ^a ± 1,2	3,1 ^b ± 0,5	5,7 ± 2,3
	Água	16,8 ^b ± 0,4	22,7 ^a ± 0,9	21,0 ^a ± 1,4	20,2 ± 3,0
FT^B (mg GAE/g)	Éter	2,2 ^a ± 0,5	2,3 ^a ± 0,7	2,8 ^a ± 0,1	2,4 ± 0,3
	Acetona	20,1 ^a ± 2,5	11,8 ^b ± 0,6	17,4 ^a ± 2,6	16,4 ± 4,2
	Álcool	1,3 ^b ± 0,4	3,7 ^a ± 0,8	1,8 ^b ± 0,1	2,3 ± 1,3
	Água	5,8 ^a ± 1,4	5,9 ^a ± 0,2	5,1 ^a ± 0,6	5,6 ± 0,4
TC^C (mg CE/g)	Éter	nd**	nd**	nd**	-
	Acetona	42,9 ^a ± 4,4	21,4 ^b ± 0,1	29,4 ^b ± 3,2	31,2 ± 10,9
	Álcool	3,6 ^a ± 2,0	3,7 ^a ± 2,4	1,0 ^a ± 1,0	2,8 ± 1,5
	Água	nd**	nd**	nd**	-
CA_{ABTS}^D (µmol TEAC/g)	Éter	7,2 ^a ± 0,1	1,7 ^b ± 1,0	4,3 ^b ± 0,1	4,4 ± 2,7
	Acetona	295,5 ^a ± 0,1	204,7 ^b ± 0,1	205,8 ^b ± 0,03	235,3 ± 52,1
	Álcool	36,2 ^a ± 0,3	32,5 ^a ± 0,2	19,6 ^a ± 0,1	29,4 ± 8,7
	Água	42,0 ^a ± 0,3	34,3 ^a ± 0,1	49,0 ^a ± 0,04	41,8 ± 7,3
CA_{DPPH}^E 30 min (mg TEAC/g)	Éter	na***	na***	na***	-
	Acetona	92,6 ^a ± 0,1	49,9 ^b ± 0,08	63,2 ^b ± 0,1	68,6 ± 21,8
	Álcool	na***	na***	na***	-
	Água	13,4 ^a ± 0,4	8,8 ^a ± 0,1	15,7 ^a ± 0,2	12,6 ± 3,5
CA_{DPPH}^F 24 h (mg TEAC/g)	Éter	na***	na***	na***	-
	Acetona	125,3 ^a ± 0,06	80,4 ^b ± 0,04	95,1 ^b ± 0,1	100,3 ± 22,9
	Álcool	na***	na***	na***	-
	Água	16,8 ^a ± 0,05	16,1 ^a ± 0,04	19,6 ^a ± 0,1	17,5 ± 1,8

A: Extrato Seco - rendimento (ensaio gravimétrico); B: Fenólicos Totais - mg GAE/g (equivalentes em ácido gálico) de peso seco (ensaio de Folin-Ciocalteu); C: Taninos Condensados - mg CE/g (equivalentes de catequina) de peso seco (ensaio de Vanilina); D: Capacidade Antioxidante - µmol TEAC/g (atividade antioxidante equivalente em Trolox) de peso seco (ABTS); E: Capacidade Antioxidante - mg TEAC/g (atividade antioxidante equivalente em

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]

Trolox) de peso seco (DPPH – 30 minutos); F: Capacidade Antioxidante - mg TEAC/g (atividade antioxidante equivalente em Trolox) de peso seco (DPPH – 24 horas); média \pm desvio padrão (n=3).

* valores com letras iguais na mesma linha não apresentam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$).

** (nd) níveis não detectados *** (na) não avaliado.

De acordo com os resultados obtidos foi observado um maior rendimento para o extrato seco em água (20,2 %) e éter (8,6 %), seguidos pelo álcool e acetona, com rendimentos inferiores (5,7 e 3,5 % respectivamente). O teor de compostos fenólicos totais, obtidos para estas frações, foi maior para a fração em acetona, seguida dos extratos aquosos, etéreo e alcoólico (16,4 \pm 4,2; 5,6 \pm 0,4; 2,4 \pm 0,3 e 2,3 \pm 1,3 mg GAE/g respectivamente). Os resultados encontrados para o rendimento apontam a extração de outros compostos além dos fenólicos, que influenciaram fortemente no rendimento do procedimento de obtenção dos extratos.

A relação entre o rendimento de extração e o teor de compostos fenólicos totais pode ser observada na análise dos diferentes lotes, em que aqueles que apresentaram os maiores rendimentos, apresentaram também teores superiores de compostos fenólicos totais. O lote 1 apresentou um rendimento de extração para a fração acetona (4,4%) e, teor de compostos fenólicos significativamente maior que os demais lotes analisados (20,1 \pm 2,5 mg GAE/g). Os lotes 2 e 3 destacaram-se por apresentar rendimento de extração superior para as frações aquosa (22,7 %) e etérea (9,1 %) e, teores de compostos fenólicos maiores (5,9 \pm 0,2 e 2,8 \pm 0,1 mg GAE/g) respectivamente. Os lotes 1 e 2 apresentaram os maiores rendimentos para a fração alcoólica (7,4 e 6,6%), observando-se também teores superiores de fenólicos totais no lote 2 para essa fração (3,7 \pm 0,8 mg GAE/g).

Wu et al. (2004) reportou um teor de 20,16 mg GAE/g de compostos fenólicos totais presentes em extratos de nozes em uma mistura de acetona, água e ácido acético (70:29,5:0,5 v/v). Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007), reportaram em extratos de noz-pecã de uma mistura de acetona e água (70:30, v/v) um teor de compostos fenólicos totais de 76 mg CAE/g (equivalentes de ácido clorogênico). De acordo com Kyoung Chun e Kim (2004), é possível fazer a conversão CAE para GAE, assumindo um fator de conversão de 0,6. Desta forma, este resultado seria o equivalente a 13,68 mg GAE/g. Kornsteiner, Wagner e Elmadfa (2006) reportaram em extratos de noz-pecã, obtidos com uma extração em hexano de uma solução de 75% de acetona e 25% de 526 μ mol/L de metabissulfito de sódio, um teor de 12,84 mg GAE/g.

Os valores médios obtidos no presente trabalho, para as frações em álcool, éter e água foram muito inferiores aos reportados por Wu et al. (2004), Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007); e Kornsteiner, Wagner e Elmadfa (2006) ($2,3 \pm 1,3$; $2,4 \pm 0,3$ e $5,6 \pm 0,4$ mg GAE/g respectivamente) e, próximos ao resultado médio obtido para a fração em acetona ($16,4 \pm 4,2$ mg GAE/g).

O teor de taninos condensados foi maior na fração em acetona (média de $31,2 \pm 10,9$ mg CE/g), quando comparada com a fração alcoólica, onde foram observados baixas concentrações (média de $2,8 \pm 1,5$ mg CE/g). Para a fração em acetona foi observada uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre os teores obtidos para o lote 1 ($42,9 \pm 4,4$ mg CE/g) e os lotes 2 ($21,4 \pm 0,1$ mg CE/g), e 3 ($29,4 \pm 3,2$ mg CE/g). Não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) para a fração alcoólica entre os lotes analisados. Os extratos etéreo e aquoso não apresentaram teores de taninos condensados em níveis detectados no ensaio.

Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007) reportaram valores de taninos condensados bem próximos aos valores médios da fração acetona obtidos no presente trabalho, em extratos compostos de uma mistura de acetona e água (70:30, v/v), de torta de noz-pecã de diferentes cultivares do Texas nos Estados Unidos (média de $34 \pm 1,3$ mg CE/g).

Em função dos resultados obtidos para fenólicos totais e taninos condensados, nas frações etérea e alcoólica, terem sido relativamente baixos, apresentando atividade antioxidante reduzida no sistema ABTS comparada as demais frações, os ensaios de atividade antioxidante através dos sistemas DPPH e β -caroteno e ácido linoléico foram realizados apenas para as frações em acetona e água.

A atividade antioxidante determinada pelos sistemas ABTS e DPPH após 30 minutos e 24 horas de reação, foi maior para o extrato em acetona (média de $235,3 \pm 52,1$ μ mol TEAC/g; $68,6 \pm 21,8$ e $100,3 \pm 22,9$ mg TEAC/g respectivamente). Estes resultados estão de acordo com os resultados de FT e TC obtidos para esta fração. Para a fração em acetona os resultados foram significativamente maiores ($p < 0,05$) para o lote 1 nos sistemas ABTS e DPPH após 30 minutos de reação e, no sistema DPPH após 24 horas de reação ($295,5 \pm 0,1$ μ mol TEAC/g; $92,6 \pm 0,1$ e $125,3 \pm 0,06$ mg TEAC/g respectivamente).

O extrato aquoso apresentou atividade antioxidante média no sistema ABTS de $41,8 \pm 7,3$ μ mol TEAC/g e, no sistema DPPH após 30 minutos e 24 horas de reação de $12,6 \pm 3,5$ e $17,5 \pm$

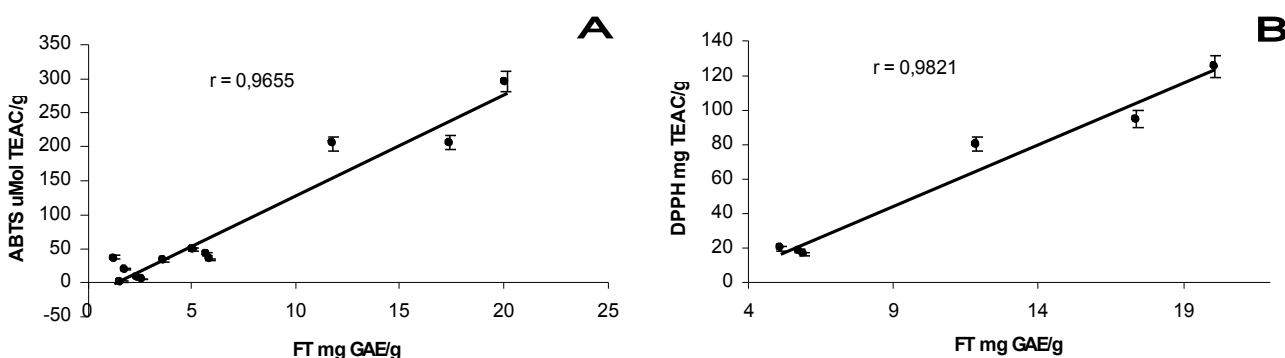
1,8 mg TEAC/g respectivamente. Não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) para o extrato aquoso nos sistemas ABTS e DPPH após 30 minutos e 24 horas de reação nos diferentes lotes analisados

Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007) reportaram atividade antioxidante da noz-pecã em extratos de acetona e água (70:30, v/v), no sistema DPPH após 24 horas de reação, de $97 \pm 6,7$ mg TEAC/g. Este valor foi superior para o extrato em acetona obtido no presente trabalho após 30 minutos de reação ($68,6 \pm 21,8$ mg TEAC/g), mas inferior ao obtido para a mesma fração durante 24 de reação com o radical DPPH (média de $100,3 \pm 22,9$ mg TEAC/g).

Os diferentes níveis dos compostos fenólicos, em determinados solventes observado nesse estudo, dependem entre diversos fatores, da natureza química dessas substâncias fenólicas (como os ácidos fenólicos, antocianinas e taninos), da interação com outros nutrientes e micronutrientes presentes na amostra e da polaridade do solvente empregado no procedimento de extração (SHAIJI e NACZK, 1995). Além disso, segundo a teoria do paradoxo polar, substâncias antioxidantes apolares ou de baixo balanço hidrofílico/lipofílico, funcionam relativamente melhor em emulsões lipídicas mais polares, enquanto antioxidantes de características mais hidrofílicas são mais efetivos em sistemas mais lipofílicos (PORTER, 1993).

A correlação entre o teor de compostos fenólicos totais (FT) e a atividade antioxidante determinada para os sistemas ABTS e DPPH, dos extratos, pode ser observada na figura 02.

Figura 02 - (A) Correlação entre o conteúdo de fenólicos totais (FT) e a atividade antioxidante medida pelo método ABTS. (B) Correlação entre o conteúdo de fenólicos totais (FT) e a atividade antioxidante medida pelo método DPPH (24 horas).



Os resultados obtidos demonstram uma forte correlação entre o teor de fenólicos totais presentes na torta de noz-pecã e a atividade antioxidante dos extratos, obtidos no procedimento de extração seqüencial, nos sistemas ABTS ($r = 0,9655$) e DPPH ($r = 0,9821$). Os extratos que apresentaram o maior teor de compostos fenólicos totais (acetona), apresentaram também atividade antioxidante significativamente maior ($p < 0,05$) para os dois sistemas estudados.

Na Tabela 02, podem ser observados os percentuais da inibição da oxidação, medidos através do sistema modelo β -caroteno e ácido linoléico, para a mistura de tocoferóis naturais que foi utilizada como padrão (MT); para os extratos em acetona e água da torta de noz-pecã e para as misturas dos extratos e tocoferóis naturais na mesma proporção (100, 150 e 250 ppm cada).

Tabela 02 – Percentual da inibição da oxidação dos tocoferóis (MT), dos extratos da torta de noz-pecã (acetona e água) e misturas dos extratos com tocoferóis na mesma proporção (E+MT 1:1), medidos *in vitro* através do sistema modelo β -caroteno e ácido linoléico.

<i>Extrato</i>	<i>% inibição da oxidação em diferentes concentrações</i>		
	<i>200 ppm</i>	<i>300 ppm</i>	<i>500 ppm</i>
MT (padrão)	25,2 ^C ± 0,1	42,9 ^B ± 3,2	62,4 ^A ± 1,9
Acetona - Lote 01	85,3 ^{Ac} ± 0,1	87,4 ^{Ab} ± 3,0	85,9 ^{Ab} ± 0,1
Acetona - Lote 02	91,1 ^{Ba} ± 0,4	95,0 ^{Aa} ± 0,1	89,8 ^{Ca} ± 0,1
Acetona - Lote 03	89,0 ^{Bb} ± 0,5	93,1 ^{Aab} ± 0,5	86,2 ^{Bb} ± 0,1
Água - Lote 01	80,4 ^{Ba} ± 0,5	80,6 ^{Ba} ± 0,1	86,5 ^{Aa} ± 0,6
Água - Lote 02	62,2 ^{Bc} ± 2,1	65,8 ^{Ac} ± 0,1	76,0 ^{Aa} ± 3,7
Água - Lote 03	70,9 ^{Bb} ± 0,8	72,8 ^{Bb} ± 0,2	81,0 ^{Aa} ± 2,2
Acetona + MT - Lote 01	84,0 ^{Bab} ± 1,5	89,3 ^{Aa} ± 0,4	90,7 ^{Aa} ± 0,1
Acetona + MT - Lote 02	88,3 ^{Aa} ± 1,5	92,0 ^{Aa} ± 2,2	92,1 ^{Aa} ± 1,8
Acetona + MT - Lote 03	76,0 ^{Bb} ± 3,5	88,1 ^{Aa} ± 0,2	90,0 ^{Aa} ± 1,3
Água + MT - Lote 01	79,7 ^{Ba} ± 2,8	84,0 ^{Aa} ± 1,4	88,9 ^{Aa} ± 0,5
Água + MT - Lote 02	37,9 ^{Cc} ± 2,3	63,7 ^{Bc} ± 3,0	75,9 ^{Ab} ± 3,2
Água + MT - Lote 03	57,9 ^{Cb} ± 0,1	73,4 ^{Bb} ± 0,9	82,1 ^{Aab} ± 1,9

* ppm: parte por milhão (1 mg/1000 mL); ** E+MT 1:1 (100, 150 e 250 ppm de cada) *** valores com letras iguais maiúsculas na mesma linha não apresentam diferenças significativas (Tukey $p < 0,05$); **** valores com letras iguais minúsculas na mesma coluna não apresentam diferenças significativas (Tukey $p < 0,05$) entre os lotes, para um mesmo tipo de amostra (Extrato ou Extrato + MT); ***** resultados expressos em porcentagem (%); média ± desvio padrão (n=3).

Como pode ser observado na Tabela 02, na análise de atividade antioxidante pelo sistema modelo β -caroteno e ácido linoléico, a mistura de tocoferóis naturais utilizada como padrão (MT), apresentou percentuais de inibição da oxidação entre 25,2 a 62,4 %, sendo

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]

significativamente mais efetivo ($p < 0,05$) na concentração de 500 ppm. Estes resultados foram inferiores aos extratos de acetona e água e às misturas de extratos e tocoferóis naturais testados, que apresentaram valores significativamente superiores ($p < 0,05$).

O extrato com acetona, apresentou percentual de inibição da oxidação entre 85,3 e 95 %. Os lotes 2 e 3 apresentaram percentuais da inibição da oxidação significativamente superiores ($p < 0,05$), sendo mais efetivo na concentração de 300 ppm.

Para o extrato aquoso foi observada uma inibição da oxidação entre 62,2 a 86,5 %, sendo a concentração significativamente mais efetiva ($p < 0,05$) a de 500 ppm. Foram observadas diferenças significativas nos tratamentos entre os lotes, apenas nas concentrações de 200 e 300 ppm, em que o lote 1 apresentou percentuais significativamente superiores aos demais lotes analisados (80,4 e 80,6 %).

Os percentuais da inibição da oxidação para os extratos em acetona e água adicionados da mistura de tocoferóis ficaram entre 76 e 92,1 % e 37,9 e 88,9 % respectivamente. Para as misturas de extratos em acetona e tocoferóis naturais, os lote 1 e 2 apresentaram percentuais significativamente superiores ($p < 0,05$) na menor concentração testada (84 e 88,3%), sendo a concentração mais efetiva para os lotes 1 e 3, a de 500 ppm (90,7 e 90 %). Não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as concentrações testadas para o lote 2 no extrato com acetona adicionado de tocoferóis. Nas misturas de extratos aquosos e tocoferóis naturais, o lote 1 apresentou percentuais da inibição da oxidação significativamente superior ($p < 0,05$) aos demais lotes analisados em todas as concentrações testadas, sendo as concentrações mais efetivas as de 300 e 500 ppm (84 e 88,9 %). Ocorreu um aumento discreto na inibição da oxidação nas concentrações de 500 ppm para ambas as frações, acetona e água, e na concentração de 300 ppm nos lotes 1 e 3 da fração aquosa, quando adicionadas de tocoferóis naturais.

Sabe-se que as diferentes concentrações das substâncias utilizadas como antioxidantes e, a natureza química das estruturas desses compostos, exercem forte influência no percentual de inibição da oxidação observado dependendo do meio onde são adicionados (FRANKEL et al., 1994; PORTER, 1993).

Duarte-Almeida et al. (2006), avaliou a atividade antioxidante de compostos fenólicos através do sistema β -caroteno e ácido linoléico. Eles determinaram a atividade antioxidante de

vários compostos utilizados como padrões numa faixa de concentração de 700 a 1000 μM . Os ácidos clorogênico (25 %), elágico (34%), gálico (41%) e, a catequina (34%) apresentaram percentuais de inibição do processo oxidativo inferiores aos observados para a mistura de tocoferóis naturais e amostras de extratos da torta de noz-pecã.

Tepe (2007), determinou a atividade antioxidante através do sistema β -caroteno e ácido linoléico para o BHT, α -tocoferol e ácido rosmarínico, fazendo uso de 350 μL do extrato na concentração de 2g/L. Os percentuais de inibição do processo oxidativo foram de 96,0; 96,6 e 100 % para o BHT, α -tocoferol e ácido rosmarínico respectivamente. Os resultados encontrados para a concentração de 500 ppm dos extratos da torta de noz-pecã em acetona, estão próximos aos reportados nos estudos de matérias primas consideradas referência para a comparação da atividade antioxidante.

Na Tabela 03 são apresentados os dados da avaliação instrumental da cor de três lotes de torta de noz-pecã produzida no sul do Brasil.

Tabela 03 - Avaliação instrumental da cor através do sistema CIE Lab (Comission Internationale de Eclairage) de três lotes de torta de noz-pecã produzida no sul do Brasil.

Parâmetros	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média
L*	35,7 ^b \pm 0,4	39,2 ^a \pm 0,3	36,7 ^b \pm 1,4	37,2 \pm 1,8
C*	9,1 ^b \pm 0,2	9,9 ^a \pm 0,1	9,3 ^{ab} \pm 0,4	9,4 \pm 0,42
a*	3,2 ^a \pm 0,1	2,8 ^b \pm 0,01	3,0 ^{ab} \pm 0,1	3,0 \pm 0,2
b*	8,5 ^b \pm 0,1	9,4 ^a \pm 0,2	8,8 ^b \pm 0,3	8,9 \pm 0,46
H	69,4 ^c \pm 0,3	73,4 ^a \pm 0,2	71,1 ^b \pm 0,3	71,3 \pm 2,01

* L* = luminosidade, C* = saturação da cor, a* = Δ verde ao vermelho, b* = Δ amarelo ao azul, H = tonalidade ou matiz ** valores com letras iguais na mesma linha não apresentam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$) *** média \pm desvio padrão (n=3).

De acordo com os resultados obtidos, a torta de noz-pecã apresentou valor médio de luminosidade (**L***) de 37,2 \pm 1,8. O lote 2 apresentou valor de luminosidade significativamente ($p < 0,05$) maior (39,2 \pm 0,3) em relação aos lotes 1 e 3 (35,7 \pm 0,4 e 36,7 \pm 1,4 respectivamente).

Com relação a saturação da cor (**C***), a média apresentada foi de 9,4 \pm 0,42, sendo que os lotes 2 e 3 apresentaram valores significativamente ($p < 0,05$) superiores (9,9 \pm 0,1 e 9,3 \pm 0,4)

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]

comparados aos lotes 1 ($9,1 \pm 0,2$).

Para a variação da cor verde ao vermelho (a^*), a média apresentada foi de $3,0 \pm 0,2$. Os lotes 1 e 3 apresentaram valores significativamente ($p < 0,05$) superiores ($3,2 \pm 0,1$ e $3,0 \pm 0,1$ respectivamente), representando tons mais avermelhados que o lote 2 ($2,8 \pm 0,01$). Para a variação da cor azul ao amarelo (b^*), o lote 2 apresentou resultados com tendência maior ao amarelo ($9,4 \pm 0,2$) quando comparado com os lotes 1 e 3 ($8,5 \pm 0,1$ e $8,8 \pm 0,3$). A mesma tendência do lote 2 para os tons mais amarelos, pode ser confirmada através da análise do parâmetro **H**, indicador da tonalidade ou matiz, que apresentou ângulo significativamente superior ($p < 0,05$) para os lotes 2 comparado aos lotes 1 e 3 ($73,4 \pm 0,2$; $69,4 \pm 0,3$ e $71,1 \pm 0,3$ respectivamente). Os lotes 1 e 3 apresentaram uma torta com coloração marrom mais escura, enquanto que o lote 2 apresentou uma torta de coloração mais clara.

Senter e Forbus (1978) reportou que as alterações na coloração vermelho-marrom das nozes pode ser devido a oxidação da leucoantocianidina e leucodelfinidina presente na noz, aos seus respectivos flobafenos de graus variados de polimerização e, em menor extensão, pela reação de formação da cianidina e delfinidina. A relação entre acumulação de flobafeno (pigmento vermelho) e as mudanças de coloração reportadas por Senter e Forbus (1978), juntamente com os resultados obtidos no presente trabalho, sugerem que as variações nos tons representados pelo ângulo **H** e parâmetro a^* , da coloração da torta da noz, possam estar diretamente relacionadas com a concentração de flobafenos, já que os lotes 1 e 3, que apresentaram tons com maior tendência ao vermelho, apresentaram também teores superiores de taninos condensados comparados aos demais lotes analisados.

4. Conclusões

De acordo com os resultados obtidos, a fração em acetona da extração seqüencial apresentou os maiores teores de fenólicos totais e taninos condensados extraídos da torta de noz-pecã, bem como uma atividade antioxidante elevada, determinada através de diferentes metodologias. Considerando o fato de que o método da extração seqüencial esgota a amostra à medida que esta é submetida à extração com diferentes solventes, conforme a solubilização dos mesmos durante o processo de extração, a torta da noz-pecã apresentou teores superiores para fenólicos totais e atividade antioxidante maior que os resultados reportados em trabalhos

anteriores realizados por Wu et al. (2004), Kornsteiner, Wagner e Elmadfa (2006) e Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007).

O paradoxo polar, diferentes locais de produção, composição do solo, época de colheita, variações climáticas e o número de variedades de cultivares nos diferentes lotes, bem como os fatores geográficos e climáticos podem constituir fatores envolvidos diretamente com as diferenças nos teores de compostos fitoquímicos nos lotes analisados.

Novas pesquisas são necessárias para identificar e quantificar compostos fenólicos presentes na torta da noz-pecã, investigando a contribuição individual de cada composto à sua atividade antioxidante total. Dessa forma, poderá ser elucidada a ação e solubilização dessas substâncias fenólicas no sistema de solventes empregado neste trabalho, como também testar extratos que possam possuir atividade antioxidante em sistemas biológicos realizando estudos *in vivo*.

Agradecimentos

À empresa Divinut Ind. de Nozes Ltda, localizada na cidade de Cachoeira do Sul – RS, pelo fornecimento da matéria-prima e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

5 Referências

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the AOAC. 18th. Ed. AOAC, Arlington, VA, 2005.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K; SAMMAN S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191 - 203, 2006.

BEAL, B.H. **Atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe)** 2006. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, [2006].

BRAMLEY, P. M.; ELMADFA, I.; KAFATOS, A.; KELLY, F. J.; MANIOS, Y.; ROXBOROUGH, H. E.; SCHUCH, W.; SHEEHY, P. J. A.; WAGNER, K-H. Review Vitamin E. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 913 - 938, 2000.

BRAND-WILLIAMS W.; CUVELIER A.E.; BERSET C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, **Lebensm.-Wiss. u.- Technol**, v. 28, p. 25 - 30, 1995.

BUDINI, R.; TONELLI, D.; GIROTTI, S. Analysis of total phenols using the Prussian blue method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, 1236-1238, 1980.

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

FRANKEL, E.N.; HUANG, S.-W.; KANNER, J.; GERMAN, J.B. Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: Bulk oils vs emulsions. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 42, p. 1054 - 10 59, 1994.

HEATON, E.K.; WORTHINGTON, R.E.; SHEWFELT, A.L. Pecan nut quality. Effect of time of harvest on composition, sensory and quality characteristics. **Journal Food Science** v. 40, p.1260, 1975.

KIM, D.O.; LEE, K.W.; LEE, H.J.; LEE, C.Y. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolics phytochemicals. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 50, p. 3713 - 3717, 2002.

KORNSTEINER, M.; WAGNER, K.H.; ELMADFA, I. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. **Food Chemistry**, v. 98, p.381 - 387, 2006.

KRIS-ETHERTON, P.M.; HECKER, K.D.; BONANOME, A.; COVAL, S.M.; BINKOSKI, A.E.; HILPERT, K.F.; GRIEL, A.E.; ETHERTON, T.D. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **The American Journal of Medicine**, v.113, p.71 - 88, 2002.

KRIS-ETHERTON, P.M.; YU-POTH, S.; SABATÉ, J.; RATCLIFFE, H.E.; ZHAO, G.; ETHERTON, T.D. Nuts and their bioactive constituents: effects on serum lipids and other factors that affect disease risk. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, p.504 - 511, 1999.

- KYOUNG CHUN, O.K.; KIM, D. Consideration on equivalent chemicals in total phenolic assay of chlorogenic acid-rich plums. **Food Research International**, v. 37, p. 337 - 342, 2004.
- MARCO, G. J. A rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 45, p.494-598, 1968.
- MILLER, H.E. A simplified method for the evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 48, p.91, 1971.
- MOREIRA, A. V. B.; MANCINI FILHO, J. Atividade Antioxidante das Especiarias Mostarda, Canela e Erva-doce em sistemas aquoso e lipídico. **Nutrire – Journal of the Brazilian Society of Food and Nutrition**, v. 25, p. 31-46, 2003.
- NOGALA-KALUCKA, M.; KORCZAK, J.; DRATWIA, M.; LAMPSRT-SZCZAPA, E.; SIGER, A.; BUCHOWSKI, M. Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests. **Food Chemistry**, v. 93, p. 227 – 235, 2005.
- ORO, T.; OGLIARI P.J.; AMBONI, R.D.M.C.; BARRERA-ARELLANO, D. y BLOCK, J.M. Evaluación de la calidad durante el almacenamiento de nueces Pecán [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] acondicionadas en diferentes envases. **Grasas y Aceites**, v. 59 (2), p. 132 - 138, 2008.
- POKORNÝ, J.; PARKÁNYIOVÁ, J. Lipids with antioxidant properties. **Healthful Lipids**. AOCS Press, 2005.
- PORTER, W.L. Paradoxical Behavior of antioxidants in food and biological systems. **Toxicology and Industrial Health**, v. 09 (1-2), p. 93 - 122, 1993.
- PRICE, M.L.; VAN SCOYOC, S.; BUTLER, L.G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 26, p. 1214 - 1218, 1978.

- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, n. 9/10, p.1231 -1 237, 1999.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANÇA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in plant science**, v.2, n.4, p.152 - 159, 1997.
- ROBINSON, T. **The organic constituents of higher plants. Their chemistry and interrelationships**. 3rd ed. Cordus Press, North Amherst, Mass, 1975.
- SANTOS-BUELGA, C. E.; SCALBERT, A. Proantocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**,v. 80, p. 1094 - 1117, 2000.
- SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavail-ability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v.130 (Suppl. 8S), p.2073S - 2085S, 2000.
- SENER, S.D.; FORBUS, JR W.R. Leucoanthocyanidin oxidation in pecan kernels: relation to discoloration and kernel quality. **Journal of Food Science**, v. 43, p. 128 - 134, 1978.
- SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Cereal, Legumes and Nuts**. In: Phenolics in Food and Nutraceutical. Boca Raton, CRC Press LLC, 2004.
- SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: souces, chemistry, effects and applications**. Lancaster: Technomic Publishing, 1995. p. 281 - 319.
- SOARES, S.E. Ácidos Fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p.71 - 81, 2002.
- SWINK J.W. **Pecans as a "young" ingredient**. Food Tech Europe, v.3, n.2, p. 75 - 76, 1996.
- TEPE, B. Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia virgata* (Jacq), *Salvia staminea* (Montbret & Aucher ex Bentham) and *Salvia verbenacea* (L.) from Turkey. **Bioresource Technology**, v. 99 (6), p. 1584 - 1588, 2008.
- THOMPSON, T.E.; GRAUKE, L.J.; YOUNG, E.F. JR. Pecan Kernel color: standars using the munsell color notation system. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 121(3), p. 548 – 553, 1996.

VENKATACHALAM, M. **Chemical composition of select pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] varieties and antigenic stability of pecan proteins.** 2004. 90p. (Dissertation) - College of Human Sciences, The Florida State University, [2004].

VILLARREAL-LOZOYA, J.E.; LOMBARDINI, L.; CISNEROS-ZEVALLOS. Phytochemical constituents and antioxidant capacity of different pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] cultivars. **Food Chemistry**, v.102, p. 1241-1249, 2007.

WAKELING, L.T.; MASON, R.L.; D'ARCY, B.R.; CAFFIN, N.A. Composition of pecan cultivars Wichita and Western Schley [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] grown in Australia. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p. 1277 - 1281, 2001.

WANASUNDARA, P.K.P.D.; SHAHIDI, F. Antioxidants: Science, Technology, and Applications. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Chemistry, Properties and Health Effects.** 6.ed., v.1, EUA, Wiley – interscience, 2005.

WILKINSON, J. Effect of ginger tea on the fetal development of Sprague-Dawley rats. **Reproductive Toxicology**, v. 14, p. 507 - 512, 2000.

WU, X.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; GEBHARDT, S.E.; PRIOR, R.L. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p.4026 - 4037, 2004.

CONCLUSÕES

- A casca (extrato alcoólico) apresentou em média, 7 vezes mais compostos fenólicos totais e 24 vezes mais taninos condensados quando comparada com a torta (extrato em acetona). Conseqüentemente, a atividade antioxidante avaliada, através dos sistemas ABTS e DPPH foi em média, 11 e 6 vezes respectivamente, mais pronunciada na casca da noz-pecã para esses extratos.
- O chá da casca da noz-pecã, apresentou valores para compostos fenólicos totais semelhantes aos encontrados no extrato alcoólico da casca, mas teores de taninos condensados 17 vezes inferiores (na média) aos determinados para esse extrato na casca. Esse resultado refletiu numa atividade antioxidante do chá, medida nos sistemas DPPH e ABTS, em média 1 e 2 vezes respectivamente, menor que a encontrada na fração alcoólica da extração seqüencial.
- Os extratos obtidos na extração seqüencial de casca e torta de noz-pecã, bem como o chá da casca apresentaram, no sistema β -caroteno e ácido linoléico, percentuais de inibição do processo oxidativo superior, em todas as concentrações estudadas, ao padrão de tocoferóis e as misturas de tocoferóis e extratos. Não foi observado sinergismo entre a atividade antioxidante dos extratos analisados e o padrão de tocoferóis utilizado. Além disso, no sistema β -caroteno e ácido linoléico, os extratos de casca e torta apresentaram percentuais de inibição do processo oxidativo semelhantes.
- Com base nesses resultados, pode-se inferir que os compostos presentes na casca da noz-pecã são mais eficientes nos sistemas ABTS e DPPH, onde demonstraram maior habilidade no seqüestro de radicais livres. Já os compostos presentes na torta da noz-pecã, apresentaram ação antioxidante superior aos extratos da casca, quando testados no sistema β -caroteno e ácido linoléico, pois exerceram percentuais de inibição da oxidação semelhantes aos extratos da casca, mesmo com concentrações inferiores de compostos fenólicos totais e taninos condensados. Isso se deve, provavelmente, ao fato dos compostos presentes na torta da noz-pecã serem diferentes em sua estrutura química dos compostos presentes na casca e, conseqüentemente mais eficazes na inibição da oxidação do ácido linoléico num sistema de emulsão aquosa.

Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]

- As amostras que se destacaram por apresentar parâmetros de cor com maior tendência aos tons vermelhos, também apresentaram maior teor de taninos condensados e, conseqüentemente maior atividade antioxidante nos sistemas ABTS e DPPH. Os resultados da análise instrumental da cor, sugerem que as variações na coloração vermelho-marrom, possam estar diretamente relacionadas com a concentração de flobafenos, polímeros de pigmentação vermelha, derivados dos taninos condensados.