Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

Composição nutricional e propriedades funcionais do murici
(*Byrsonima crassifolia*) e da moringa (*Moringa oleifera*)

Érica Sayuri Siguemoto

Dissertação apresentada ao programa de
Pós-Graduação em Nutrição em Saúde
Pública para obtenção do título de Mestre
em Ciências.

Orientadora: Profa. Dra. Deborah Helena
Markowicz Bastos

São Paulo
2013

Composição nutricional e propriedades funcionais do murici (*Byrsonima crassifolia*) e da moringa (*Moringa oleifera*)

Érica Sayuri Siguemoto

Dissertação apresentada ao programa de
Pós-Graduação em Nutrição em Saúde
Pública para obtenção do título de Mestre
em Ciências.

Orientadora: Profa. Dra. Deborah Helena
Markowicz Bastos

São Paulo
2013

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação

“Não sou aquele que sabe, mas aquele que busca.”

Hermann Hesse

Aos meus pais, Ticao e Lucia, pelo amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela oportunidade e inspiração nos momentos difíceis.

À Profa. Dra. Deborah Helena Markowicz Bastos por acreditar no meu potencial e pela orientação.

À FAPESP por conceder minha bolsa de mestrado e viabilizar esta dissertação.

À Fernanda Peixoto e organização *Trees For The Future* por conceder gentilmente amostras da farinha da folha de moringa.

À Federação das Cooperativas da Agricultura Familiar do Sul do Pará, especialmente ao Elias e Raimundo por realizar a coleta do fruto do murici e disponibilizar informações sobre as regiões de coleta.

À Profa. Dra. Natália Soares Janzantti, Profa. Dra. Maria Elisabeth Machado Pinto e Silva, Profa. Dra. Luciana Cristina Brigatto Fontes e Dra. Geni Sampaio pela leitura minuciosa, sugestões e contribuições.

À Rosana Soares pelo sorriso, paciência e grande contribuição na execução desta dissertação.

Aos meus colegas de laboratório: Áurea Trevisan, Amanda Cardoso, Nara Zandonadi, Cintia Silva, Gustavo Fontanari, Bianka Salvador, Camila Olivieri, Thaíse Mendes, Erica Monaro e Daniela Moura, meu sincero obrigada por participar e contribuir no meu aprendizado. Agradecimento especial ao Marcelo Marques por me ajudar com as formatações da dissertação.

À Profa. Dra. Giovana Tommaso Monzani por ser a minha grande incentivadora para a pós-graduação.

Aos meus queridos pais, Ticao e Lucia, por todo amor e apoio para que eu pudesse realizar mais uma etapa da minha vida.

Aos meus irmãos, Daniel e Luciana, pelo carinho.

Ao Rodrigo Belmonte por toda compreensão, carinho e suporte.

Ao meu amigo Lucas Herbst pelas consultorias “matemáticas”.

RESUMO

SIGUEMOTO, S. E. Composição nutricional e propriedades funcionais do murici (*Byrsonima crassifolia*) e da moringa (*Moringa oleifera*) [Dissertação de mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública. Universidade de São Paulo; 2013.

Introdução - Algumas espécies vegetais comestíveis, mas ausentes na dieta do brasileiro, podem ser boas fontes de nutrientes e de compostos bioativos, e a falta ou a perda de conhecimento sobre elas desfavorece sua inclusão na dieta. **Objetivo** - Avaliar a composição nutricional e propriedades funcionais da farinha de folha de moringa (*Moringa oleifera*) e da polpa de murici (*Byrsonima crassifolia*). **Metodologia** – Os frutos de murici foram coletados em três cidades diferentes do Pará. A farinha de folha de moringa foi coletada na cidade de Marília (SP), nos períodos de fevereiro (verão), maio (outono), julho (inverno) e outubro (primavera) de 2012. Foi realizada a caracterização físico-química, determinação de vitamina C e carotenoides das amostras. A partir do extrato da farinha da folha de moringa e do murici, foi analisado o teor de compostos redutores totais, o perfil de compostos fenólicos, a atividade antioxidante pela capacidade de captação do radical livre DPPH e pelo método de ORAC, atividade antiglicação e inibição de lipase pancreática. **Resultados** – O murici é um fruto rico em vitamina C (39,1 mg 100 g⁻¹ de amostra) e carotenoides, principalmente, luteína (18,66 mg 100 g⁻¹ de amostra). O extrato de murici contém flavonoides (epicatequina, catequina, rutina e quercetina), e possui elevada atividade antioxidante no método DPPH e ORAC, IC₅₀ de 1,2 mg de sólido solúvel mL⁻¹ e 46,1 mmol equivalente Trolox 100 g⁻¹ de sólido solúvel, respectivamente. Além disso, foi observada atividade de inibição da lipase pancreática e atividade antiglicação do extrato de murici. De modo geral, a farinha da folha de moringa possui alto teor de proteína (24,5 g

100 g⁻¹ de amostra), cálcio (1,9 g 100 g⁻¹ de amostra), potássio (1,8 g 100 g⁻¹ de amostra), e fibras totais (38,2 g 100 g⁻¹ de amostra). Possui elevado teor de carotenoides, destacando a luteína (304,1 mg 100 g⁻¹ de amostra) e β -caroteno (90,4 mg 100 g⁻¹ de amostra). No extrato da farinha de moringa foram identificados o ácido clorogênico e a rutina. O extrato da farinha de moringa apresenta baixa atividade de inibição da lipase pancreática (IC₅₀ 849,1 μ g de sólidos solúveis mL⁻¹), mas foi capaz de inibir a formação de produtos finais da glicação no sistema BSA/metilglioxal. **Conclusão** - O murici e a moringa demonstram ser espécies vegetais promissoras na melhoria da dieta do brasileiro, devido às características nutricionais apresentadas neste estudo.

Descritores: Moringa (*Moringa oleífera*); Murici (*Byrsonima crassifolia*); Composição nutricional; Propriedades funcionais; Atividade antioxidante.

ABSTRACT

SIGUEMOTO, S. E. Nutritional composition and functional properties of nance fruit (*Byrsonima crassifolia*) and drumstick (*Moringa oleifera*) [MSc. Dissertation]. São Paulo: School of Public Health. São Paulo University; 2013

Introduction - Some vegetables species, not presented in the diet of the brazilian, can be a good source of nutrients and bioactive compounds, and the gap or loss of knowledge about them disfavors the inclusion in the diet. **Objectives** – Evaluate the nutritional composition and the functional properties of drumstick leaves powder (*Moringa oleifera*) and the pulp of nance fruit (*Byrsonima crassifolia*). **Methods** – The nance fruits were collected in three different cities of Pará (Brazil). The drumstick leaves powder was collected in the city of Marília (Brazil), in the periods of february (summer), may (autumn), july (winter) and october (spring) of 2012. It was performed physicochemical characterization of the samples, determination of vitamin C and carotenoids. From the extract of drumstick leaves powder and nance fruit, was analyzed the total reducing substance, the profile of phenolic compounds, antioxidant activity by the ability to scavenger peroxy radical and by the ORAC method, antiglycation activity and inhibition of pancreatic lipase. **Results** – The nance fruit is rich in vitamin C (39,1 mg 100 g⁻¹ of sample) and carotenoids, mostly, lutein (18,66 mg 100 g⁻¹ of sample). The extract of nance contains flavonoids (epicatechin, catechin, rutin and quercetin), and has high antioxidant activity by the DPPH and ORAC methods, IC₅₀ of 1,2 mg soluble solid mL⁻¹ and 46,1 mmol equivalent Trolox 100 g⁻¹ soluble solid, respectively. Moreover, was observed inhibitory activity of pancreatic lipase and antiglycation activity of the extract of nance. Altogether, the drumstick leaves powder has

high content of protein (24,5 g 100 g⁻¹ of sample), calcium (1,9 g 100 g⁻¹ of sample), potassium (1,8 g 100 g⁻¹ of sample), and total fiber (38,2 g 100 g⁻¹ of sample). The drumstick leaves powder has high content of carotenoids, mostly, lutein (304,1 mg 100 g⁻¹ of sample) and β -carotene (90,4 mg 100 g⁻¹ of sample). In the extracts of drumstick leaves powder were identified chlorogenic acid and rutin. The extract presents low activity of pancreatic lipase inhibition (IC₅₀ 849.1 μ g soluble solid mL⁻¹), yet was capable of inhibiting the formation of glycation endproducts system BSA/ methylglyoxal. **Conclusion** – The nance fruit and the drumstick leaves powder shows to be vegetable species promising in improving the diet of the Brazilian, due to the nutritional characteristics presented in this study.

Key-words: Drumstick (*Moringa oleifera*); Nance fruit (*Byrsonima crassifolia*); Nutritional composition; Functional Properties; Antioxidant activity.

ÍNDICE

1.	INTRODUÇÃO	15
1.1.	Biodiversidade, alimentos e nutrição	15
1.1.	Murici (<i>Byrsonima crassifolia</i>)	19
1.2.	Moringa (<i>Moringa oleifera</i> Lam.)	22
1.3.	Justificativa	24
2.	OBJETIVOS	26
2.1.	Objetivo geral	26
2.2.	Objetivos específicos	26
3.	MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1.	Material vegetal	27
3.1.1.	Murici (<i>Byrsonima crassifolia</i>)	27
3.1.2.	Moringa (<i>Moringa oleifera</i>)	29
3.2.	Métodos	30
3.2.1.	Caracterização da Matéria-Prima	30
3.2.2.	Preparo dos Extratos para Ensaios de Atividade Biológica e para Caracterização de Compostos Fenólicos	41
3.2.3.	Screening Fitoquímico por Cromatografia em Camada Delgada	42
3.2.4.	Teor de Compostos Redutores Totais	43
3.2.5.	Identificação dos Compostos Fenólicos por CLAE	44
3.2.6.	Avaliação da Atividade Antioxidante <i>in vitro</i>	45
3.2.7.	Avaliação da Atividade de Inibição de Lipase Pancreática	48
3.2.8.	Avaliação da Atividade Antiglicação: Sistema Modelo Albumina Sérica Bovina (BSA)	50
3.3.	Análise dos Dados	51
3.4.	Questões Éticas	52
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.1.	Murici (<i>Byrsonima crassifolia</i>)	53
4.1.1.	Caracterização físico-química	53
4.1.2.	Vitamina C	61
4.1.3.	Carotenoides	65
4.1.4.	Screening fitoquímico para substâncias bioativas por cromatografia em camada delgada (CCD)	69
4.1.5.	Compostos redutores totais	70
4.1.6.	Análise de Compostos Fenólicos por CLAE	71
4.1.7.	Atividade antioxidante	75
4.1.8.	Atividade de inibição da lipase pancreática	77
4.1.9.	Atividade antiglicação: sistema modelo albumina sérica bovina (BSA)	79
4.2.	Farinha da Folha de Moringa (<i>Moringa oleifera</i>)	81
4.2.1.	Caracterização físico-química	81
4.2.2.	Vitamina C	88
4.2.3.	Carotenoides	89
4.2.4.	Avaliação da extração da farinha da folha de moringa	93
4.2.5.	Screening fitoquímico para substâncias bioativas por cromatografia em camada delgada	94
4.2.6.	Compostos Redutores Totais	96

4.2.7. Análise de Compostos Fenólicos por CLAE.....	97
4.2.8. Atividade Antioxidante	100
4.2.9. Atividade de inibição de lipase pancreática	102
4.2.10. Atividade Antiglicação: Sistema Modelo Albumina Sérica Bovina (BSA)	103
5. CONCLUSÃO	106
6. REFERÊNCIAS	107
ANEXOS.....	119

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Rendimento da parte comestível do murici	53
Tabela 2 - Valores de pH, atividade de água (Aw), sólidos solúveis totais (TSS), acidez titulável (AT), Luminosidade (L*), croma (C*) e ângulo-hue (H*) dos frutos de murici coletados em três municípios do estado do Pará.	55
Tabela 3 - Composição centesimal do murici em base integral em g 100 g ⁻¹ do fruto fresco	56
Tabela 4 - Composição de minerais do murici em mg 100 g ⁻¹ de fruto fresco.....	58
Tabela 5 - Perfil de ácidos graxos da polpa de murici	59
Tabela 6 - Parâmetros de validação do método analítico de ácido ascórbico para os frutos de murici	62
Tabela 7- Teor de vitamina C de murici de três municípios	63
Tabela 8 - Parâmetros de validação do método analítico de carotenoides para frutos de murici	66
Tabela 9 - Teor de carotenoides do murici de três municípios.....	66
Tabela 10 - Coeficientes de correlação de Pearson entre carotenoides e parâmetros de cor de frutos de murici	68
Tabela 11 - <i>Screening</i> fitoquímico do extrato de murici por cromatografia em camada delgada	70
Tabela 12 - Concentração de sólidos solúveis e substâncias redutoras no extrato de murici	70
Tabela 13 - Parâmetros de validação do método analítico para análise de compostos fenólicos para o extrato de murici	74
Tabela 14 - Compostos fenólicos identificados por CLAE-UV/DAD nos extratos de murici expresso em mg g ⁻¹ de sólidos solúveis.....	74
Tabela 15 - Atividade antioxidante do extrato de murici	75
Tabela 16- Coeficientes de correlação de Pearson entre atividade antioxidante e compostos bioativos presentes no murici	77
Tabela 17 - Atividade de inibição da lipase pancreática do extrato de murici	78
Tabela 18 - Atividade de antiglicação do extrato de murici.....	80
Tabela 19- Valores de atividade de água (Aw), luminosidade (L*), croma (C*) e ângulo-hue (H*) da farinha da folha da moringa coletados em diferentes estações	82
Tabela 20 - Composição centesimal expressa em g 100 g ⁻¹ de farinha da folha de moringa.	83
Tabela 21- Composição de minerais expresso em mg 100 g ⁻¹ de farinha da folha de moringa.	85
Tabela 22- Perfil de ácidos graxos da farinha de folha de moringa	87
Tabela 23 - Teor de vitamina C na farinha da folha de moringa de quatro estações.....	89
Tabela 24- Parâmetros de validação do método analítico para análise de carotenoides	91
Tabela 25- Teor de carotenoides da farinha da folha de moringa de quatro estações do ano	91
Tabela 26- Coeficientes de correlação de Pearson entre carotenoides e parâmetros de cor da farinha da folha de moringa	93
Tabela 27- <i>Screening</i> fitoquímico do extrato da farinha da folha de moringa por cromatografia em camada delgada	95

Tabela 28- Concentração de sólidos solúveis e substâncias redutoras do extrato de farinha da folha de moringa	96
Tabela 29- Parâmetros de validação do método analítico para análise de compostos fenólicos para extrato da farinha da folha de moringa	99
Tabela 30- Compostos fenólicos identificados por CLAE-UV/DAD nos extratos de farinha de folha de moringa expresso em mg g ⁻¹ de sólidos solúveis.....	99
Tabela 31- Atividade antioxidante do extrato de farinha da folha de moringa	100
Tabela 32- Coeficientes de correlação de Pearson entre atividade antioxidante e compostos bioativos presentes na farinha da folha de moringa	102
Tabela 33- Atividade de inibição da lipase pancreática do extrato de farinha da folha de moringa	103
Tabela 34- Atividade de antiglicação do extrato de farinha da folha de moringa	104

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Árvore e fruto de murici (<i>Byrsonima crassifolia</i>) de Marabá (Pará).....	20
Figura 2 - Folha, flor, fruto e semente da <i>Moringa oleífera</i> , coletada em Oriente (São Paulo), dezembro de 2011	23
Figura 3 - Transporte de Marabá (PA) para São Paulo (SP)	27
Figura 4 - Fluxograma de recebimento das amostras de murici.	28
Figura 5 - Amostras de farinha da folha de moringa coletadas no mês de fevereiro de 2012.	30
Figura 6 - Digrama de cor no sistema CIELAB, baseado em KRESS-ROGERS e BRIMELLOW (2001).....	31
Figura 7 - Porcentagem média de ácidos graxos dos três municípios de acordo com o grau de saturação.	60
Figura 8 - Perfil cromatográfico de padrão de AA (A), espectro de absorção de padrão de AA (B).	61
Figura 9 - Perfil cromatográfico da amostra de murici da cidade de Bom Jesus do Tocantins (A) e espectro de absorção (B).	62
Figura 10 - Perfil cromatográfico de carotenoides da amostra não saponificada de murici do município de Marabá.	65
Figura 11 - CCD do extrato de murici do município de Marabá.....	69
Figura 12 - Perfil cromatográfico da amostra de murici do município de Marabá (1 = catequina, 2 = epicatequina)	72
Figura 13 - Perfil cromatográfico da amostra de murici do município de Marabá (1 = quercetina)	72
Figura 14 - Perfil cromatográfico da amostra de murici do município de Marabá (1 = rutina)	73
Figura 15 - Curva dose-resposta para inibição da lipase pancreática no extrato de murici (A= Marabá, B = São João do Araguaia e C = Bom Jesus do Tocantins)	77
Figura 16 - Curva dose-reposta da inibição da formação de AGEs no extrato de murici (A = Marabá, B = São João do Araguaia, C = Bom Jesus do Tocantins).....	79
Figura 17 - Porcentagem média de ácidos graxos de acordo com o grau de saturação. AGS: ácidos graxos saturados, AGM: ácido graxo monoinsaturado e AGP: ácido graxo poli-insaturado.	86
Figura 18 - Perfil cromatográfico da luteína da amostra não saponificada de farinha de moringa coletada em fevereiro de 2012.	90
Figura 19 - Perfil cromatográfico da β -criptoxantina e β -caroteno da amostra saponificada de farinha de moringa coletada em fevereiro de 2012.	90
Figura 20 - Teor médio de fenólicos totais nos extratos de farinha de moringa do verão de 2012 (fevereiro) 94	
Figura 21 - CCD do extrato de farinha de folha de moringa de fevereiro.	95
Figura 22 - Perfil cromatográfico de farinha de moringa coletada no verão de 2012 (1 = ácido clorogênico) 97	
Figura 23 - Perfil cromatográfico de farinha de moringa coletada no verão de 2012 (1 = rutina)	98
Figura 24- Curva dose-resposta para inibição da lipase pancreática no extrato de farinha da folha da moringa de cada período de coleta (A = Verão, B = Outono, C = Inverno, D = Primavera)	102
Figura 25- Curva dose-reposta da inibição da formação de AGEs no extrato de farinha da folha de moringa (A = verão, B = outono, C = inverno, D = primavera).....	104

1. INTRODUÇÃO

1.1. BIODIVERSIDADE, ALIMENTOS E NUTRIÇÃO

O aspecto mais marcante da Terra é a existência da vida, e uma característica relevante é sua diversidade. A Conferência das Nações Unidas sobre o Meio Ambiente e o Desenvolvimento, conhecida como ECO-92, declarou que ações humanas estavam modificando os ecossistemas da Terra, como consequência, surge o questionamento sobre a capacidade da Terra de continuar provendo bens e serviços para a sociedade. Nesta mesma década houve o aumento de estudos sobre a importância de espécies vegetais nativas como fontes de micronutrientes e metabólitos secundários (NESBITT *et al.*, 2010; CARDINALE, 2012).

A diversidade pode ser constatada por 9 milhões de tipos de plantas, animais e microrganismos que habitam na Terra, além de 7 bilhões de pessoas. É estimado que cerca de 7000 espécies vegetais são comestíveis. Contudo, durante as últimas décadas, a alimentação está restrita a um número reduzido de espécies de animais e de grãos, como: arroz, milho e trigo, que respondem pela maior parte das calorias consumidas pelos humanos (STADLMAYR *et al.*, 2011; CARDINALE, 2012).

A dificuldade de acesso a alimentos e dietas adequadas representa um problema à população, pois depender de um pequeno número de espécies para alimentação acarreta um preocupante quadro de insegurança alimentar e nutricional. (STADLMAYR *et al.*, 2011).

No Brasil, dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) mostram que no período de 1974 a 2003 houve redução da aquisição de alimentos como arroz, feijão, carne bovina e frango, e um aumento de alimentos industrializados. Além disso,

estudos indicam a insuficiência no consumo de frutas, legumes e verduras na dieta do brasileiro e, como consequência, observa-se a deficiência de micronutrientes como vitamina A, C, E, K e D, cálcio, magnésio e zinco. Esta deficiência de micronutrientes pode estar relacionada ao agravamento de doenças crônicas não transmissíveis e associação com a obesidade (STADLMAYR *et al.*, 2011; LEÃO e SANTOS, 2012).

Uma alternativa é o uso da flora espontânea como recurso alimentar. Contudo, para a utilização das espécies espontâneas em larga escala, é de grande importância o conhecimento de sua composição química e nutricional.

Sabe-se que uma dieta adequada atua na manutenção da saúde e maximiza a longevidade, previne deficiência de nutrientes, reduz o risco de doenças crônicas relacionadas à alimentação, e deve ser composta de alimentos que estejam disponíveis, sejam seguros e sensorialmente agradáveis.

Estudos epidemiológicos demonstram que a ingestão insuficiente de compostos bioativos provenientes de vegetais, constitui importante componente de risco das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como doenças cardiovasculares, diabetes melito tipo 2, síndrome metabólica, hipertensão, e alguns tipos de câncer. Segundo este novo paradigma, as DCNT seriam doenças relacionadas também à deficiência de substâncias “essenciais para a longevidade” (BASTOS *et al.*, 2009).

A obesidade, um dos principais problemas mundiais de saúde pública, pode ser definida como o acúmulo excessivo de gordura corporal, resultante do desequilíbrio entre a ingestão e o gasto calórico que pode ser ocasionada por uma interação entre fatores dietéticos e ambientais a uma predisposição genética (MANCINI e HALPEN, 2002; PINHEIRO *et al.*, 2004).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), mais de um bilhão de pessoas no mundo está acima do peso, e um total de 500 milhões são consideradas clinicamente obesas. Cerca de 52 % da população brasileira está acima do peso recomendado para a altura, e 19 % da população brasileira é considerada obesa (OMS, 2011; OMS, 2013).

A prevalência da obesidade pode levar ao agravamento do risco de diabetes tipo II, doenças cardiovasculares e câncer. A incidência de outras patologias associadas à obesidade pode estar relacionada ao acúmulo de produtos de glicação avançada, AGEs (*Advanced Glycated End-Products*) e ao estresse oxidativo (PEIXOTO *et al.*, 2007).

O estresse oxidativo é decorrente do desequilíbrio entre o sistema pró e antioxidantes do organismo que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres. Radicais livres são moléculas orgânicas, inorgânicas e átomos que contêm um ou mais elétron não pareado, por exemplo, oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), radical superóxido (O_2^-), radical hidroxila ($\text{OH}^\cdot$), óxido nítrico ($\text{NO}^\cdot$), peroxinitrito ($\text{ONOO}^\cdot$). Esta configuração faz com que os radicais livres sejam moléculas extremamente instáveis e quimicamente muito ativas (BIANCHI e ANTUNES, 1999).

Se há um elevado estresse oxidativo em decorrência da formação de radicais livres, há danos e morte celular, e tais danos têm sido relacionados com cardiopatias, aterosclerose, diabetes, inflamações crônicas, envelhecimento, entre outros (BIANCHI e ANTUNES, 1999).

Há vários alimentos que possuem atividade antioxidante devido a compostos como: ácidos fenólicos, antocianinas, flavonoides, vitaminas C, E e carotenoides que podem atuar como antioxidantes primários, sequestrando radicais livres, ou ainda como antioxidantes secundários potencializando outros sistemas antioxidantes como certas enzimas (ALVES *et al.*, 2010).

Estudos indicam que compostos bioativos de origem vegetal podem ter relação benéfica no tratamento de obesidade. Estes tratamentos podem ser farmacológicos ou intervenções cirúrgicas que nem sempre são recomendados. O uso de drogas para obesidade implica em benefícios de curto prazo, que frequentemente está associada com o ganho de peso após a cessação do uso delas (SANTOS *et al.*, 2010; YUN, 2010).

Um mecanismo para o controle de obesidade inclui o desenvolvimento de inibidores da absorção de nutrientes, a fim de diminuir a ingestão de calorias. A inibição da absorção de triglicerídeos da dieta, por meio da inibição da lipase pancreática é uma das vias possíveis. O medicamento Orlistat, um derivado hidrogenado da lipstatina, obtido da bactéria *Streptomyces toxytricini*, é um potente inibidor da lipase gástrica e pancreática. A atividade de inibição de lipase também foi relatada para diversas plantas, como chá (*Camellia sinensis* L. Ktze), salácia (*Salacia reticulata* Wight) e sementes de uva (HAN *et al.*, 2001; MORENO *et al.*, 2003; NAKAI *et al.*, 2005).

Espécies vegetais consumidas como alimentos, condimentos ou bebidas por exemplo: laranja amarga (*Citrus aurantium* L. subsp. amara), café (*Coffea arabica* Linné), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e espécies de pimenta vermelha, apresentaram efeito de redução de peso. As substâncias presentes nestes alimentos auxiliam na perda de peso por meio da redução do apetite ou do aumento da taxa metabólica em repouso (WESTERTERP-PLANTENGA *et al.*, 2006).

Um dos grandes desafios da saúde pública é aumentar o consumo de frutas e vegetais que sejam fontes de algumas classes de substâncias bioativas. Entre os fatores que podem influenciar a inclusão destes alimentos na dieta regular, estão: a disponibilidade, a facilidade e rapidez no preparo, o hábito alimentar e o acesso.

Frutas e vegetais são excelentes fontes naturais de substâncias com potencial antioxidante, como por exemplo, vitaminas A, C e E, flavonoides e carotenoides que podem auxiliar na prevenção dos efeitos e na produção de AGEs e espécies reativas de oxigênio no organismo (RICE-EVANS e MILLER, 1995; XI *et al.*, 2008).

Ações para incentivar o uso de plantas espontâneas vêm sendo coordenadas pelo Ministério do Meio Ambiente, por meio do Projeto de Conservação e Utilização Sustentável da Diversidade Biológica Brasileira (PROBIO), que lançou uma Carta Consulta com a finalidade de selecionar propostas visando à realização de um diagnóstico para identificação, priorização e divulgação de informações sobre plantas nativas com potencial para comercialização. Esta iniciativa gerou uma lista com espécies de valor econômico atual e potencial – Plantas para o Futuro, a qual o murici pertence (BRASIL, 2011).

Portanto, são necessários estudos que possibilitem a identificação de compostos bioativos presentes em espécies espontâneas que são atualmente subutilizadas na dieta do brasileiro. A determinação de sua composição quantitativa, bem como a sua avaliação de propriedades biológicas propiciará ações para a inclusão destas espécies em programas que visam melhorar a dieta da população, estimular o consumo e abrir novos mercados.

1.1. MURICI (*Byrsonima crassifolia*)

O nome popular murici pode ser dado a diferentes espécies da família *Malpighiaceae*, tais como murici-pequeno (*B. verbascifolia*), murici-de-flor-vermelha (*B. punctulata*), murici-da-chapada (*B. salzmänniana*), murici-das-capoeiras (*B. lancifolia*), murici-do-campo (*B. crassifolia*, *B. intermedia*), murici-da-mata (*B. crispa*), murici-

vermelho (*B. amazonica*), entre outros. Sendo o murici (*B. crassifolia*) a espécie mais comum encontrada na extensão das Guianas a Brasil (FERREIRA, 2005; RUFINO, 2008).

Fruto típico da região Norte e Nordeste, mas também é encontrado nas regiões serranas do Sudeste, nos cerrados dos estados do Mato Grosso e Goiás. É encontrado espontaneamente nas regiões anteriormente citadas ou é cultivado nos países que fazem fronteira com a Amazônia brasileira, América Central e Caribe. A **Figura 1** mostra o muricizeiro da cidade de Marabá (Pará). A planta possui de 2 a 6 metros de altura e tronco tortuoso. As folhas opostas, simples e coriáceas, pelos ferrugíneos na face inferior. As flores são hermafroditas, possuem cálice com cinco sépalas oval-triangulares e corola formada por cinco pétalas amarelas. O fruto é uma drupa pequena, arredondada ou alongada, tendo em média 1 a 2 cm de diâmetro; exocarpo delgado, amarelo; mesocarpo pastoso, amarelo, medindo 5 mm de espessura, cheiro e sabor característicos; endocarpo arredondado ou ovalado, rígido e reticulado (FERREIRA, 2005).

Figura 1 - Árvore e fruto de murici (*Byrsonima crassifolia*) de Marabá (Pará).

O solo ideal para o desenvolvimento do muricizeiro é do tipo areno-argiloso, porém foram encontradas plantas crescendo normalmente tanto em solos arenosos como argilosos. Mas também, a planta não tolera solos encharcados, preferindo aqueles que têm boa drenagem. O clima para desenvolvimento do muricizeiro deve ser úmido e quente com ventilação constante. A frutificação tem início em novembro/dezembro, estendendo-se até abril/maio do ano seguinte. A produção média por pé é de 12 Kg de frutos (FERREIRA, 2005).

Na época da safra, o murici torna-se uma fruta procurada pela população, devido a grande aceitação de seu sabor. A comercialização nas capitais nordestinas ocorre em grande parte com a fruta *in natura* em feiras livres e mercados públicos das cidades. Outra forma de consumo são produtos derivados do murici, como por exemplo, sucos, geleias, sorvetes, iogurtes, doce em pasta e licores, comercializados em lanchonetes, sorveterias e supermercados das cidades (ALVES e FRANCO, 2003; FERREIRA, 2005; RUFINO, 2008).

O murici é um fruto de importância econômica para pequenas comunidades que colhem de forma extrativista para o consumo e comercialização. Apesar da importância do muricizeiro nessas comunidades, pouco se conhece sobre informações de cultivo e suas características nutricionais.

O fruto tem sido utilizado pela população como alimento ou como agente terapêutico, por sua ação cicatrizante e anti-inflamatória. Há estudos que mostram que o murici possui componentes antioxidantes, como os compostos fenólicos, carotenoides e ácido ascórbico (GUIMARÃES e SILVA, 2008; BARRETO *et al.*, 2009; ALMEIDA *et al.*, 2011; DE SOUZA *et al.*, 2012).

1.2. MORINGA (*Moringa oleifera* Lam.)

Moringa oleifera Lam., pertencente a família *Moringaceae*, é uma planta nativa da Índia e hoje encontra-se em várias áreas tropicais e subtropicais, como Filipinas, Camboja, América Central, América do Norte, América do Sul e ilhas do Caribe.

Em 1950, a moringa foi introduzida no Brasil como planta ornamental, e desde então tem sido difundida. É encontrada na região Nordeste, principalmente nos estados do Maranhão, Piauí e Ceará. É conhecida como lírio-branco, quiabo-de-quina ou moringa.

Árvore de rápido crescimento, quando adulta o tamanho varia de 5 a 10 metros de altura. Esta árvore possui capacidade de crescer em terras quentes e secas, e solos pobres em nutrientes (ANWAR *et al.*, 2007; BARRETO *et al.*, 2009).

As folhas são bipenadas com sete folíolos pequenos em cada pina, como mostra a **Figura 2**. As flores são relativamente grandes, perfumadas, de cores creme ou branca, são agrupadas em inflorescências terminais do tipo cimosas. Em regiões em que o índice pluviométrico é maior que 600 mm por ano as árvores estão sempre floridas. Os frutos são vagens pendulares, possuem cor verde a marrom esverdeado, formatos triangulares e se quebra longitudinalmente em três partes quando secas. Cada vagem pode conter 10 a 20 sementes, estas são globóides, escuras por fora e contêm em seu interior uma massa branca e oleosa (DOS SANTOS, 2010).

Há relatos do uso de folhas, flores, fruto e raízes jovens da árvore como vegetais, em muitos países como a Índia, Paquistão, Filipinas, Havaí e algumas regiões da África. (SANCHEZ-MACHADO, LOPEZ-CERVANTES e VASQUES, 2006; ANWAR *et al.*, 2007).

Figura 2 - Folha, flor, fruto e semente da *Moringa oleífera*, coletada em Oriente (São Paulo), dezembro de 2011

As folhas de moringa são ricas em β -caroteno, proteínas, vitamina C, cálcio e potássio. Folhas, flores e sementes da *Moringa oleífera* são consideradas fonte natural de antioxidantes. Há relatos que algumas aldeias no sul da Índia usam folhas frescas de moringa para preparar *ghee*, uma manteiga utilizada na culinária indiana, com finalidade de aumentar a vida de prateleira de produto (SIDDHURAJU e BECKER, 2003; IQBAL e BHANGER, 2006; ANWAR *et al.*, 2007).

Na medicina indiana, há relatos de propriedades medicinais atribuídas para várias partes da árvore. ANWAR e colaboradores (2007) descrevem o uso medicinal da folha da moringa como: purgativo, analgésico, anti-inflamatório e o suco da folha de moringa é utilizado com finalidade de controlar os níveis de glicose.

As folhas de moringas *in natura* têm sabor agradável, podem ser consumidas cozidas em: sopas, bolos, pães e guisados. A vagem pode ser usada verde e fresca, e quando cozidas tem sabor parecido com ervilhas. As sementes podem ser torradas ou cozidas com sal.

No Brasil, a farinha da folha desta espécie é utilizada pela Pastoral da Criança, em estados do Norte e Nordeste do país para alimentação de populações com carências nutricionais. No interior de São Paulo (Marília) há um projeto “*Moringa oleifera* – A árvore da vida” em parceria do *Trees for Future* e do Instituto Sócio Ambiental Árvores para o Futuro (ISAAF) que utiliza a farinha da folha de moringa em escolas do estado de São Paulo.

1.3. JUSTIFICATIVA

A alimentação é a base da vida e sua diversificação contribui positivamente para o estado de saúde do ser humano. Entretanto, observa-se que a alimentação se restringe a algumas espécies vegetais e também animais, devido a mudanças no cenário atual como: industrialização, globalização alimentar e urbanização. Do ponto de vista de saúde pública é importante identificar a combinação de alimentos de origem vegetal e animal que possam prevenir a deficiência nutricional e as doenças crônicas.

Estudos sugerem que ocorrem variações da composição nutricional e propriedades biológicas dos alimentos dependendo da região de coleta e estação do ano. Entretanto, não há estudos relatando composição e atividade biológica da farinha da folha de moringa coletadas no estado de São Paulo em meses variados da coleta. Também não há dados na literatura especializada/científica avaliando a influência da região da coleta na atividade biológica e na composição do murici (SIDDHURAJU e BECKER, 2003; IQBAL e BHANGER, 2006).

Portanto, o presente estudo visa incentivar o consumo do murici e da farinha da folha de moringa, capazes de disponibilizar substâncias que auxiliam na manutenção da

saúde. Os dados de composição e de funcionalidade poderão ser empregados para políticas públicas de promoção da saúde da população que visem propiciar o acesso da população a alimentos de origem vegetal de qualidade.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo foi avaliar a composição nutricional e propriedades funcionais da polpa do murici (*Byrsonima crassifolia*), e da farinha da folha de moringa (*Moringa oleifera*), a fim de favorecer a sua inserção na dieta do brasileiro.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição centesimal da farinha da folha de moringa e polpa de murici;
- Determinar a composição de ácidos graxos e carotenoides nestas espécies;
- Determinar a composição de vitamina C das espécies;
- Estudar o efeito de compostos bioativos da farinha da folha de moringa e polpa de murici na inibição da lipase, na formação de AGEs e no estresse oxidativo;
- Analisar algumas classes de compostos bioativos presentes nestas espécies e relacioná-los as atividades mencionadas acima;
- Avaliar o efeito da sazonalidade no teor de compostos bioativos e atividades biológicas presentes na farinha da folha de moringa;
- Avaliar o efeito da região de coleta do murici com relação ao teor de compostos e atividades biológicas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATERIAL VEGETAL

3.1.1. Murici (*Byrsonima crassifolia*)

Os frutos de murici (*Byrsonima crassifolia*) foram adquiridos da Federação das Cooperativas da Agricultura Familiar do Sul do Pará – FECAT. Estes foram colhidos no período de 27 a 30 de Janeiro de 2012, de três cidades do estado do Pará: Marabá (latitude -05° 18' 06" sul e longitude -49° 04' 29" oeste) a 685 Km de Belém, Bom Jesus do Tocantins (latitude -05° 17' 29" sul e longitude -48° 54' 54" oeste) a 606 Km de Belém e São João do Araguaia (latitude -05° 25' 40" sul e longitude -48° 43' 03" oeste) a 725 Km de Belém, conforme **Anexo 1**.

Logo que os frutos chegaram à cooperativa FECAT, estes foram imediatamente congelados e armazenados à -20 °C. Após dois dias da coleta (02 de Fevereiro de 2012) as amostras foram transportadas por via aérea para São Paulo, acondicionadas em embalagens plásticas de 100 gramas em caixas de isopor, conforme mostra a **Figura 3**.

Figura 3 - Transporte de Marabá (PA) para São Paulo (SP)

No laboratório de Bromatologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, os frutos ainda congelados foram selecionados, higienizados e acondicionados em sacos de polietileno com revestimento de folha de alumínio para impedir a passagem de luz, sendo fechados por pressão e armazenados em freezer a -20 °C até o momento das análises, conforme a **Figura 4**.

Figura 4 - Fluxograma de recebimento das amostras de murici.

Antes das análises, uma porção de murici de cada município foi descongelada, despolpada e triturada em um moinho (modelo M20, marca IKA), garantindo que os resultados fossem os mais próximos ao fruto *in natura*. Deve-se ressaltar que os frutos de murici foram selecionados no estágio em que normalmente são consumidas como alimento. Os parâmetros utilizados na determinação para colheita foram a firmeza e a cor do fruto.

Estas amostras (ramos com cerca de 30 cm contendo flor e fruto), por meio de exsicata, foram submetidas à identificação pelo Instituto de Botânica. O laudo confirma que as amostras pertencem à família *Malpighiaceae*, da espécie *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth, conforme o **Anexo 2**.

3.1.2. Moringa (*Moringa oleifera*)

As folhas de moringas foram coletadas no interior do estado de São Paulo (região de Marília) em áreas de assentamento rural. As amostras foram coletadas sempre no mesmo local (latitude -21° 99' 19'' sul e longitude -49° 54' 75'' oeste) nos meses de fevereiro (verão), maio (outono), julho (inverno) e outubro (primavera) de 2012.

A farinha da folha de moringa foi fornecida pela organização *Trees for the Future*. De acordo com a organização, a farinha da folha de moringa foi fabricada por meio dos seguintes procedimentos: higienização das folhas da moringa, secagem à sombra por quatro dias, e trituração. As amostras da farinha da folha de moringa foram enviadas para o Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

As amostras da farinha de folha de moringa foram tamisadas (tamis 20-Mesh) e acondicionadas em embalagens de polietileno com revestimento de folha de alumínio para impedir a passagem da luz, sendo fechada a pressão e armazenadas em freezer a -20 °C até o momento das análises, conforme **Figura 5**.

A amostra da planta (ramo com cerca de 30 cm contendo flor e fruto), por meio de exsicata, foi submetida à identificação pelo Instituto de Botânica. O laudo confirma que a amostra pertence à família *Moringaceae*, da espécie *Moringa oleífera* Lam., conforme o **Anexo 3**.

Figura 5 - Amostras de farinha da folha de moringa coletadas no mês de fevereiro de 2012.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Caracterização da Matéria-Prima

A polpa de murici foi caracterizada com relação a: cor, teor de sólidos solúveis, acidez titulável, pH, atividade de água, composição centesimal, fibras, minerais, ácidos graxos, ácido ascórbico e carotenoides. Enquanto a farinha da folha de moringa foi caracterizada cor, atividade de água, composição centesimal, fibras, minerais, ácidos graxos, ácido ascórbico e carotenoides.

3.2.1.1. Cor

A cor dos frutos de murici e farinha da folha de moringa foi determinada por meio de três leituras em lados opostos de cada amostra. Para tal utilizou-se o colorímetro (modelo ColorQuest XE, marca HunterLab). Os valores de cor foram expressos no sistema CIELAB. As leituras foram obtidas pelos valores de L^* (luminosidade), a^* (componente vermelho ao verde) e b^* (componente amarelo ao azul), conforme **Figura 6**. Para o cálculo da tonalidade cromática (ângulo hue - H^*) foi utilizada a **Equação 1**, e croma (C^*) calculou-se pela **Equação 2**. As condições de teste foram: iluminante D_{65} , ângulo de visão de 10° , calibração “Reflectance Specular Inclued” (RSIN).

$$H^* = \tan^{-1} (b^*/a^*) \quad (\text{Equação 1})$$

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (\text{Equação 2})$$

Figura 6 - Digrama de cor no sistema CIELAB, baseado em KRESS-ROGERS e BRIMELLOW (2001)

3.2.1.2. Teor de Sólidos Solúveis (TSS)

Nos frutos de murici mediu-se o teor de sólidos solúveis, em triplicata, utilizando o refratômetro [modelo N-1 α (°Brix 0 – 32), marca Atago]. Os resultados foram expressos em quantidade de gramas de sólidos solúveis em 100 mL de solução da polpa - °Brix. (LUTZ, 2008).

3.2.1.3. Acidez Titulável (AT)

De acordo com CECCHI (2007) e LUTZ (2008), 10 g de polpa de murici foi homogeneizada em 50 mL de água destilada. A solução foi titulada, em triplicata, com NaOH 0,1 N até pH 8,10. Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido cítrico.

3.2.1.4. pH

O pH das amostras de murici foi determinado por meio de três leituras. O equipamento utilizado foi potenciômetro (modelo PG1800 da marca Gehaka), conforme CECCHI (2007) e LUTZ (2008).

3.2.1.5. Atividade de Água (Aw)

A atividade de água do murici e da moringa foi medida no aparelho (modelo CX-2 da marca Aqualab-Decagon Devices Inc.). Atividade de água foi expressa pela relação da pressão de vapor de água da amostra sobre a pressão de vapor de água pura.

3.2.1.6. Composição Centesimal e Fibras

Os teores de umidade, proteínas, lipídeos e cinzas foram determinados, conforme métodos descritos pela *Association of Official Analytical Chemists* – AOAC (1995). O conteúdo de fibras totais foi determinado pelo método enzimático-gravimétrico (AOAC, 1995). As análises foram realizadas em triplicata e os resultados apresentados como média das três repetições.

O teor de carboidratos foi determinado por diferença, a partir de 100 g do produto e a soma dos valores encontrados para umidade, cinzas, lipídeos e proteínas. O valor calórico foi calculado utilizando-se os seguintes fatores de conversão: 9 kcal g⁻¹ de lipídeos, 4 kcal g⁻¹ de proteína e 4 kcal g⁻¹ de carboidratos (DE ANGELIS, 1977).

3.2.1.7. Análise de Minerais

A análise de minerais foi realizada pelo Laboratório de Fertilidade do Solo e Nutrição Vegetal, localizado em Paracatu – MG. Cerca de 150 g de amostra de farinha de moringa e murici foram secas em estufa a 80 °C, em sequência trituradas. A metodologia utilizada foi a da digestão nitro-perclórica (4 mL de ácido nítrico + 1 mL de ácido perclórico e digerido por 4 horas) e determinado por ICP-AES (Espectrometria de Emissão Atômica), de acordo com BATAGLIA e colaboradores (1983). Analisaram-se os seguintes minerais: fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn), sódio (Na), cobre (Cu), enxofre (S). Os valores foram expressos em mg 100 g⁻¹ de amostra.

3.2.1.8. Análise de Ácidos Graxos

Os lipídeos das amostras foram extraídos pelo método de BLIGH e DYER (1959). Uma alíquota contendo 150 mg de lipídeos foi submetida à saponificação com NaOH 0,5N em metanol, esterificada com BF₃ em metanol por meio de aquecimento, e extraída em hexano grau CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), segundo metodologia proposta por METCALFE *et al.*, 1966. A identificação dos ésteres metílicos foi realizada em um cromatógrafo gasoso (modelo Chrompack CP9002, marca Shimadzu). As condições cromatográficas foram as seguintes: coluna capilar de sílica fundida CP-SIL 88 (50 m; 0,25 mm e 0,25 µm), gás de arraste: hidrogênio a 2,0 mL min⁻¹, injetor *splitter* à 270 °C, com razão de *split* de 1:67, detector DIC (Detector de Ionização em Chama) à 300 °C. A programação da coluna: temperatura inicial de 60 °C, com elevação de 5,0 °C min⁻¹ até 240 °C. O volume injetado de cada extrato no cromatógrafo a gás foi de 1 µL. Foi utilizado como padrão o *Lipid Standard SIGMA – Fatty acid methyl ester mixtures* 47885 para identificação dos picos. A quantificação foi realizada por normalização das áreas calculadas e expressa em porcentagem relativa (SAMPAIO *et al.*, 2006).

3.2.1.9. Análise de Ácido Ascórbico

As análises de ácido ascórbico (AA) e deidroascórbico (DIA) foram realizadas na farinha da folha de moringa e no murici (CARDOSO *et al.*, 2011a; CARDOSO *et al.*, 2011b).

Amostras de farinha de folha de moringa foram previamente hidratadas por uma hora com 10 mL de água deionizada. Pesou-se 1 grama das amostras, e adicionou-se 5 mL

de água deionizada. Homogeneizou-se por 20 segundos no processador tipo Ultra Turrax (modelo T18 basic, marca IKA), e adicionou-se 15 mL de solução extração (3% ácido metafosfórico, 8% ácido acético, 0,3 N ácido sulfúrico e 1 mM EDTA). Em seguida, homogeneizou-se no *vortex* oito vezes durante 15 segundos. Centrifugou-se a 1800 g por 15 minutos a 4 °C, e após a centrifugação o sobrenadante foi diluído em água deionizada até o volume de 25 mL em balão volumétrico. Em sequência, alíquotas de 1 mL foram filtradas com filtro para seringa 0,45 µm (Millipore) e colocadas no *vial* âmbar para serem injetadas.

Para determinação de vitamina C total foi necessário à conversão de ácido deidroascórbico (DIA) para ácido ascórbico (AA). O DIA foi quantificado nas amostras pela diferença entre a quantidade de AA total, depois da conversão de DIA em AA, e a quantidade de AA inicial, antes da conversão de DIA. O DIA foi convertido em AA de acordo com o método proposto por CARDOSO e colaboradores (2011b) adaptado para as amostras. Tampão Trizma (0,5 M) contendo 40 mM ditioneitol (DTT) foi adicionado em 1 mL do extrato da amostra. Adicionou-se o tampão no extrato para aumentar o pH até valor próximo a neutralidade (pH 5,5-6,0) e deixou a mistura reagir por 10 minutos em temperatura ambiente no escuro. Depois deste período adicionou-se 3 mL de ácido sulfúrico 0,4 M, a fim de reduzir o pH no valor inicial antes da avaliação cromatográfica.

A separação, identificação e quantificação de ácido ascórbico foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), comparado com padrão de ácido ascórbico. Todos os solventes utilizados para a separação foram de grau cromatográfico e previamente filtrados em sistema Millipore de filtração a vácuo com membrana para solventes orgânicos de 0,45 µm.

As análises de CLAE foram realizadas em equipamento (modelo LC-20AT, marca Shimadzu), com injetor automático SIL-20AC, controlador CBM-20A, forno de coluna CTO-20A e detector de arranjo de diodos SPD-M20A. A coluna utilizada foi Shim-Pack VP-ODS-2 (25,0 cm x 0,5 cm, com partícula de 5 μm , marca Shimadzu) e fase estacionária de C18.

A fase móvel foi preparada com fosfato de sódio monobásico 1 mM e EDTA 1 mM, com pH ajustado para 3 com ácido fosfórico. A eluição foi isocrática e o fluxo de 0,6 mL min⁻¹. O volume de injeção foi de 20 μL .

A identificação foi realizada por comparação dos espectros de absorção e pelo tempo de retenção com o padrão puro de referência. A quantificação foi realizada pelo DAD (Detector de Arranjo Diodos), por meio de curva de calibração externa de 8 pontos com o padrão de referência: ácido ascórbico a 245 nm (tempo de retenção 8,90 minutos). Os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹ de amostra.

Para validação da metodologia de análise de ácido ascórbico determinou-se os limites de detecção (LD), quantificação (LQ) e recuperação. A recuperação de AA foi analisada, em triplicata, por adição de concentrações do padrão de ácido ascórbico semelhantes às encontradas nas amostras (14 $\mu\text{g mL}^{-1}$). O limite de detecção foi calculado como a concentração mínima capaz de fornecer um sinal cromatográfico três vezes maior do que o sinal de ruído. O limite de quantificação foi calculado como a concentração mínima capaz de proporcionar um sinal cromatográfico cinco vezes maior do que o sinal de ruído (CARDOSO *et al.*, 2011a).

3.2.1.10. Determinação de Carotenoides (β -criptoxantina, β -caroteno e luteína)

O método de análise utilizado para determinação de carotenoides foi o descrito por RODRIGUEZ-AMAYA (2001); DE SÁ e RODRIGUEZ-AMAYA (2004).

A extração dos carotenoides foi feita a partir de amostras homogeneizadas de murici e farinha de moringa hidratada com água deionizada (10 mL). Os carotenoides foram extraídos com acetona gelada (20 mL), utilizando-se um agitador magnético por uma hora com gelo. Os extratos foram sonicadas por 5 minutos no banho de ultrassom. Repetiu-se esse procedimento quatro vezes até observar a descoloração completa da amostra. O extrato de acetona obtido foi filtrado em funil de Büchner sob vácuo utilizando papel filtro qualitativo e coletado em balão de Erlenmeyer coberto com papel alumínio.

Dando sequência ao experimento, o extrato foi particionado com 10% de éter etílico em éter de petróleo em funil de separação, foi adicionada água deionizada gradualmente (aproximadamente 150 mL) nas paredes do funil evitando-se a formação de emulsão. O extrato foi separado em duas fases, descartando-se a fase aquosa. O éter foi coletado em um balão de Erlenmeyer e as partículas dos pigmentos aderidos as paredes do funil de separação foram removidas por meio de lavagem com éter etílico em éter de petróleo (10:90, v/v).

Transferiu-se uma parte do extrato de éter de petróleo para um balão de evaporador rotativo coberto com papel alumínio, e uma parte do extrato foi destinada para a saponificação, caso fosse necessário.

Realizou-se a etapa de saponificação somente para as amostras de farinha de moringa com o objetivo de eliminar a clorofila, dado que o processo de saponificação é

recomendado em vegetais de folhas verdes e alimentos com alto teor lipídico, e tem como objetivo eliminar lipídeos e clorofila (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

De acordo com HART e SCOTT (1995), tempo de hidrólise, temperatura, concentração de KOH e lavagem podem ocasionar a formação de produtos indesejáveis, isomerização e perdas de carotenoides. Por isso, avaliou-se o melhor tempo de hidrólise (1, 3 e 12 horas) para as amostras estudadas para em seguida decidir pelo período de 12 horas de saponificação das amostras de farinha de moringa, que apresentou maior concentração de β -criptoxantina e β -caroteno.

O extrato foi saponificado, adicionando-se o volume de 10% de KOH em metanol, contendo 0,1% BHT, no extrato de éter de petróleo. A mistura foi deixada em temperatura ambiente no escuro. Após 12 horas, foi lavada com água deionizada (aproximadamente 500 mL), similar à etapa de partição, para o descarte do álcali. A lavagem foi realizada até a água de descarte ficar com pH neutro, que foi verificado mediante o emprego de papel indicador. A fase saponificada de éter foi transferida para um balão de evaporador rotativo coberto com papel alumínio.

O extrato saponificado e não saponificado de éter de petróleo foi concentrado até a secagem completa em um evaporador rotativo (modelo R 210, marca Büchi) com temperatura de 30 °C. O extrato seco foi dissolvido em acetona grau cromatográfico (amostra não saponificada de farinha de moringa 10 mL, amostra saponificada de farinha de moringa 4 mL e amostra não saponificada de murici 4 mL), filtrado em membrana Millipore com tamanho do poro de 0,22 μ m e diâmetro de 13 mm. O sobrenadante foi estocado na geladeira (5°C) até o momento da análise cromatográfica.

A identificação e quantificação de carotenoides foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), comparados com os padrões (luteína, β -criptoxantina e

β -caroteno). Todos os solventes utilizados para a separação por CLAE foram de grau cromatográfico e previamente filtrados em sistema Millipore de filtração a vácuo, com membrana para solvente orgânico de 0,45 μm .

As análises de CLAE foram realizadas em equipamento (modelo LC-20AT, marca Shimadzu) com injetor automático SIL-20AC, controlador CBM-20A, forno de coluna CTO-20A e DAD SPD-M20A. A coluna utilizada foi Shim-Pack VP-ODS-2 (25 cm x 0,5 cm, com partícula de 5 μm , marca Shimadzu) e fase estacionária de C18.

A fase móvel foi preparada com acetonitrila/metanol/acetato de etila. A eluição foi gradiente de 60: 20: 20 para 60: 0: 40 em 43 minutos, e proporção de solvente foi mantida até o final da corrida, com fluxo de 0,8 mL min⁻¹. Acetonitrila continha 0,05% de trietilamina, como recomenda RODRIGUEZ-AMAYA (2001), a fim de melhorar a recuperação dos carotenoides da coluna cromatográfica. O volume de injeção foi de 20 μL . A identificação foi realizada por comparação dos espectros de absorção e pelo tempo de retenção com o padrão puro. A detecção foi realizada a 450 nm.

A quantificação da luteína, β -caroteno e β -criptoxantina foi realizada por meio de padronização externa de curvas analíticas de seis pontos elaboradas com padrão puro, seguindo a lei de Beer-Lambert. A concentração real dos carotenoides foi determinada de acordo com a **Equação 3**.

$$A = \varepsilon * C_{molar} * d \quad \text{Lei de Beer-Lambert}$$

$$C_{molar} = \frac{A}{\varepsilon * d} \quad \text{(Equação 3)}$$

onde:

A = Absorbância medida em determinado comprimento de onda

ε = Coeficiente absortividade molar em um específico comprimento de onda [L mol⁻¹ cm⁻¹]

C_{molar} = Concentração molar [mol L^{-1}]

d = largura da cubeta de quartzo [cm^{-1}]

Os valores dos coeficientes de absorvidade molar (ϵ) foram obtidos de acordo com CRAFT e SOARES (1992). A concentração real de cada carotenoide foi expressa por g L^{-1} , e calculada pela **Equação 4**.

$$C_{\text{real}} = C_{\text{molar}} * PM \quad (\text{Equação 4})$$

onde:

C_{real} = concentração real do carotenoide [g L^{-1}]

C_{molar} = concentração molar do carotenoide [mol L^{-1}]

PM = peso molecular do carotenoide [g mol^{-1}]

Para validação do método foram utilizados como parâmetros de validação os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), a repetibilidade das áreas dos picos dos carotenoides, por meio da análise de dez replicatas das amostras e a recuperação. Os limites de detecção foram calculados como a concentração mínima capaz de fornecer um sinal cromatográfico três vezes maior do que o sinal de ruído. Os limites de quantificação foram calculados como a concentração mínima capaz de proporcionar um sinal cromatográfico de cinco vezes maior do que o sinal de ruído. A recuperação dos carotenoides foi analisada, em triplicata, por adição de concentrações do padrão de luteína, β -caroteno e β -criptoxantina semelhantes às encontradas nas amostras de murici e farinha de moringa. Os resultados foram expressos em $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de amostra (CARDOSO *et al.*, 2011b).

O valor da vitamina A foi estimado de acordo com os fatores de conversão relatados pelo Institute of Medicine – IOM-US (2001).

3.2.2. Preparo dos Extratos para Ensaio de Atividade Biológica e para Caracterização de Compostos Fenólicos

3.2.2.1. Obtenção do extrato da polpa de murici

A extração de compostos fenólicos e atividade antioxidante do murici foi baseada no estudo de SOUZA (2013) . O estudo determinou que a condição ótima foi a seguinte: 25 mL de acetona: água (42:58, v/v), 1,5 g de polpa de murici, sob agitação magnética à 34,9 °C por 62 minutos, depois realizou-se a centrifugação por 15 minutos a 1500 x g a 4 °C e foi coletado o sobrenadante e ajustou-se o volume para 25 mL. Neste trabalho foram utilizadas estas condições de extração para avaliar a atividade biológica e a caracterização de compostos fenólicos do murici. Os extratos de murici foram preparados nos mesmos dias em que foram realizadas as análises.

3.2.2.2. Obtenção do extrato da farinha da folha de moringa

Foram avaliadas as seguintes extrações, em duplicata, para a farinha da folha de moringa:

- (a) Extrato 1: metanol: água (80:20), 1 g de amostra, agitação magnética à temperatura ambiente por 3 horas, centrifugação por 15 minutos a 1500 x g a 4

°C, coleta do sobrenadante e volume ajustado para 25 mL (IQBAL e BHANGER, 2006)

- (b) Extrato 2: metanol: água (50:50), 1 g de amostra, refluxo em banho com água à 90 °C por 1 hora, centrifugação por 15 minutos a 1500 x g a 4 °C, coleta do sobrenadante e volume ajustado para 25 mL (NAEEM, 2012);
- (c) Extrato 3: metanol: água (50:50), 1 g de amostra, refluxo em banho com água à temperatura ambiente por 1 hora, centrifugação por 15 minutos a 1500 x g a 4 °C, coleta do sobrenadante e volume ajustado para 25 mL (SULTANA, 2009);
- (d) Extrato 4: metanol: água (80:20), 1 g de amostra, agitação magnética à temperatura ambiente por 1 hora, centrifugação por 15 minutos a 1500 x g a 4 °C, coleta do sobrenadante e volume ajustado para 25 mL.

Nos extratos acima mencionados fez-se a quantificação de compostos redutores totais e optou-se pelo extrato (extrato 4) que apresentou maior teor de compostos fenólicos. Deve-se destacar que os extratos de farinha de moringa foram realizados nos mesmos dias que as análises.

3.2.3. *Screening* Fitoquímico por Cromatografia em Camada Delgada

O perfil dos compostos bioativos nas amostras foi avaliado por cromatografia em camada delgada (CCD) segundo a metodologia descrita por WAGNER e BLADT (1996). Adicionou-se 5 mL de hexano em uma alíquota de 5 mL de extrato de farinha de moringa, homogeneizou-se o extrato no *vortex*, recolheu-se o sobrenadante para seu descarte. Repetiu-se este procedimento até ser eliminada a coloração verde do extrato da farinha de moringa. Os extratos de murici e farinha de moringa foram concentrados para a análise por

meio da evaporação de: 5 mL sob a atmosfera de nitrogênio e redissolvido em 1 mL de metanol.

Os extratos concentrados foram aplicados em cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ (Merck) sendo eluídas em diferentes sistemas de solventes: acetato de etila/ácido fórmico/água (82: 9: 9) e acetato de etila/ácido fórmico/hidróxido de amônio (82: 9: 9). Após secas a temperatura ambiente as placas foram borrifadas com soluções reveladoras visando à identificação de substâncias bioativas. As soluções reveladoras (NP-PEG, dragendorf, vanilina e anisaldeído em meio ácido) foram preparadas de acordo com WAGNER e BLADT (1996). O perfil dos compostos com capacidade sequestrante do radical livre DPPH foi determinado por aspersão de solução de DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila) 2,5 mM em metanol (Gu, Wu e Wang, 2009).

3.2.4. Teor de Compostos Redutores Totais

O teor de compostos redutores totais dos extratos de polpa de murici e farinha da folha de moringa foi determinado por reação colorimétrica utilizando o reagente Folin-Ciocalteu que reage com os compostos fenólicos da amostra (SINGLETON e ROSSI, 1965).

Em uma microplaca de poliestireno com 96 cavidades (fundo plano, transparente, Greiner Bio-one GmbH), foram pipetados 120 µL de extrato diluídos das amostras e 50 µL de solução do reagente Folin-Ciocalteu diluído 5 vezes. Após a agitação e incubação em temperatura ambiente por três minutos, foram pipetados 30 µL de solução de carbonato de sódio (200 g L⁻¹), seguido de incubação por uma hora a 37 °C e leitura da absorbância em

comprimento de onda de 765 nm, utilizando-se para isso o leitor de placas (modelo SpectraMax M5, marca Molecular Devices Inc.).

Para quantificar o teor de compostos fenólicos totais das amostras foi elaborada uma curva de calibração com padrão externo de ácido gálico em sete concentrações diferentes (0 -25 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico por 100 mg de matéria seca (mg EAG 100 mg^{-1} de matéria seca). Os ensaios foram realizados em triplicata.

3.2.5. Identificação dos Compostos Fenólicos por CLAE

Os extratos de murici e folha de moringa foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de acordo com PEREIRA e colaboradores (2004) e TIBERTI e colaboradores (2007).

As análises dos compostos fenólicos foram realizadas em equipamento CLAE (modelo LC-20AT, marca Shimadzu), com injetor automático SIL-20AC, controlador CBM-20A, forno de coluna CTO-20A e detector de arranjo de diodos SPD-M20A. A coluna utilizada foi Shim-Pack VP-ODS-2 (25 cm x 0,5 cm, com partícula de 5 μm , marca Shimadzu) e fase estacionária de C18.

Utilizou-se como fase móvel ácido trifluoracético 0,1 % (v/v) em água deionizada, como eluente A, e acetonitrila, como eluente B. Antes do início da análise, o sistema foi equilibrado com uma mistura de 9,5: 0,5 dos eluentes A e B, respectivamente. A programação do gradiente foi a seguinte: 5% de B (10 minutos), 5 – 100% de B (40 minutos), 100% de B (5 minutos), 5% de B (5 minutos). A temperatura do forno foi

mantida a 35 °C e fluxo do eluente foi mantido em 1 mL min⁻¹ durante a análise. A detecção foi realizada entre 190 a 400 nm.

Para validação do método foram utilizados como parâmetros de validação os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), a repetibilidade das áreas dos picos dos compostos fenólicos, por meio da análise de dez replicatas das amostras, e a recuperação (AOAC, 2002). O limite de detecção foi calculado como a concentração mínima capaz de fornecer um sinal cromatográfico três vezes maior do que o sinal de ruído. O limite de quantificação foi calculado como a concentração mínima capaz de proporcionar um sinal cromatográfico de cinco vezes maior do que o sinal de ruído. A recuperação dos compostos fenólicos foi analisada, em triplicata, por adição de concentrações do padrão semelhantes às encontradas nas amostras de murici e farinha de moringa.

Padrões puros de compostos fenólicos foram utilizados para a identificação nas amostras, tais como: ácido gálico, naringina, quercetina, rutina, ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido rosmarínico, ácido ferúlico, ácido p-cumárico, catequina e epicatequina.

Os resultados foram expressos em mg por g de matéria seca. Os ensaios foram realizados em triplicata.

3.2.6. Avaliação da Atividade Antioxidante *in vitro*

3.2.6.1. Capacidade de Captação de Radicais Livres (DPPH)

A capacidade antioxidante dos extratos de murici e farinha de moringa foi determinada pela redução do radical estável DPPH (1,1-difenil-picrilhidrazil), método

proposto por BRAND-WILLIAMS e colaboradores (1995) e FUKOMOTO e MAZZA (2000).

Foi preparada uma solução de DPPH ($150 \mu\text{mol L}^{-1}$) em metanol 80% (v/v). Para cada extrato foi preparada soluções com diferentes concentrações: extrato de murici ($1000 - 20 \mu\text{L mL}^{-1}$) e extrato de moringa ($120 - 20 \mu\text{L mL}^{-1}$). As determinações foram realizadas em microplacas de poliestireno com 96 cavidades (fundo plano, transparente, Greiner Bio-one GmbH) foram pipetados $200 \mu\text{L}$ de DPPH ($150 \mu\text{mol L}^{-1}$) e $20 \mu\text{L}$ de amostra. Para o branco, foram pipetados $200 \mu\text{L}$ de metanol e $20 \mu\text{L}$ de metanol 80% (v/v). E para o controle, $200 \mu\text{L}$ de DPPH e $20 \mu\text{L}$ de metanol 80% (v/v). A mistura reacional foi incubada por 30 minutos, ao abrigo da luz e a temperatura ambiente. O decaimento da absorbância foi avaliado pelo leitor de placas (modelo SpectraMax M5, Molecular Devices Inc.) a 520nm.

O decaimento da absorbância foi calculado utilizando-se a Equação 5.

$$\% \text{ de redução de DPPH} = 1 - \left(\frac{\text{abs. amostra}}{\text{abs. controle}} \right) * 100 \quad (\text{Equação 5})$$

O IC_{50} (concentração necessária para captar 50% do DPPH presente inicialmente no meio) das amostras foi obtido pela linha de regressão linear da concentração da amostra *versus* a redução de DPPH (%) em relação aos valores obtidos com o controle. Os resultados foram expressos em μg de sólidos solúveis de extrato por mL. Os ensaios foram realizados em triplicata.

3.2.6.2. Capacidade de Absorção do Radical Oxigênio (ORAC)

O potencial antioxidante também foi avaliado pela capacidade de absorbância de radical oxigênio usando fluoresceína (3',6'-dihidroxi-*espiro*[isobenzofurano-1[3H],9'[9H]-xanten]-3-ona) como marcador fluorescente (ensaio ORAC), segundo metodologia de OU e colaboradores (2001).

O ensaio ORAC foi conduzido cineticamente a fim de medir a capacidade de proteger um marcador fluorescente (fluoresceína) contra o ataque de um radical livre (AAPH). A reação ocorre no meio composto de fluoresceína (3',6'-dihidroxi-*espiro*[isobenzofurano-1[3H],9'[9H]-xanten]-3-ona), radical livre estável AAPH (2,2'-azobis[2-aminopropano]) dissolvidos em tampão fosfato (pH 7,4).

Em microplaca FLUOTRAC 200 com 96 cavidades (fundo plano, cor preta, Greiner BIO-one Brasil), foram pipetados 50 µL de amostra dos extratos diluídos, 150 µL de fluoresceína (93,54 mmol L⁻¹). Esta mistura reacional foi incubada a 37 °C por 15 minutos, depois se pipetou na mistura 50 µL de AAPH (221 mmol L⁻¹). Para o branco e diluições foi utilizado tampão fosfato (75 mmol L⁻¹, pH 7,4).

Os extratos de murici e farinha da folha de moringa foram adicionados no meio e acondicionados a 37 °C. A característica antioxidante da amostra protege a fluoresceína do radical livre, mantendo o marcador fluorescente por maior tempo. Por 1 hora, o decaimento da fluorescência foi medido a 37 °C ($\lambda_{\text{excitação}} = 493 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{emissão}} = 515 \text{ nm}$) utilizando-se o leitor de placas (modelo SpectraMax M5, marca Molecular Devices Inc.). O padrão utilizado no ensaio foi Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico). Para o cálculo da capacidade antioxidante das amostras foi elaborada uma curva de

calibração com padrão Trolox ($400 \mu\text{mol L}^{-1}$) em cinco concentrações diferentes (0 – 40 μM).

O valor ORAC foi calculado pela área sob a curva de emissão da fluorescência, recorrendo as informações de intensidade e de tempo. Portanto para as três soluções (branco, amostra e Trolox) determinou-se a área sob a curva (*area under curve* - AUC) pela **Equação 6**.

$$\text{AUC} = 1 + f_1/f_0 + \dots f_i/f_0 + \dots + f_{60}/f_0, \quad (\text{Equação 6})$$

onde f_0 é representado pela fluorescência obtida no tempo 0 e f_i a fluorescência obtida nos tempos intermediários entre 0 e 60 minutos.

Os resultados de murici foram expressos em μmoles equivalentes de Trolox 100 g^{-1} matéria seca, e os resultados da farinha da folha de moringa foram expressos em moles equivalentes de Trolox 100 g^{-1} matéria seca. Os ensaios foram realizados em triplicata.

3.2.7. Avaliação da Atividade de Inibição de Lipase Pancreática

O método utilizado para avaliação da ação dos extratos sobre a atividade da lipase pancreática foi descrito por KURIHARA e colaboradores (2003) e NAKAI e colaboradores (2005) e, consiste na mensuração da atividade da enzima utilizando 4-metilumbeliferil oleato (4-MUO) como substrato.

Em microplaca FLUOTRAC 200 com 96 cavidades (fundo plano, cor preta, Greiner BIO-one Brasil), as amostras dos extratos foram previamente diluídas com água deionizada (25 μL) e misturadas com 50 μL de uma solução de 4-MUO em tampão (13

mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1,3 mM CaCl_2 , pH 8,0). A mistura foi incubada com solução de lipase pancreática suína tipo II (0,2 mM) por 30 minutos a 37 °C. A reação é interrompida pela adição de 100 μL de citrato de sódio 0,1M (pH 4,2). Uma solução controle foi incubada nas mesmas condições, substituindo-se o extrato por água deionizada. O 4-metilumbiferona formado foi medido em leitor de microplacas (modelo SpectraMax M5, Molecular Devices Inc.) com $\lambda_{\text{excitação}} = 355 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{emissão}} = 460 \text{ nm}$.

Os extratos de murici e farinha da folha de moringa indicaram conter compostos fluorescentes, que foi detectada fluorescência nos extratos diluídos. Diante da apresentação da fluorescência, utilizou-se um branco para cada diluição dos extratos (25 μL da diluição do extrato, 50 μL de 4-MUO e 25 μL de tampão) e também para a solução controle (25 μL de água deionizada, 50 μL de 4-MUO e 25 μL de tampão), sendo a diferença utilizada para o cálculo do IC_{50} das amostras. Orlistat (1 mg mL^{-1}) em água deionizada foi usado como controle positivo da inibição da atividade da lipase pancreática, e posteriormente diluída ($1,2 - 0,075 \mu\text{g mL}^{-1}$) para o cálculo do IC_{50} .

Todas as análises foram realizadas em triplicata e para cada extrato realizou-se uma curva com cinco diluições. O IC_{50} (concentração necessária para inibir 50 % a atividade da lipase pancreática) das amostras foi obtido pela regressão dos mínimos quadrados do logarítmo da concentração da amostra *versus* a atividade da lipase pancreática (porcentagem), em relação aos valores obtidos com o controle. Os resultados foram expressos em μg de sólidos solúveis de extrato por mL. Os ensaios foram realizados em triplicata.

3.2.8. Avaliação da Atividade Antiglicação: Sistema Modelo Albumina Sérica Bovina (BSA)

A capacidade de antiglicação dos extratos de murici e folha de moringa foi mensurada na presença de albumina sérica bovina e metilglioxal com ou sem adição dos extratos em estudo, de acordo com LUNCEFORD e GUGLIUCCI (2005) e BEAULIEU e colaboradores (2010).

A albumina sérica bovina ($0,1 \text{ mg mL}^{-1}$) foi dissolvida em tampão fosfato (10 mmol L^{-1}) pH 7,4 contendo 150 mmol L^{-1} NaCl, $3,7 \text{ mmol L}^{-1}$ EDTA e azida sódica (0,25 % v/v). A mistura reacional obtida foi incubada na ausência e presença de metilglioxal ($5 \text{ } \mu\text{mol mL}^{-1}$) a $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ pelo período de três dias. O meio foi adicionado, ou não (controle), em cinco pontos de diluições do extrato de murici ($60 - 0,78 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$), farinha da folha de moringa ($40 - 0,78 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$), ou aminoguanidina ($4 - 0,25 \text{ mmol L}^{-1}$) para um volume final de 3 mL.

Os extratos de murici e farinha de moringa apresentaram fluorescência. Diante desta condição, os ensaios foram realizados utilizando-se um branco (metilglioxal e amostra) para cada diluição dos extratos, e também para o controle (metilglioxal e tampão fosfato).

Após a incubação, 3 mL de cada amostra foi acondicionada em membranas de diálise, e dialisados com o auxílio de uma barra magnética, contra 1 L de tampão fosfato 10 mmol L^{-1} pH 7,4 por 24 horas e troca de tampão a cada 12 horas, em seguida foram armazenados em um refrigerador convencional a $8 \text{ }^{\circ}\text{C}$, para remoção de compostos fluorescentes não interessantes à análise.

Após a diálise, $200 \text{ } \mu\text{L}$ de cada replicata de cada amostra foi pipetada em quatro poços da microplaca FLUOTRAC 200 com 96 cavidades (fundo plano, cor preta, Greiner

BIO-one Brasil). A concentração de AGEs foi determinada por fluorescência ($\lambda_{exc} = 355$ nm; $\lambda_{emis} = 460$ nm) utilizando-se um leitor de microplacas (modelo SpectraMax M5, Molecular Devices Inc.). A porcentagem de inibição foi medida de acordo com a **Equação 7**.

$$\text{Porcentagem de inibição AGEs} = \left(\frac{F_{controle\ negativo} - F_{amostra}}{F_{controle\ negativo}} \right) * 100 \quad (\text{Equação 7})$$

Onde, $F_{amostra}$ é a fluorescência de cada diluição do extrato de murici ou farinha de moringa (contendo albumina sérica bovina, metilglioxal e diluições do extrato); $F_{controle\ negativo}$ é a fluorescência de cada diluição do extrato (sem albumina sérica bovina).

Foi calculado o IC_{50} (concentração necessária para inibir 50% a formação de AGEs). O IC_{50} das amostras de extrato de murici e foi obtido pela linha de regressão dos mínimos quadrados do logarítmo da concentração da amostra *versus* atividade da inibição de AGEs (%) em relação aos valores obtidos com o controle. O IC_{50} das amostras de extrato da farinha da folha de moringa foi obtido pela regressão linear da concentração da amostra *versus* atividade de inibição de AGEs (%) em relação aos valores obtidos com o controle. Os resultados foram expressos em μg sólidos solúveis do extrato mL^{-1} e os ensaios realizados em triplicata.

3.3. Análise dos Dados

Foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov e verificou a normalidade das variáveis. Os resultados obtidos foram expressos em média aritmética e desvio padrão e as diferenças entre as variáveis (ácido ascórbico, carotenoides, compostos fenólicos totais, compostos fenólicos, atividade antioxidante, atividade antiglicação e inibição da lipase

pancreática) das diferentes épocas de coleta da farinha de moringa e de diferentes regiões do Pará do fruto murici foram determinadas pela Análise de Variância (ANOVA) e, quando necessário, pelo teste de múltiplas comparações de Tukey. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. Para correlacionar as variáveis realizou-se a correlação de Pearson, considerando-se associação fraca ($0,00 < r < 0,29$), baixa ($0,30 < r < 0,49$), moderada ($0,50 < r < 0,69$), forte ($0,70 < r < 0,89$) e muito forte ($0,90 < r < 1,00$) (PETT *et al.*, 2003).

As análises estatísticas foram realizadas pelo software Action, suplemento do Excel.

3.4. Questões Éticas

Os resíduos químicos foram armazenados e descartados segundo as boas práticas de segurança do laboratório. A empresa AMBICAMP foi a responsável pela retirada e incineração dos resíduos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Murici (*Byrsonima crassifolia*)

4.1.1. Caracterização físico-química

O rendimento do murici é apresentado na **Tabela 1**, observa-se que a parte comestível (polpa e casca) representa em média 21% da massa total do fruto. Estes dados são importantes, já que permitem calcular o rendimento do fruto durante o processamento para obtenção de polpa congelada, doces em massas, compotas, sorvetes, cremes, licores, iogurtes e processados semelhantes.

Tabela 1 - Rendimento da parte comestível do murici

Município	Massa do fruto ¹ (g)	Massa da semente ¹ (g)	Massa da polpa e casca ¹ (g)	Rendimento da parte comestível ¹ (%)
Marabá	2,7 ^{a,b} ± 0,1	1,9 ^a ± 0,1	0,5 ^a ± 0,0	20,3 ^a ± 0,1
São João do Araguaia	2,5 ^b ± 0,2	1,8 ^b ± 0,0	0,6 ^b ± 0,0	23,7 ^b ± 0,2
Bom Jesus do Tocantins	2,9 ^a ± 0,1	2,2 ^c ± 0,0	0,5 ^a ± 0,0	18,8 ^c ± 0,1
Média	2,7 ± 0,2	2,0 ± 0,2	0,5 ± 0,0	20,9 ± 2,5

¹ Média ± desvio padrão de 50 frutos. Letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa (p < 0,05).

Os frutos de murici contêm uma única semente de formato arredondado e grande (corresponde em média 79% do fruto), de aspecto lenhoso e rugoso. A polpa apresenta-se como uma massa mole e amarelada de pouca espessura, aroma frutal e semelhante a queijo rançoso.

O pH, teores de atividade de água, sólidos solúveis totais, acidez titulável e parâmetros de cor obtidos em diferentes regiões de coleta de murici são apresentados na **Tabela 2**.

O murici de Marabá apresentou pH estatisticamente diferente dos frutos coletados em São João do Araguaia e Bom Jesus do Tocantins, contudo diferença de 0,2 no pH não é significativo no processamento do murici. Frutos ácidos, como o murici, favorecem processos de industrialização na forma de doces como geleias e doces em massas. O valor médio do pH do murici é semelhante ao encontrado em outras espécies do mesmo gênero, *B. verbascifolia* (pH 3,4), *B. myricifolia* (pH 3,6), *B. dealbata* (pH 3,5) (VALLILO *et al.*, 2007; GUIMARÃES e SILVA, 2008; RUFINO *et al.*, 2009).

Em relação à atividade de água, os frutos não apresentaram diferenças significativas, caracterizando-se um alimento com elevado teor de água livre ($A_w > 0,9$).

O teor de sólidos solúveis totais é um bom parâmetro para mensurar a qualidade quanto ao sabor, já que o teor de sólidos solúveis inclui o teor de açúcares e ácidos orgânicos. Frutos da cidade de Marabá e São João do Araguaia não diferiram significativamente quanto ao valor de sólidos solúveis totais, estes apresentaram maiores valores do que o relatado por GUIMARÃES e SILVA (2008) da espécie *B. verbascifolia* (10,7 °Brix).

Tabela 2 - Valores de pH, atividade de água (Aw), sólidos solúveis totais (TSS), acidez titulável (AT), Luminosidade (L*), croma (C*) e ângulo-hue (H*) dos frutos de murici coletados em três municípios do estado do Pará.

Município	pH	Aw	TSS ¹	AT ²	TSS/AT	cor		
						L*	C*	H*
Marabá	3,7 ^a ± 0,0	1,0 ^a ± 0,0	12,3 ^a ± 0,2	1,2 ^a ± 0,0	10,1 ^a ± 0,4	65,8 ^a ± 0,1	34,8 ^a ± 0,1	81,5 ^a ± 0,4
São João do Araguaia	3,5 ^b ± 0,0	1,0 ^a ± 0,0	10,9 ^a ± 1,0	2,1 ^b ± 0,0	5,2 ^b ± 0,4	57,5 ^b ± 0,2	37,7 ^b ± 0,1	77,6 ^b ± 0,8
Bom Jesus do Tocantins	3,5 ^b ± 0,0	1,0 ^a ± 0,0	8,2 ^b ± 0,3	2,1 ^b ± 0,0	3,9 ^c ± 0,1	60,1 ^c ± 0,3	36,1 ^c ± 0,4	77,3 ^b ± 0,7
Média	3,5 ± 0,1	1,0 ± 0,0	10,4 ± 1,9	1,8 ± 0,4	6,4 ± 3,2	61,1 ± 3,7	36,2 ± 1,2	78,8 ± 2,1

¹ expresso em °Brix; ² expresso em mg ácido cítrico/100 g de polpa. Valores expressos como média ± desvio padrão de três determinações. Letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa (p < 0,05).

A relação TSS/AT (*ratio*) é um dos indicadores mais comuns de maturação dos frutos, servindo tanto de parâmetro para o consumo *in natura*, como para processamento de alimentos. O murici de Marabá apresentou maior relação, comparado aos frutos de São João do Araguaia e Bom Jesus do Tocantins. Estes valores demonstraram que mesmo os frutos coletados no mesmo período do ano, apresentam diferentes graus de maturação, o que pode explicar as diferenças físico-químicas entre os frutos de cada município.

A parte comestível do murici apresenta uma polpa com luminosidade (L^*) média e tonalidade amarelada, conforme indicado pelo valor de tonalidade cromática alta (H^* acima de 70), podendo a tonalidade variar para um amarelo ligeiramente alaranjado (valores positivos de H^*).

A **Tabela 3** apresenta valores médios dos componentes do fruto de murici dos três municípios do estado do Pará. A polpa de murici caracteriza-se por apresentar alto teor de umidade ($76,5 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ de fruto fresco) enquadrando-se na classe dos frutos carnosos e suculentos.

Tabela 3 - Composição centesimal do murici em base integral em $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ do fruto fresco

Componentes ¹ %	Município			Média
	Marabá	Bom Jesus do Tocantins	São João do Araguaia	
Umidade	$77,5^a \pm 0,3$	$77,3^a \pm 1,1$	$74,6^b \pm 0,6$	$76,5 \pm 1,5$
Cinzas	$0,7^a \pm 0,0$	$0,8^a \pm 0,2$	$0,6^a \pm 0,0$	$0,7 \pm 0,1$
Proteínas	$0,8^a \pm 0,0$	$1,0^b \pm 0,0$	$1,1^c \pm 0,0$	$1,0 \pm 0,1$
Lipídeos	$3,8^a \pm 0,2$	$3,4^a \pm 0,2$	$3,0^b \pm 0,2$	$3,4 \pm 0,4$
Fibras insolúveis	$2,8^a \pm 0,0$	$2,6^a \pm 0,1$	$3,9^b \pm 0,2$	$3,1 \pm 0,6$
Fibras solúveis	$0,7^a \pm 0,0$	$0,5^b \pm 0,0$	$0,6^b \pm 0,0$	$0,6 \pm 0,1$
Carboidratos totais ²	$10,8^a \pm 0,0$	$13,2^a \pm 0,0$	$10,3^a \pm 0,3$	$11,4 \pm 1,4$
VCT ³ (kcal 100 g^{-1})	$81,3^a \pm 2,3$	$83,6^a \pm 1,2$	$76,8^a \pm 2,0$	$80,6 \pm 3,4$

¹ Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão de 3 determinações; ² Calculado por diferença; ³ VCT: valor calórico, calculado utilizando-se os fatores de conversão: 9 kcal g^{-1} de lipídios, 4 kcal g^{-1} de proteínas e 4 kcal g^{-1} de carboidratos. Letras diferentes na mesma linha representam diferença significativa ($p < 0,05$)

O valor energético médio calculado no murici equivale a 81 kcal 100 g⁻¹ de parte comestível do murici, este valor deve-se a presença de açúcares (46 kcal 100 g⁻¹), lipídeos (31 kcal 100 g⁻¹) e em menor proporção as proteínas (4 kcal 100 g⁻¹). Comparando os dados obtidos com o de outra espécie, *B. verbascifolia*, verificou-se que esta apresenta maior valor energético (109 kcal 100 g⁻¹) quando comparado com a *B. crassifolia*, esta diferença é observada devido a maior proporção de carboidratos (78 kcal 100 g⁻¹) encontrados na espécie *B.verbascifolia* (GUIMARÃES e SILVA, 2008).

Estudos indicam que a ingestão regular de frutos, vegetais e cereais integrais possuem benefícios como: prevenção de obesidade, doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2, além de aumentar a absorção de água no cólon, prevenindo a constipação. A Organização Mundial da Saúde (OMS), em conjunto com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) recomendam a ingestão diária de 400 g frutos e vegetais por dia. A Associação Dietética Americana recomenda a ingestão de fibras alimentares para adultos seja de 20 a 35 g dia⁻¹ (MARLETT *et al.*, 2002; NISHIDA *et al.*, 2004).

Em relação ao teor médio total de fibra alimentar (3,7 %), o murici atende 18,5 % a recomendação para um adulto, se consumido 100 g de fruto. Portanto o murici pode ser classificado como “alimento fonte de fibras”, de acordo com o critério adotado pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 1998).

Sabe-se que a composição química dos frutos varia de espécie para espécie, e também esta associada à fase de maturação dos frutos, à época da colheita e aos processos de manipulação e acondicionamento após a coleta. Neste trabalho, mesmo realizando a coleta das amostras de murici na mesma época, os frutos serem da mesma espécie e ficarem nas mesmas condições de manipulação e armazenamento, as frutas apresentaram

diferenças significativas de umidade, proteína, lipídeos e fibras nas diferentes regiões coletadas, isso se deve a fatores de cada região de coleta como: condições climáticas, índice pluviométrico e adubação do solo. Nutrientes presentes no solo como nitrogênio e potássio são utilizados na síntese de proteínas, carboidratos e lipídeos da planta, de acordo com CAMARGO (2001).

Quanto aos minerais, conforme **Tabela 4**, o potássio é o micronutriente predominante, seguido do cálcio, magnésio e enxofre. Foram observadas diferenças estatísticas na composição de minerais de acordo com a região de coleta do murici. Estas variações ocorrem de acordo com o estado nutricional da planta, e principalmente, com a disponibilidade de minerais no solo (CAMARGO, 2001).

Tabela 4 - Composição de minerais do murici em mg 100 g⁻¹ de fruto fresco

Minerais (mg 100 g ⁻¹)	Municípios			Média
	Marabá ¹	São João do Araguaia ¹	Bom Jesus do Tocantins ¹	
P	16,4 ^b ± 0,0	18,8 ^a ± 0,0	16,4 ^b ± 0,0	17,2 ± 1,3
K	286,7 ^c ± 0,0	310,2 ^b ± 0,2	314,9 ^a ± 0,1	303,9 ± 15,1
Ca	70,5 ^a ± 0,1	47,0 ^b ± 0,1	40,0 ^c ± 0,0	52,5 ± 16,0
Mg	30,5 ^a ± 0,0	21,1 ^b ± 0,0	23,5 ^c ± 0,0	25,1 ± 4,9
S	32,9 ^a ± 0,1	23,5 ^b ± 0,0	18,8 ^c ± 0,0	25,1 ± 7,2
Zn	0,3 ^a ± 0,0	0,2 ^b ± 0,0	0,2 ^b ± 0,0	0,3 ± 0,1
Fe	0,7 ^a ± 0,0	0,3 ^b ± 0,0	0,3 ^b ± 0,0	0,4 ± 0,3
Mn	0,02 ^a ± 0,00	0,02 ^a ± 0,00	0,02 ^a ± 0,00	0,02 ± 0,00
Cu	0,1 ^a ± 0,0	0,1 ^a ± 0,0	0,1 ^a ± 0,0	0,1 ± 0,0
Na	0,4 ^b ± 0,0	0,5 ^a ± 0,0	0,4 ^b ± 0,0	0,4 ± 0,1

¹ Valores expressos como média ± desvio padrão

De modo geral, o potássio é o principal mineral encontrado nas frutas e os valores relatados na literatura variam entre 295,7 a 463,6 mg 100 g⁻¹. O murici apresentou valores similares ao teor de potássio da banana (SULAIMAN *et al.*, 2011).

SOUZA e colaboradores (2012) determinaram potássio (103,0 mg 100 g⁻¹ de polpa), fósforo (2,6 mg 100 g de polpa⁻¹), cálcio (5,5 mg 100 g de polpa⁻¹), magnésio (10,1 mg 100 g de polpa⁻¹) e ferro (0,2 mg 100 g de polpa⁻¹) da polpa de murici (*B. crassifolia*) coletada em Uberlândia/Minas Gerais/Brasil. Os valores de minerais apresentados no trabalho de SOUZA e colaboradores (2012) são diferentes das amostras analisadas neste trabalho, sugerindo que existe variação no teor de minerais, de acordo com cada região coletada.

A composição dos ácidos graxos do murici e a porcentagem média de acordo com o grau de saturação encontram-se na **Tabela 5** e **Figura 7**, respectivamente.

Tabela 5 - Perfil de ácidos graxos da polpa de murici

Ácidos graxos (g 100 g ⁻¹ ácidos graxos)	Município		
	Marabá ¹	Bom Jesus do Tocantins ¹	São João do Araguaia ¹
Palmítico (C16:0)	761,5 ^c ± 8,7	858,0 ^b ± 13,2	993,5 ^a ± 11,6
Estearico (C18:0)	64,6 ^c ± 5,7	86,8 ^b ± 4,7	99,7 ^a ± 1,8
Oleico (C18:1 n9)	2316,1 ^b ± 14,4	2277,9 ^b ± 28,5	2723,7 ^a ± 7,0
Linoleico (C18:2 n6)	147,3 ^c ± 4,3	358,6 ^a ± 16,6	250,9 ^b ± 12,5
Docosaenoico (C22:6 n3)	nd.	84,2 ^b ± 14,8	98,8 ^a ± 10,2
AGS	826,1 ^c ± 13,3	944,9 ^b ± 17,8	1093,2 ^a ± 13,2
AGM	2316,1 ^b ± 14,4	2277,9 ^b ± 28,5	2723,7 ^a ± 7,0
AGP	147,3 ^b ± 4,26	414,8 ^a ± 52,3	312,9 ^a ± 52,4

¹ Valores expressos como média ± desvio padrão. nd.: não detectado. AGS: ácidos graxos saturados, AGM: ácido graxo monoinsaturado e AGP: ácido graxo poli-insaturado. Letras diferentes na mesma linha representam diferença significativa (p < 0,05)

A polpa de murici apresenta em média mais de 65% de ácidos graxos monoinsaturados, como mostra a **Figura 7**. O ácido oleico é o ácido graxo monoinsaturado mais comum encontrado em sementes, nozes, gordura animal e alguns vegetais. O segundo ácido graxo de maior abundância foi o palmítico, e outro ácido graxo presente no murici, mas em proporções reduzidas é o estearico. Os demais ácidos graxos insaturados foram:

linoleico e o docosaexaenoico, este último detectado no murici de Bom Jesus do Tocantins e São João do Araguaia em baixas concentrações.

O ácido linoleico é precursor dos ácidos graxos poli-insaturados ω -6 de cadeia mais longa, este ácido não pode ser biosintetizado pelo homem, sendo assim considerados ácidos graxos essenciais (HORNSTRA, 2001).

Os ácidos graxos poli-insaturados da série ω -3, como o ácido docosaexaenoico (DHA), presente na polpa de murici de Bom Jesus do Tocantins e São João do Araguaia, apresentam ação anti-inflamatória, uma vez que diminuem a expressão de citocinas pró-inflamatórias (BASTOS *et al.*, 2009).

Figura 7 - Porcentagem média de ácidos graxos dos três municípios de acordo com o grau de saturação.

O murici (*B. crassifolia*) cultivado no México apresentou o seguinte perfil de ácidos graxos: palmítico (11,3 %), esteárico (5,3 %), oleico (34,3 %), linoleico (46,4 %) e cis-vacênico (1,2%). Qualitativamente, o perfil de ácidos graxos apresenta-se semelhante

ao encontrado nas amostras coletadas no estado do Pará, exceto o ácido cis-vacênico encontrado no murici cultivado no México (RÍOS-MORGAN *et al.*, 2004).

Os ácidos graxos insaturados com mais de 12 átomos de carbono são capazes de reduzir a velocidade de esvaziamento gástrico, modula a secreção do hormônio gastrointestinal, e diminui o consumo de energia e, portanto, o seu consumo na dieta pode ser interessante como estratégia para controle de peso (KAMPHUIS *et al.*, 2003; FELTRIN *et al.*, 2008; SORENSEN *et al.*, 2008; YUN, 2010).

4.1.2. Vitamina C

A **Figura 8** apresenta o perfil cromatográfico de padrão de ácido ascórbico (AA) e espectro de absorção ($\lambda = 245$ nm). A **Figura 9** mostra um cromatograma típico obtido na análise de AA do murici.

Figura 8 - Perfil cromatográfico de padrão de AA (A), espectro de absorção de padrão de AA (B).

A curva padrão foi construída com oito pontos, concentração de 1,25 - 30,00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($r = 0,9995$), e a pureza da solução padrão era 99,9%. Os dados de validação do método estão presentes na **Tabela 6**.

Figura 9 - Perfil cromatográfico da amostra de murici da cidade de Bom Jesus do Tocantins (A) e espectro de absorção (B).

Tabela 6 - Parâmetros de validação do método analítico de ácido ascórbico para os frutos de murici

	Ácido Ascórbico
Limite de quantificação (ng mL^{-1})	847,3
Limite de detecção (ng mL^{-1})	254,1
Recuperação murici (%)	92,1

A porcentagem de recuperação para o murici está dentro do limite estabelecido pela Association of Official Analytical Chemists que entre 80 – 110 % (AOAC, 2002).

Os valores médios de ácido ascórbico e ácido deidroascórbico do murici estudados encontram-se na **Tabela 7**. O murici de Bom Jesus do Tocantins apresentou valor

significativamente diferente de ácido ascórbico quando comparado com aqueles das demais cidades ($p < 0,05$). Os frutos de Marabá apresentaram maior quantidade de ácido deidroascórbico quando comparado com os demais ($p < 0,05$). A presença em maior quantidade da forma oxidada do ácido ascórbico pode estar associada ao maior grau de maturação do fruto de Marabá ($TSS/AT = 10,4$).

Tabela 7- Teor de vitamina C de murici de três municípios

Componentes ¹	Município		
	Marabá	Bom Jesus do Tocantins	São João do Araguaia
	Média $\pm$ DP ²	Média $\pm$ DP ²	Média $\pm$ DP ²
Vitamina C (mg 100 g ⁻¹)	43,7 ^a $\pm$ 7,4	39,9 ^a $\pm$ 2,2	33,6 ^a $\pm$ 2,5
AA (mg 100 g ⁻¹)	23,8 ^b $\pm$ 0,8	30,8 ^a $\pm$ 1,2	22,5 ^b $\pm$ 1,4
DHA (mg 100 g ⁻¹)	19,9 ^a $\pm$ 7,9	9,2 ^b $\pm$ 2,7	11,1 ^b $\pm$ 1,8

¹valores expressos em matéria fresca. ²médias de três repetições $\pm$ desvio padrão. Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

É importante considerar que fatores como: solo, tipo e frequência de irrigação podem explicar diferenças nos valores. O teor de vitamina C pode variar de acordo com a fertilidade do solo e disponibilidade de nutrientes. Estudos mostram que solos pobres em nitrogênio e baixa frequência de irrigação podem aumentar a concentração de vitamina C em vegetais e frutas (MATSUURA *et al.*, 2001; CARDOSO *et al.*, 2011a).

Na literatura encontram-se valores de vitamina C da mesma espécie (*B. crassifolia*) utilizando o método de titulação com 2,6-dicloroindofenol. Segundo ALMEIDA e colaboradores (2011), o murici coletado em Fortaleza/Ceará/Brasil apresenta 11,8 mg AA 100 g⁻¹ de polpa. DE SOUZA e colaboradores (2012) apresentam 47,4 mg AA 100 g⁻¹ de polpa do fruto adquirido de Uberlândia/Minas Gerais/Brasil. BARRETO e colaboradores (2009) analisaram o murici coletado da região Nordeste do Brasil com 0,4 mg AA 100 g⁻¹

de polpa. De acordo com RUFINO e colaboradores (2010), *B. dealbata* de Fortaleza/Ceará/Brasil possui 148,0 mg AA 100 g⁻¹ de polpa. Observam-se diferenças entre os valores de vitamina C das diferentes espécies e cidades de origem, e as amostras deste estudo. As variações de ácido ascórbico são decorrentes de diversos fatores ou estresses ambientais, como: luz, temperatura, estresse hídrico, presença de poluentes, metais e herbicidas no plantio, colheita e armazenamento (DAVERY *et al.*, 2000).

Importante considerar que o método utilizado para análise de vitamina C nas amostras é diferente da metodologia encontrada na literatura. ODRIOZALO-SERRANO e colaboradores (2007) apresentaram algumas vantagens comparando ao método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com outros métodos, tais como maior sensibilidade, especificidade e fácil operação. Geralmente utiliza-se o método CLAE para determinar AA em cervejas, vinhos e sucos, entretanto as frutas possuem matrizes mais complexas do que estas bebidas, o que pode interferir na identificação e quantificação de AA. DAVERY e colaboradores (2000) relataram que a concentração de vitamina C varia amplamente de acordo com o tipo de fruta e cultivo.

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Decreto nº 27 de 13 de Janeiro de 1998), alimentos sólidos prontos para o consumo são classificados como “fonte” de vitamina quando suprir no mínimo 15% da ingestão dietética de referência (IDR) por 100 g (BRASIL, 1998). O consumo de polpa de murici (100 g) contribui para suprir as necessidades diárias de vitamina C (média dos três municípios) em crianças, adultos e gestantes (156%; 43%; 46%, respectivamente), conforme referência do *Institute of Medicine* (IOM-US, 2001). Portanto, a polpa de murici mostra-se uma alternativa como fonte de vitamina C.

4.1.3. Carotenoides

A **Figura 10** apresenta o perfil cromatográfico característico da amostra de murici na determinação de carotenoides ($\lambda = 450 \text{ nm}$).

A análise quantitativa foi realizada por meio de curva de calibração externa de cinco pontos com o padrão de referência: luteína a 450 nm ($2,90$ a $17,25 \mu\text{g mL}^{-1}$, $r = 0,9978$), β -criptoxantina a 450 nm ($0,03$ a $0,17 \mu\text{g mL}^{-1}$, $r = 0,9986$) e β -caroteno a 450 nm ($0,88$ a $3,67 \mu\text{g mL}^{-1}$, $r = 0,9999$).

Figura 10 - Perfil cromatográfico de carotenoides da amostra não saponificada de murici do município de Marabá.

Os dados de validação do método estão na **Tabela 8**. A repetibilidade das áreas dos carotenoides está dentro do limite estabelecido pela Association of Official Analytical Chemists para concentrações do analito na ordem de 1-10%, e a porcentagem de recuperação para o murici também se encontra dentro do limite estabelecido pela mesma, de 80 – 110% (AOAC, 2002).

Tabela 8 - Parâmetros de validação do método analítico de carotenoides para frutos de murici

	Luteína	β-criptoxantina	β-caroteno
Limite de quantificação (ng mL ⁻¹)	60,5	6,7	7,0
Limite de detecção (ng mL ⁻¹)	18,2	2,0	2,1
Repetibilidade murici (%)	0,2	1,5	5,9
Recuperação murici (%)	94,4	82,7	87,2

As médias de luteína, β-criptoxantina e β-caroteno do murici de cada município encontram-se na **Tabela 9**. Os frutos de murici apresentaram quantidade de carotenoides totais (entre 14,9 e 29,4 mg 100 g⁻¹ de base fresca), com predominância de luteína. Os carotenoides precursores da síntese de vitamina A (β-criptoxantina e β-caroteno) representam quantidades inferiores em relação à luteína.

Tabela 9 - Teor de carotenoides do murici de três municípios

Componentes ¹	Município		
	Marabá ²	Bom Jesus do Tocantins ²	São João do Araguaia ²
Carotenoides (mg 100 g ⁻¹)	14,9 ^b ± 0,9	15,8 ^b ± 0,6	29,4 ^a ± 2,2
Luteína (mg 100 g ⁻¹)	13,9 ^b ± 0,8	14,7 ^b ± 0,6	27,4 ^a ± 1,9
β - criptoxantina (mg 100 g ⁻¹)	0,1 ^a ± 0,0	0,1 ^a ± 0,0	0,1 ^a ± 0,0
β - caroteno (mg 100 g ⁻¹)	0,9 ^b ± 0,1	1,0 ^b ± 0,0	1,9 ^a ± 0,3
Vitamina A ³ (RE 100 g ⁻¹)	152	177	329

¹ valores expressados em matéria fresca. ² médias de três repetições ± desvio padrão. ³ valores expressos em equivalente de retinol por 100 g de fruto. Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente (p<0,05)

O murici de São João do Araguaia possui maior quantidade de carotenoides (luteína e β -caroteno), e varia significativamente entre os frutos coletados de outros municípios.

Os teores de carotenoides podem ser afetados pela variedade, localização geográfica, estado de maturidade, condições ou práticas de cultivo, processamento e armazenamento (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997; MERCADANTE e RODRIGUEZ-AMAYA, 1998; LIU *et al.*, 2009). Neste presente estudo pode-se verificar a interferência da localização geográfica no teor de carotenoides do murici.

Os resultados do presente estudo assemelham-se aos obtidos por DE SOUZA e colaboradores (2012) e BARRETO e colaboradores (2009) que relataram o mesmo valor de β -caroteno ($1,2 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ em base fresca do murici) da mesma espécie estudada, coletada no centro oeste e nordeste do Brasil, respectivamente. Importante destacar que nestes dois estudos a quantificação de carotenoides foi determinada por espectrofotometria. Tanto a espectrofotometria quanto a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE-DAD) são métodos que apresentam linearidade, precisão, acuracidade para detecção de carotenoides (BARBA *et al.*, 2006). De acordo com LUTEROTTI e colaboradores (2013), o método espectrofotométrico em média produz resultados 5 a 9% maiores do que a quantificação por CLAE.

O murici apresenta altos teores de luteína quando comparado com outros alimentos. PERRY e colaboradores (2009) apresentaram valores de luteína de alimentos como: couve cozida em forno micro-ondas ($8,9 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ matéria fresca), espinafre cru ($6,6 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ matéria fresca), coentro ($7,7 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ matéria fresca).

A luteína e a zeaxantina são os únicos carotenoides presentes na região macular da retina, assim sugere-se que estes compostos têm um papel na saúde dos olhos. MA e LIN (2010) e STRINGHAM e colaboradores (2010) relatam que a presença de luteína e

zeaxantina na mácula lútea reduzem o desconforto e o tempo de recuperação após a exposição a um ambiente muito claro, aumenta o alcance visual, melhora os contrastes de cores, reduz o risco de degeneração macular e catarata.

O consumo de polpa de murici (100 g) contribui para suprir as necessidades diárias de vitamina A - média dos três municípios, da criança, adulto e grávida (55%; 24%; 28%, respectivamente), de acordo com a referência do Institute of Medicine (IOM-US, 2000).

4.1.3.1. Relação entre os valores de cor e carotenoides do murici

A análise de correlação foi realizada para determinar se há relação linear entre os parâmetros de cor e os carotenoides (**Tabela 10**).

Os parâmetros de cor b^* e croma (C^*) apresentaram maior correlação com os carotenoides do murici, indicando que há relação linear de cor e carotenoides. Destaca-se a melhor correlação entre o b^* e a quantidade de luteína ($r = 0,921$), e valor de b^* e carotenoides totais ($r = 0,921$). O aumento de luteína está diretamente associado com o aumento da tonalidade amarela (b^*). Portanto a cor do murici está associada ao teor de carotenoides, além de ser parâmetro atrativo para os consumidores quanto à qualidade (maturidade e sabor).

Tabela 10 - Coeficientes de correlação de Pearson entre carotenoides e parâmetros de cor de frutos de murici

	L^*	a^*	b^*	C^*	h^*
Luteína	-0,762 [*]	0,558 ^{ns}	0,921 ^{**}	0,891 ^{**}	-0,461 ^{ns}
β -criptoxantina	-0,569 ^{ns}	0,318 ^{ns}	0,817 ^{**}	0,751 [*]	-0,220 ^{ns}
β -caroteno	-0,789 [*]	0,616 ^{ns}	0,907 ^{**}	0,893 ^{**}	-0,528 ^{ns}
Carotenoides totais	-0,764 [*]	0,562 ^{ns}	0,921 ^{**}	0,892 ^{**}	-0,465 ^{ns}

^{*}, ^{**}, significantes ao $P \leq 0,05$ ou $0,01$ respectivamente. ^{ns} não significativa.

4.1.4. *Screening* fitoquímico para substâncias bioativas por cromatografia em camada delgada (CCD)

O *screening* fitoquímico foi realizado em todos os extratos de murici de cada região de coleta. A **Figura 11** apresenta um cromatograma típico, obtido no extrato de murici do município de Marabá. As manchas obtidas pelos reveladores correspondem à atividade antioxidante (item C) e a presença de flavonoides (item D).

Figura 11 - CCD do extrato de murici do município de Marabá.

Nota: A: fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ água (82:9:9) e vanilina sulfúrica como revelador. B: fase móvel fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ água (82:9:9) e anisaldeído sulfúrico como revelador. C: fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ água (82:9:9) e DPPH como revelador. D: fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ hidróxido de amônio (82:9:9) e solução de Dragendorff como revelador. E: fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ água (82:9:9) e NP-PEG como revelador.

Pelo cromatograma de cada extrato de murici pode-se observar que não houve diferenças no perfil fitoquímico de acordo com a região coletada, e que entre as classes de compostos avaliadas. A **Tabela 11** apresenta os compostos bioativos encontrados no extrato de murici.

Tabela 11 - *Screening* fitoquímico do extrato de murici por cromatografia em camada delgada

Amostra	Compostos triterpênicos	Flavonoides (compostos fenólicos)	Alcaloides
Extrato de murici	-	+	-

“+” indica presença do composto bioativo, “-” indica ausência do composto bioativo.

Os resultados encontrados no *screening* fitoquímico são coerentes ao encontrado na literatura, visto que há relatos que o fruto da *B. crassifolia* possui atividade antioxidante, e compostos fenólicos (JIMÉNEZ-ESCRIG et al., 2000; SILVA et al., 2007; MALTA et al., 2013).

4.1.5. Compostos redutores totais

O teor de compostos redutores totais das diferentes regiões de coleta do murici são apresentados na **Tabela 12**.

Tabela 12 - Concentração de sólidos solúveis e substâncias redutoras no extrato de murici

Município	% Sólidos solúveis ¹	Compostos redutores	
		Base seca ²	Base integral ³
Marabá	4,1 ^c ± 0,2	15,5 ^a ± 0,7	636,8 ^a ± 29,1
Bom Jesus do Tocantins	6,0 ^a ± 0,2	5,0 ^b ± 0,1	300,7 ^b ± 5,8
São João do Araguaia	5,3 ^b ± 0,2	4,2 ^b ± 0,1	222,5 ^b ± 6,0

¹ Teor de sólidos solúveis presentes no extrato de murici (média ± desvio padrão para n=12), expressos em g sólidos solúveis por 100 g de fruto. ² expresso em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 mg de sólidos solúveis. ³ expresso em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 g de fruto. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente (p<0,05).

O extrato de murici de Marabá possui maior quantidade compostos redutores, e varia significativamente entre os extratos de murici coletados em outros municípios.

Diversos autores relatam o teor de compostos redutores totais do murici, estes valores variam de 80,0 a 383,5 mg EAG 100 g⁻¹ de fruto (SILVA *et al.*, 2007; BARRETO *et al.*, 2009; ALMEIDA *et al.*, 2011; DE SOUZA *et al.*, 2012). Comparando com os resultados encontrados na literatura o extrato de murici de Marabá apresenta maior teor de compostos fenólicos totais (636,8 mg EAG 100 g⁻¹ de fruto).

A discrepância entre os valores de cada município de coleta pode ser atribuída a fatores como: estado de maturidade dos frutos, diferenças de técnicas e solventes de extração da polpa, condição de armazenamento dos frutos, influência de fatores como clima e solo de cada região do Brasil.

O método de Folin-Ciocalteu além de determinar compostos fenólicos totais, também quantifica substâncias redutoras presentes nos alimentos. Sendo assim além dos fatores citados acima pode ocorrer interferência de outros compostos reativos ao reagente de Folin-Ciocalteu, tais como a vitamina C e açúcares redutores (BARRETO *et al.*, 2009; DE SOUZA *et al.*, 2010; DE SOUZA *et al.*, 2012).

4.1.6. Análise de Compostos Fenólicos por CLAE

A análise por CLAE/DAD permitiu a identificação e quantificação de quatro compostos fenólicos presentes nos extratos de murici, com base no tempo de retenção e espectro de absorção do UV. A identificação dos compostos é apresentada nas **Figuras 12, 13 e 14**. Os derivados flavônicos são caracterizados pela presença de bandas de absorção máxima entre 250-280 nm e 330-385 nm.

Figura 12 - Perfil cromatográfico da amostra de murici do município de Marabá (1 = catequina, 2 = epicatequina)

Figura 13 - Perfil cromatográfico da amostra de murici do município de Marabá (1 = quercetina)

Figura 14 - Perfil cromatográfico da amostra de murici do município de Marabá (1 = rotina)

A quantificação das amostras de murici foi realizada, por meio de curva de calibração externa de cinco pontos com o padrão de referência: catequina a 279 nm (120,0 a 3,7 $\mu\text{g mL}^{-1}$, $r = 0,9979$), epicatequina a 279 nm (1,0 a 40,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, $r = 0,9925$), quercetina a 372 nm (0,1 a 4,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, $r = 0,9999$) e rutina a 354 nm (3,0 a 60,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, $r = 0,9977$).

Na **Tabela 13** estão apresentados os resultados de validação do método de análise de compostos fenólicos. A repetibilidade das áreas dos compostos fenólicos, assim como a porcentagem de recuperação para o murici está dentro do limite estabelecido pela Association of Official Analytical Chemists para concentrações do analito, na ordem de 1-10% e 80 – 110%, respectivamente (AOAC, 2002).

Tabela 13 - Parâmetros de validação do método analítico para análise de compostos fenólicos para o extrato de murici

	Catequina	Epicatequina	Quercetina	Rutina
Limite de quantificação (ng mL ⁻¹)	41,8	42,8	0,7	547,1
Limite de detecção (ng mL ⁻¹)	12,5	12,8	0,2	164,1
Repetibilidade murici (%)	0,9	1,2	0,9	0,8
Recuperação murici (%)	85,6	81,0	81,9	80,2

Na **Tabela 14** são apresentadas as quantidades dos flavonoides presentes nos extratos de murici. O murici de Marabá apresentou maior teor de catequina, quercetina e rutina do que outros municípios, seguindo a mesma tendência de apresentar maior teor de compostos redutores totais determinado pelo método de Folin- Ciocalteu.

Tabela 14 - Compostos fenólicos identificados por CLAE-UV/DAD nos extratos de murici expresso em mg g⁻¹ de sólidos solúveis

Município	Compostos fenólicos			
	Catequina ¹	Epicatequina ²	Quercetina ³	Rutina ⁴
Marabá	9,3 ^a ± 0,0	2,0 ^{a,b} ± 0,0	2,5 ^a ± 0,1	1,3 ^a ± 0,0
Bom Jesus do Tocantins	4,6 ^b ± 0,3	1,8 ^a ± 0,1	0,5 ^b ± 0,1	0,8 ^b ± 0,0
São João do Araguaia	4,4 ^b ± 0,0	2,4 ^b ± 0,3	0,4 ^b ± 0,0	0,5 ^c ± 0,1

¹ expresso em mg de equivalente de catequina por g de sólidos solúvel (média ± desvio padrão para n=3). ² expresso em mg de equivalente de epicatequina por g de sólidos solúvel (média ± desvio padrão para n=3). ³ expresso em mg de equivalente de quercetina por g de sólidos solúvel (média ± desvio padrão para n=3). ⁴ expresso em mg de equivalente de rutina por g de sólidos solúvel (média ± desvio padrão para n=3). Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente (p<0,05).

Não há relatos de estudos identificando e quantificando compostos fenólicos em frutos da espécie *crassifolia*, somente na casca do caule e nas folhas, de acordo com GUILHON-SIMPLICIO e PEREIRA (2011).

4.1.7. Atividade antioxidante

A **Tabela 15** mostra os resultados do coeficiente de inibição de 50% (IC₅₀) do radical livre DPPH e valor de atividade antioxidante por ORAC nos extratos de murici de cada município.

Tabela 15 - Atividade antioxidante do extrato de murici

Município	Atividade antioxidante	
	DPPH ¹ (IC ₅₀)	ORAC ²
Marabá	330,5 ^a ± 13,2	33,8 ^b ± 2,8
Bom Jesus do Tocantins	1725,4 ^b ± 87,6	57,1 ^a ± 3,5
São João do Araguaia	1548,2 ^c ± 76,5	52,8 ^a ± 1,8

¹ expresso em µg de sólidos solúveis por mL. ² expresso em mmol de equivalente de Trolox por 100 g de sólidos solúveis. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente (p<0,05).

Observa-se que o murici de Marabá apresenta IC₅₀ consideravelmente menor quando comparado os demais municípios, ou seja, o murici coletado na cidade de Marabá possui maior capacidade antioxidante pelo método DPPH.

ROESLER e colaboradores (2007) relataram maior atividade antioxidante por DPPH de frutos típicos do cerrado, como polpa de cagaita (387,5 µg de sólido solúvel mL⁻¹), polpa de pequi (298,7 µg de sólido solúvel mL⁻¹), araticum (148,8 µg de sólido solúvel mL⁻¹) e lobeira (163,0 µg de sólido solúvel mL⁻¹).

O extrato de Marabá apresentou menor atividade antioxidante pelo método ORAC, em comparação com o extrato de Bom Jesus do Tocantins e São João do Araguaia. O mecanismo de ação antioxidante por ORAC é baseado na doação de um átomo de hidrogênio do antioxidante para o radical peroxil. Diferente do mecanismo de DPPH que a capacidade antioxidante é determinada pela redução do radical DPPH.

Os valores de ORAC em base integral do murici de Marabá, São João do Araguaia e Bom Jesus do Tocantins são 1387,8; 2586,6 e 3100,8 $\mu\text{mol Trolox } 100 \text{ g}^{-1}$ de fruto, respectivamente. O murici (*B. crassifolia*) coletado na região amazônica possui atividade antioxidante por ORAC (1180 $\mu\text{mol Trolox } 100 \text{ g}^{-1}$ de fruto) equivalente ao extrato de Marabá (SILVA *et al.*, 2007). Em estudo realizado com frutas do cerrado brasileiro, MALTA e colaboradores (2013) constataram que o murici da espécie *verbascifolia* apresentou alta capacidade antioxidante por ORAC em média 3500 $\mu\text{mol Trolox } 100 \text{ g}^{-1}$ de fruto.

A **Tabela 16** mostra correlação entre a atividade antioxidante por dois mecanismos (ORAC e DPPH) e compostos bioativos como vitamina C, carotenoides e compostos redutores totais determinado por Folin-Ciocalteu.

JIMÉNEZ-ESCRIG (2000) relataram que os carotenoides participam do processo de oxidação, como antioxidantes que sequestram o radical peroxil. Contudo foi observada a baixa correlação entre o teor de carotenoides total e a atividade antioxidante no murici.

A vitamina C apresenta baixo coeficiente de correlação com os mecanismos antioxidantes estudados no extrato de murici. Este mesmo comportamento de baixa correlação de vitamina C e atividade antioxidante por ORAC e DPPH ($r = 0,35$ e $0,23$, respectivamente) é observado em treze frutas tropicais (MAHATTANATWEE *et al.*, 2006).

Há correlação negativa forte entre a capacidade sequestradora de Folin-Ciocalteu e o sequestrador de radicais livres DPPH ($r = - 0,978$, $p < 0,001$). A correlação forte entre Folin-Ciocalteu e DPPH é devido ao fato de que estes se baseiam em mecanismo de ação semelhante, ou seja, mecanismo de transferência de elétrons. Enquanto o método de

ORAC é baseado na transferência de átomos de hidrogênio para o radical AAPH (DE SOUZA *et al.*, 2010).

Tabela 16- Coeficientes de correlação de Pearson entre atividade antioxidante e compostos bioativos presentes no murici

	Carotenoides totais	Vitamina C	Substâncias redutoras totais
DPPH (IC ₅₀)	0,438 ^{ns}	-0,531 ^{ns}	-0,978 ^{**}
ORAC	0,163 ^{ns}	-0,314 ^{ns}	-0,752 [*]

^{**}, ^{*}, significantes ao $P \leq 0,05$ ou $0,01$ respectivamente. ^{ns} não significativa.

4.1.8. Atividade de inibição da lipase pancreática

Para cada município foi realizada uma curva em triplicata com cinco diluições com finalidade de obter o IC₅₀ (Figura 15).

Figura 15 - Curva dose-resposta para inibição da lipase pancreática no extrato de murici (A= Marabá, B = São João do Araguaia e C = Bom Jesus do Tocantins)

O extrato de murici de Marabá e São João do Araguaia apresentaram valores estatisticamente iguais de concentração do extrato capaz de inibir a lipase pancreática (Tabela 17).

Tabela 17 - Atividade de inibição da lipase pancreática do extrato de murici

Município	IC ₅₀ ¹
Marabá	438,9 ^a ± 41,7
Bom Jesus do Tocantins	462,3 ^a ± 20,8
São João do Araguaia	885,9 ^b ± 33,3

¹ expresso em µg de sólidos solúveis por mL. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente (p<0,05).

Todos os extratos inibiram a lipase pancreática, porém ao comparar com o controle positivo (IC₅₀ = 0,31 ± 0,00 µg mL⁻¹) pode-se verificar que os extratos de murici apresentam baixa atividade de inibição da lipase pancreática. YUN (2010) relata que os extratos brutos incluem, não somente substâncias ativas, mas também componentes não ativos que podem prejudicar a reação de inibição da lipase pancreática.

Foi analisado o coeficiente de associação entre a inibição da lipase pancreática, os compostos fenólicos totais e os flavonoides detectados no extrato de murici. Os valores de IC₅₀ para inibição da lipase pancreática apresentaram correlações baixas e não significantes com teor de compostos fenólicos (r = - 0,528), catequina (r = - 0,618), quercetina (r = - 0,631) e rutina (r = - 0,733). A quantidade de epicatequina encontrada no extrato de murici apresentou uma associação inversa forte com a atividade da lipase pancreática *in vitro* (r = - 0,818, p> 0,05).

O extrato de murici possui atividade de inibição da lipase pancreática *in vitro*, mesmo que baixa atividade se comparado com o controle positivo, e a epicatequina do

murici pode ser o flavonoide responsável pela inibição, conforme relatado por YUN (2010).

4.1.9. Atividade antiglicação: sistema modelo albumina sérica bovina (BSA)

O IC₅₀ das amostras de extrato de murici foi calculado por meio da linha de regressão dos mínimos quadrados do logaritmo da concentração da amostra *versus* atividade da inibição de AGEs (%), como mostra a **Figura 16**.

Figura 16 - Curva dose-reposta da inibição da formação de AGEs no extrato de murici (A = Marabá, B = São João do Araguaia, C = Bom Jesus do Tocantins)

Os extratos de murici apresentaram potencial de inibição da formação de produtos finais da glicação (**Tabela 18**).

Tabela 18 - Atividade de antiglicação do extrato de murici

Município	IC ₅₀ ¹
Marabá	159,2 ^a ± 6,5
Bom Jesus do Tocantins	94,5 ^b ± 5,4
São João do Araguaia	193,5 ^c ± 7,4

¹expresso em µg de sólidos solúveis por mL. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente (p<0,05).

A aminoguanidina é um composto que contém hidrazina em sua estrutura química, o qual reage com o metilglioxal inibindo a reação de formação de AGEs (KIM e KIM, 2003). Esta substância foi utilizada como controle positivo e apresentou IC₅₀ (média ± desvio padrão) de 250,46 ± 2,82 µg mL⁻¹. Utilizando a concentração de 0,15 mg mL⁻¹ do extrato de murici e do controle positivo pode-se observar inibição média na formação de AGEs de 50 e 30%, respectivamente.

Todos os extratos de murici puderam inibir a formação de produtos de glicação, em concordância com os resultados obtidos por PEREZ-GUTIERREZ e colaboradores (2010). Este estudo analisou a glicação em modelo BSA/frutose e extrato de murici (*B. crassifolia*) realizando extração com clorofórmio e hexano, na semente e fruto. O fruto de murici em clorofórmio e hexano apresentou IC₅₀ de 129,10 µg mL⁻¹ e 138,70 µg mL⁻¹, respectivamente.

Na literatura encontram-se estudos que relacionam a inibição da glicação com capacidade antioxidante, utilizando extratos de chá e ervas medicinais chinesa (LUNCEFORD e GUGLIUCCI, 2005; XI *et al.*, 2008). Além de relatos que compostos

fenólicos isolados de erva mate e *cranberry* e atividade de antiglicação (KIM e KIM, 2003; GUGLIUCCI *et al.*, 2009; BEAULIEU *et al.*, 2010).

É importante destacar que há relato de alguns antioxidantes e nutrientes típicos presentes nos alimentos, tais como vitamina B1, B6, C, E, niacinamida, carnosina e seleneto de sódio podem inibir a formação de AGES *in vitro* e *in vivo* (WU e YEN, 2005).

Existe uma associação inversa forte de ácido ascórbico e atividade de antiglicação ($r = -0,961$, $p < 0,01$) no extrato de murici. Possivelmente a atividade inibitória da glicação no extrato de murici é devido ao agente quelante (ácido ascórbico) e não a capacidade antioxidante (DPPH e ORAC) e ao teor de compostos fenólicos, já que estes apresentaram fraca associação não significativa ($r = -0,287$, $r = -0,218$, $r = 0,11$, respectivamente).

4.2. Farinha da Folha de Moringa (*Moringa oleifera*)

4.2.1. Caracterização físico-química

Os teores de atividade de água e parâmetros de cor na farinha da folha de moringa coletada em diferentes estações do ano são apresentados na **Tabela 19**. A farinha de moringa não apresentou variações de atividade de água de acordo com a estação de coleta, o valor médio ($A_w = 0,6$) de atividade de água o que caracteriza um alimento com teor de água livre intermediária (A_w de 0,6 a 0,8).

A farinha da folha de moringa apresenta luminosidade (L^*) média e tonalidade verde indicada pelo valor de tonalidade cromática (H^* próximo de 180), variando para o verde ligeiramente amarelado (valores positivos de H^*). A farinha da folha de moringa coletada no verão e primavera não apresenta diferença estatística de cor relativo aos

parâmetros L*C*H, enquanto nos períodos mais frios (outono e inverno) houveram mudanças de cor na farinha da folha de moringa.

Tabela 19- Valores de atividade de água (Aw), luminosidade (L*), croma (C*) e ângulo-hue (H*) da farinha da folha da moringa coletados em diferentes estações

Estação	Aw	Cor		
		L*	C*	H*
Verão	0,7 ^a ± 0,0	52,2 ^b ± 0,2	16,1 ^b ± 0,3	165,2 ^b ± 0,3
Outono	0,7 ^a ± 0,0	49,7 ^c ± 0,3	14,6 ^c ± 0,1	167,7 ^a ± 0,3
Inverno	0,6 ^a ± 0,0	54,1 ^a ± 0,3	19,7 ^a ± 0,1	168,4 ^a ± 0,2
Primavera	0,6 ^a ± 0,0	51,5 ^b ± 0,5	16,9 ^b ± 0,1	165,7 ^b ± 0,9
Média	0,6 ± 0,0	51,9 ± 1,7	16,8 ± 1,9	165,7 ± 1,5

Valores expressos como média ± desvio padrão de três determinações. Letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa (p < 0,05)

Os resultados da composição centesimal das amostras de farinha da folha de moringa das quatro estações de coleta estão expressos na **Tabela 20**.

Os resultados mostraram que há diferenças nos valores entre os períodos coletados. SHIH e colaboradores (2011) relatam diferenças de nutrientes da folha de moringa coletada no verão e inverno em Taiwan. Estas diferenças podem ser atribuídas a fatores como: condições climáticas e índice pluviométrico de cada período de coleta.

O teor médio de proteína presente foi de 24,5 g por 100 g de farinha de folha de moringa. Este valor é coerente com o relatado na literatura por SHIH e colaboradores (2011) (24,4 – 25,3%) e MOYO e colaboradores (2011) (30,3%). A folha de moringa possui valor elevado de proteína quando comparado com outros vegetais, entretanto estudos são necessários para determinar composição dos teores de aminoácidos presentes nas proteínas da farinha da folha de moringa, bem como sua biodisponibilidade.

Tabela 20 - Composição centesimal expressa em g 100 g⁻¹ de farinha da folha de moringa.

Componentes ¹ %	Estação				Média
	Verão	Outono	Inverno	Primavera	
Umidade	12,7 ^a ± 0,3	11,7 ^{a,b} ± 0,4	9,5 ^c ± 0,6	11,4 ^b ± 0,2	11,3 ± 1,3
Cinzas	10,6 ^b ± 0,1	10,4 ^{b,c} ± 0,1	12,0 ^a ± 0,0	10,1 ^c ± 0,2	10,7 ± 0,7
Proteínas	22,9 ^c ± 0,3	24,9 ^b ± 0,4	24,3 ^b ± 0,1	25,9 ^a ± 0,5	24,5 ± 1,2
Lipídeos	2,0 ^c ± 0,1	2,8 ^{a,b} ± 0,2	2,6 ^b ± 0,2	3,1 ^a ± 0,1	2,6 ± 0,5
Fibras insolúveis	32,2 ^b ± 1,3	35,2 ^a ± 0,8	32,0 ^b ± 0,3	30,3 ^b ± 0,5	32,6 ± 2,0
Fibras solúveis	6,4 ^a ± 0,4	5,3 ^a ± 0,4	4,9 ^b ± 0,0	5,0 ^b ± 0,1	5,6 ± 0,7
Carboidratos totais ²	13,4 ^b ± 0,6	9,1 ^c ± 0,3	15,1 ^a ± 0,6	14,1 ^{a,b} ± 0,5	12,7 ± 2,4
VCT ³ (kcal 100 g ⁻¹)	163,0 ^c ± 1,0	161,2 ^c ± 2,3	180,0 ^b ± 1,1	188,5 ^a ± 0,1	172,6 ± 12,5

¹ Valores expressos como média ± desvio padrão dos quatro meses coletados; ² Calculado por diferença; ³ VCT: valor calórico, calculado utilizando-se os fatores de conversão: 9 kcal g⁻¹ de lipídios, 4 kcal g⁻¹ de proteínas e 4 kcal g⁻¹ de carboidratos. Letras diferentes na mesma linha representam diferença significativa (p < 0,05)

Ao se considerar a recomendação da Associação Dietética Americana para ingestão de fibras alimentares (20 a 35 g dia⁻¹), consumir 100 g de farinha da folha de moringa atende 191,1% da recomendação de fibras para um adulto (MARLETT *et al.*, 2002; NISHIDA *et al.*, 2004).

Quanto aos minerais, o cálcio predominou em quantidade aos demais, seguido do potássio, enxofre e magnésio (**Tabela 21**). MOYO e colaboradores (2011) determinaram o potássio (1500,0 mg 100 g⁻¹ em base seca), magnésio (500,0 mg 100 g⁻¹ em base seca), ferro (49,0 mg 100 g⁻¹ em base seca) e zinco (3,1 mg 100 g⁻¹ em base seca) de folhas de moringa coletadas na África do Sul. Os valores de minerais apresentados por MOYO e colaboradores (2011) são diferentes dos determinados neste trabalho. Esta variação foi observada por SHIH e colaboradores (2011), que relataram que os teores de minerais variam durante os diversos períodos do ano. Fatores climáticos e formas de cultivo interferem na composição de nutrientes, consequentemente há variação de macro e micronutrientes. Destaca-se a importância das tabelas nacionais de composição de alimentos conterem dados de espécies vegetais produzidos e consumidas na região.

Tabela 21- Composição de minerais expresso em mg 100 g⁻¹ de farinha da folha de moringa.

Minerais	Estação				Média
	Verão ¹	Outono ¹	Inverno ¹	Primavera ¹	
P	461,2 ^a ± 2,0	443,5 ^a ± 8,8	443,6 ^a ± 10,3	452,4 ^a ± 5,1	450,1 ± 8,5
K	1995,5 ^a ± 95,3	1649,7 ^c ± 37,0	1623,0 ^c ± 23,2	1791,5 ^b ± 96,3	1764,9 ± 170,6
Ca	1587,5 ^c ± 305,0	1773,8 ^b ± 275,9	2634,1 ^a ± 108,4	1738,3 ^b ± 340,0	1933,4 ± 474,0
Mg	558,8 ^a ± 5,4	452,3 ^b ± 10,8	532,1 ^a ± 39,9	478,9 ^b ± 15,6	505,5 ± 48,6
S	629,7 ^{b,c} ± 6,6	585,4 ^c ± 4,1	665,2 ^b ± 9,4	833,7 ^a ± 6,9	678,5 ± 108,5
Zn	2,2 ^a ± 0,4	2,4 ^a ± 0,0	2,5 ^a ± 0,1	3,0 ^a ± 0,0	2,5 ± 0,3
Fe	8,5 ^b ± 0,0	8,6 ^b ± 0,0	17,0 ^a ± 0,4	19,1 ^a ± 0,7	13,3 ± 5,6
Mn	3,1 ^b ± 0,0	5,1 ^a ± 0,0	4,6 ^a ± 0,0	3,1 ^b ± 0,0	4,0 ± 1,0
Cu	1,0 ^a ± 0,1	0,9 ^a ± 0,0	1,1 ^a ± 0,0	1,1 ^a ± 0,0	1,0 ± 0,1
Na	5,3 ^a ± 0,0	3,9 ^b ± 0,0	5,3 ^a ± 0,0	4,3 ^b ± 0,1	4,7 ± 0,7

¹ Valores expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha representam diferença significativa (p < 0,05).

No estudo foram identificados sete ácidos graxos na farinha da folha de moringa (**Tabela 22**), os quais em média 69,4% são ácidos graxos poli-insaturados (**Figura 17**).

Figura 17 - Porcentagem média de ácidos graxos de acordo com o grau de saturação. AGS: ácidos graxos saturados, AGM: ácido graxo monoinsaturado e AGP: ácido graxo poli-insaturado.

O ácido linolênico é o ácido graxo encontrado em maior proporção na farinha da folha de moringa. Este é o precursor dos ácidos graxos poli-insaturados da série ω -3 de cadeia mais longa, este ácido não pode ser sintetizado pelos animais, inclusive o homem, portanto é considerado ácido graxo essencial (HORNSTRA, 2001).

Os demais ácidos graxos insaturados encontrados foram: linoleico e o docosaexaenoico. O ácido linoleico é precursor dos ácidos graxos poli-insaturados ω -6 de cadeia mais longa, também considerado ácido graxo essencial (HORNSTRA, 2001). O ácido graxo poli-insaturado da série ω -3, ácido docosaexaenoico (DHA), presente na farinha da folha de moringa, apresentam ação anti-inflamatória, uma vez que diminuem a expressão de citocinas pró-inflamatórias (BASTOS *et al.*, 2009).

Tabela 22- Perfil de ácidos graxos da farinha de folha de moringa

Ácidos graxos (g 100 g ⁻¹ ácidos graxos)	Estação				Média
	Verão ¹	Outono ¹	Inverno ¹	Verão ¹	
cis-10-Pentadecenóico (C15:1)	251,8 ^{a,c} ± 21,4	203,0 ^{b,c} ± 4,4	240,5 ^{a,c} ± 20,0	282,3 ^a ± 17,1	244,4 ± 32,8
Palmítico (C16:0)	928,3 ^a ± 28,4	832,5 ^{a,b} ± 39,7	852,8 ^a ± 66,9	766,8 ^b ± 28,6	845,1 ± 66,5
Esteárico (C18:0)	176,6 ^a ± 13,1	138,2 ^b ± 7,5	116,4 ^c ± 5,7	140,9 ^b ± 8,5	143,1 ± 24,9
Oléico (C18:1 n9)	279,6 ^a ± 26,4	250,4 ^a ± 19,5	219,2 ^{a,c} ± 8,4	190,0 ^{b,c} ± 4,1	234,8 ± 38,7
Linoléico (C18:2 n6)	412,9 ^a ± 7,1	408,4 ^a ± 10,8	424,1 ^a ± 32,4	121,1 ^b ± 3,3	342,8 ± 148,1
Linolênico (C18:3 n3)	2589,3 ^a ± 62,1	2019,0 ^b ± 33,9	2428,6 ^a ± 149,0	1394,3 ^c ± 21,0	2107,8 ± 532,8
Docosaheptaenóico (C22:6 n3)	1665,5 ^a ± 138,9	567,2 ^c ± 1,1	517,7 ^c ± 57,2	1047,7 ^b ± 23,1	949,5 ± 533,8
AGS	1097,4 ^a ± 29,2	970,7 ^a ± 47,2	969,2 ^{a,b} ± 70,2	907,7 ^b ± 37,0	986,3 ± 18,1
AGM	529,3 ^a ± 20,9	453,1 ^b ± 13,4	479,7 ^{a, b} ± 29,0	472,2 ^b ± 21,3	484,9 ± 4,4
AGP	4652,3 ^a ± 51,0	3013,8 ^b ± 1,1	3375,3 ^c ± 59,5	2558,0 ^d ± 54,6	3399,9 ± 27,2

¹ Valores expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa (p < 0,05).

No final dos anos 90 destacou a importância de reduzir o consumo dos ácidos graxos poli-insaturados ω -6, e aumentar a ingestão de ω -3 visando à saúde e funcionamento cardiovascular adequado. Portanto, aumentar a ingestão de ácidos graxos poli-insaturados ω -3, e diminuir o consumo de ácido linoleico (SIMOPOULOS *et. al.*, 1999). A farinha da folha de moringa apresenta grande quantidade de ácidos graxos poli-insaturados da série ω -3 (ácido linolênico), podendo contribuir para a melhora da proporção ω -6/ ω -3.

O perfil de ácidos graxos se apresenta diferente do relatado por MOYO e colaboradores (2011). Os pesquisadores relatam presença de 17 ácidos graxos na folha de farinha de moringa, sendo que a porcentagem média é de 43,31% de ácidos graxos saturados, 4,48% de ácido graxo monoinsaturado e 52,2% de ácido graxo poli-insaturado.

É mais comum encontrar dados na literatura científica do perfil de ácidos graxos do óleo da semente de moringa. ANWAR e BHANGER (2003) apresentaram o perfil de ácidos graxos no óleo da semente de moringa e identificaram 8 ácidos graxos. Destes, 5 ácidos foram também encontrados nas amostras da farinha da folha de moringa (palmítico, esteárico, oléico, linoléico, linolênico).

4.2.2. Vitamina C

Na amostra de farinha da folha de moringa não foi detectado (abaixo do valor mínimo de detecção de $254,1 \text{ ng mL}^{-1}$) ácido ascórbico (**Tabela 23**). Ausência de vitamina C na farinha da folha de moringa pode estar relacionada ao procedimento utilizado na preparação e produção da farinha. O ácido ascórbico é um composto muito instável e pode

ter sido degradado durante o processamento, presença de oxigênio, e por enzimas presentes naturalmente na matriz do alimento (DAVERY *et al.*, 2000).

Tabela 23 - Teor de vitamina C na farinha da folha de moringa de quatro estações

Componentes ¹	Estação			
	Verão ²	Outono ²	Inverno ²	Primavera ²
Vitamina C	nd.	nd.	nd.	nd.
AA	nd.	nd.	nd.	nd.
DHA	nd.	nd.	nd.	nd.

¹valores expressos em matéria fresca. ²médias de três repetições $\pm$ desvio padrão. nd.= abaixo do valor de 254,1 ng mL⁻¹.

Neste estudo coletou a folha de moringa *in natura* no mês de fevereiro e foi possível detectar ácido ascórbico e ácido deidroascórbico. O ácido ascórbico (mg 100 g⁻¹ folha fresca) e deidroascórbico (mg 100 g⁻¹ folha fresca) na folha de moringa foi de aproximadamente $83,7 \pm 13,3$ e $96,9 \pm 3,6$, respectivamente.

O resultado de vitamina C (181 mg 100 g⁻¹ folha fresca) da folha de moringa coletada em Marília/SP corrobora com valor apresentado na folha da moringa fresca crua de Dar es Salaam/Tanzânia/África (204 mg AA 100 g⁻¹ folha fresca), e com o valor da tabela de composição de alimentos da África da FAO (164 mg AA 100 g⁻¹ folha fresca) (SREERAMULU *et al.*, 1983; FAO, 2012).

4.2.3. Carotenoides

A **Figura 18** apresenta o perfil cromatográfico da amostra de farinha de moringa não saponificada na determinação da luteína ($\lambda = 450$ nm) e a **Figura 19** mostra um cromatograma típico obtido na análise de β -criptoxantina e β -caroteno na farinha da folha de moringa saponificada ($\lambda = 450$ nm).

Figura 18 - Perfil cromatográfico da luteína da amostra não saponificada de farinha de moringa coletada em fevereiro de 2012.

Figura 19 - Perfil cromatográfico da β -criptoxantina e β -caroteno da amostra saponificada de farinha de moringa coletada em fevereiro de 2012.

A quantificação das amostras de farinha de folha de moringa foi realizada por meio de curva de calibração externa de cinco pontos nas seguintes concentrações: luteína a 450 nm (5,92 a 50,31 $\mu\text{g mL}^{-1}$, $r = 0,9914$), β -criptoxantina a 450 nm (0,09 a 1,47 $\mu\text{g mL}^{-1}$, $r = 0,9997$) e β -caroteno a 450 nm (1,80 a 7,49 $\mu\text{g mL}^{-1}$, $r = 0,9998$).

Os dados de validação do método estão presentes na **Tabela 24**.

Tabela 24- Parâmetros de validação do método analítico para análise de carotenoides

	Luteína	β -criptoxantina	β -caroteno
Limite de quantificação (ng mL^{-1})	60,5	6,7	7,0
Limite de detecção (ng mL^{-1})	18,2	2,0	2,1
Repetibilidade farinha da folha de moringa (%)	0,5	1,5	1,3
Recuperação farinha da folha de moringa (%)	111,9	87,7	101,8

A repetibilidade das áreas dos carotenoides está dentro do limite estabelecido pela Association of Official Analytical Chemists para concentrações do analito na ordem de 1-10 % e a porcentagem de recuperação para o murici está dentro do limite estabelecido pela Association of Official Analytical Chemists de 80 – 110% (AOAC, 2002).

As médias de luteína, β -criptoxantina e β -caroteno da farinha de moringa de cada mês encontram-se na **Tabela 25**. Todas as amostras de farinha da folha de moringa apresentaram elevada quantidade de carotenoides totais (entre 358 a 436 $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de amostra), com predominância de luteína.

Tabela 25- Teor de carotenoides da farinha da folha de moringa de quatro estações do ano

Componentes ¹	Estação			
	Verão ²	Outono ²	Inverno ²	Primavera ²
Carotenoides ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$)	358,0 ^a $\pm$ 52,6	423,0 ^a $\pm$ 19,4	370,8 ^a $\pm$ 56,0	436,3 ^a $\pm$ 67,2
Luteína ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$)	270,6 ^a $\pm$ 49,6	338,2 ^a $\pm$ 10,8	292,8 ^a $\pm$ 47,3	315,0 ^a $\pm$ 31,1
β - criptoxantina ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$)	2,3 ^{a,b} $\pm$ 0,5	1,7 ^a $\pm$ 0,3	2,5 ^{a,b} $\pm$ 0,4	3,0 ^b $\pm$ 0,4
β - caroteno ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$)	85,0 ^a $\pm$ 12,9	83,1 ^a $\pm$ 8,4	75,5 ^a $\pm$ 13,2	118,2 ^b $\pm$ 3,7
Vitamina A ³ ($\text{ER } 100 \text{ g}^{-1}$)	14365,6	13989,8	12782,1	19954,0

¹ valores expressados em matéria fresca. ² médias de três repetições $\pm$ desvio padrão. ³ valores expressos em equivalente de retinol por 100 g de farinha de moringa. Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

RODRIGUEZ-AMAYA e colaboradores (2008) verificaram que, de modo geral, luteína, β -caroteno, violaxantina e neoxantina são os principais carotenoides encontrados em vegetais folhosos e não folhosos. A farinha da folha de moringa apresenta teores elevados de luteína se comparado com outros alimentos considerados fontes, como couve cru (39,55 mg 100 g⁻¹ matéria fresca), couve cozida (15,99 mg 100 g⁻¹ matéria fresca), espinafre cru (11,93 mg 100 g⁻¹ matéria fresca). E, o teor de β -caroteno é elevado se comparado com vegetais, como brócolis (9,8 mg 100 g⁻¹ matéria fresca), folha do aipo (5,5 mg 100 g⁻¹ matéria fresca), couve (3,5 mg 100 g⁻¹ matéria fresca), e chicória (4,9 mg 100 g⁻¹ matéria fresca) (HOLDEN *et al.*, 1999; RODRIGUEZ-AMAYA *et al.*, 2008).

O teor de luteína encontrada na farinha de folha de moringa é estatisticamente igual para todos os meses analisados, enquanto a β -criptoxantina e β -caroteno varia significativamente entre os meses de coleta. RODRIGUEZ-AMAYA e colaboradores (2008) relataram que há diferenças qualitativas e quantitativas de carotenoides, e estas podem estar relacionadas a fatores como: cultivar, variedade, maturidade no momento da colheita, clima, região de cultivo, parte da planta utilizada, condições durante a produção agrícola e condições pós-colheita.

Há poucos relatos na literatura sobre o teor de carotenoides na folha de moringa. LIU e colaboradores (2007) apresentam resultados inferiores de teor de luteína (139,70 mg 100 g⁻¹ em base seca) encontrada na folha de moringa de Singapura que podem ser decorrentes as diferenças da região de cultivo da moringa.

O consumo regular do alimento com luteína está relacionado com baixo risco de doenças cardiovasculares, prevenção de alguns tipos de câncer, catarata e degeneração macular e envelhecimento. O consumo de cerca de 10 g de farinha de moringa por dia irá

fornecer cerca de 30,4 mg de luteína. Este valor é o mesmo utilizado por WENZEL e colaboradores (2006) para tratar fotofobia.

4.2.3.1. Relação entre os valores de cor e carotenoides da farinha da folha de moringa

As correlações entre os parâmetros de cor e os carotenoides individuais e totais são apresentadas na **Tabela 26**.

Os valores de L*, a*, b*, croma (C*) e ângulo Hue (H*) apresentaram correlação não significativa com os carotenoides da farinha da folha de moringa. Apesar da farinha da folha de moringa conter alto teor de carotenoides, não foi possível relacionar a cor, já que a farinha possui coloração verde com leve tonalidade amarela e os carotenoides estão relacionados com os tons amarelos, laranjas e vermelhos.

Tabela 26- Coeficientes de correlação de Pearson entre carotenoides e parâmetros de cor da farinha da folha de moringa

	L*	a*	b*	C*	H*
Luteína	-0,467 ^{ns}	0,365 ^{ns}	-0,252 ^{ns}	-0,265 ^{ns}	0,183 ^{ns}
β-criptoxantina	0,350 ^{ns}	-0,633 ^{ns}	0,375 ^{ns}	0,399 ^{ns}	-0,334 ^{ns}
β-caroteno	-0,249 ^{ns}	-0,343 ^{ns}	-0,163 ^{ns}	-0,139 ^{ns}	-0,505 ^{ns}
Carotenoides totais	-0,456 ^{ns}	0,159 ^{ns}	-0,258 ^{ns}	-0,259 ^{ns}	-0,043 ^{ns}

^{ns} : não significativa.

4.2.4. Avaliação da extração da farinha da folha de moringa

O extrato da farinha da folha de moringa foi previamente testado a fim de obter maior teor de compostos redutores, e posteriormente realizar as análises de atividade biológica *in vitro* dos extratos de cada período coletado.

Os teores médios de fenólicos totais são apresentados na **Figura 20**. Observa-se que o extrato 3 apresentou diferença estatística no teor de compostos fenólicos (8,93 mg EAG 100 g⁻¹ matéria seca) dos outros extratos testados. Portanto, optou-se por realizar o extrato 4 para as posteriores análise, já que este era o método mais rápido (1 hora) e conveniente (ausência de aquecimento).

Figura 20 - Teor médio de fenólicos totais nos extratos de farinha de moringa do verão de 2012 (fevereiro)

Nota: Extrato 1 – metanol:água (80:20); agitação magnética; temperatura ambiente; 3 horas. Extrato 2 – metanol:água (50:50); refluxo; 90 °C; 1 hora. Extrato 3 – metanol:água (50:50); refluxo; temperatura ambiente; 1 hora. Extrato 4 – metanol:água (80:20); agitação magnética; temperatura ambiente; 1 hora.

4.2.5. *Screening* fitoquímico para substâncias bioativas por cromatografia em camada delgada

O *screening* fitoquímico foi realizado nos extratos de farinha de folha de moringa de cada período de coleta. Pode-se observar que não houve diferença no perfil fitoquímico

de acordo com o período coletado. A **Figura 21** apresenta um cromatograma típico obtido no extrato da farinha da folha de moringa coletada no verão.

Figura 21 - CCD do extrato de farinha de folha de moringa de fevereiro.

Nota: A: fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ água (82:9:9) e vanilina sulfúrica como revelador. B: fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ água (82:9:9) e anisaldeído sulfúrico como revelador. C: fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ água (82:9:9) e DPPH como revelador. D: fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ hidróxido de amônio (82:9:9) e solução de Dragendorff como revelador. E: fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ água (82:9:9) e NP-PEG como revelador.

As classes de compostos identificadas foram a dos terpenos e a dos compostos fenólicos (**Tabela 27**).

Tabela 27- *Screening* fitoquímico do extrato da farinha da folha de moringa por cromatografia em camada delgada

Amostra	Compostos triterpênicos	Flavonoides (compostos fenólicos)	Alcaloides
Extrato de farinha da folha de moringa	+	+	-

Os resultados são coerentes ao encontrado na literatura, já que é relatado a presença de compostos fenólicos e compostos triterpênicos nas folhas, raízes e sementes da moringa

(SIDDHURAJU e BECKER, 2003; PARI *et al.*, 2007; SULTANA *et al.*, 2009; VERMA *et al.*, 2009; SHIH *et al.*, 2011; NAEEM *et al.*, 2012).

4.2.6. Compostos Redutores Totais

Foram observadas diferenças significativas no teor de compostos redutores totais ($p < 0,05$) em função do período de coleta (**Tabela 28**). No verão o extrato da farinha da folha de moringa apresentou teor maior e estatisticamente diferente ($12,24 \text{ g EAG } 100 \text{ g}^{-1}$ sólido solúveis) das outras estações do ano.

Tabela 28- Concentração de sólidos solúveis e substâncias redutoras do extrato de farinha da folha de moringa

Estação	Sólidos solúveis ¹	Compostos redutores totais ²
Verão	$17,24 \pm 1,11$	$12,24^a \pm 0,54$
Outono	$15,84 \pm 0,41$	$11,14^b \pm 0,36$
Inverno	$17,78 \pm 1,13$	$10,75^b \pm 0,33$
Primavera	$18,43 \pm 0,76$	$10,35^b \pm 0,37$

¹ Teor de sólidos solúveis presentes no extrato da farinha da folha de moringa (média $\pm$ desvio padrão para $n=12$), expressos em g sólidos solúveis por 100 g de farinha da folha da moringa. ² expresso em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 mg de sólidos solúveis. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

SHIH e colaboradores (2011) não relataram diferenças significativas ($p < 0,05$) de teor de compostos fenólicos na folha de moringa coletada no inverno e no verão. Diferente do resultado obtido por IQBAL e BHANGER (2006) que verificaram que nos meses mais frios o teor de compostos fenólicos foi maior.

Outros autores apresentaram valores de compostos redutores totais na folha de moringa *in natura* com variação de 2,94 a $12,2 \text{ g EAG } 100 \text{ g}^{-1}$ base seca, coletados em

diversos países (SIDDHURAJU e BECKER, 2003; IQBAL e BHANGER, 2006; SINGH *et al.*, 2009; SULTANA *et al.*, 2009).

Estas diferenças nos teores de compostos redutores podem ser atribuídas a fatores como: diferenças de técnicas e solventes de extração da farinha da folha de moringa, influência dos fatores agroclimáticos de cada região, sazonalidade, e interferência de outros compostos reativos ao reagente de Folin-Ciocalteu (DE SOUZA *et. al.*, 2010).

4.2.7. Análise de Compostos Fenólicos por CLAE

Foram identificados e quantificados dois compostos fenólicos no extrato da folha de moringa, com base no tempo de retenção e espectro de absorção do UV. A identificação dos compostos é apresentada nas **Figuras 22 e 23**. O derivado flavônico (rutina) é caracterizada pela presença de bandas de absorção máxima entre 250-280 nm e 330-385 nm, enquanto o ácido fenólico (ácido clorogênico) é caracterizado pelo máximo de absorção de 326 nm.

Figura 22 - Perfil cromatográfico de farinha de moringa coletada no verão de 2012 (1 = ácido clorogênico)

Figura 23 - Perfil cromatográfico de farinha de moringa coletada no verão de 2012 (1 = rutina)

A quantificação das amostras de murici foi realizada, por meio de curva de calibração externa de cinco pontos com o padrão de referência: rutina a 354 nm ($1,8$ a $30,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, $r = 0,9944$) e ácido clorogênico a 328 nm ($15,0$ a $240,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, $r = 0,9987$).

Na **Tabela 29** estão apresentados os resultados de validação do método de análise dos compostos fenólicos. Tanto a repetibilidade ($1 - 10 \%$) do método, quanto a porcentagem de recuperação ($80 - 110 \%$) estão dentro do limite estabelecido pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2002).

Tabela 29- Parâmetros de validação do método analítico para análise de compostos fenólicos para extrato da farinha da folha de moringa

	Ácido clorogênico	Rutina
Limite de quantificação (ng mL ⁻¹)	27,9	547,1
Limite de detecção (ng mL ⁻¹)	8,4	164,1
Repetibilidade farinha da folha da moringa (CV %)	0,6	0,7
Recuperação farinha da folha da moringa (%)	80,9	82,6

Na **Tabela 30** são apresentados os teores dos compostos fenólicos nos extratos da farinha da folha de moringa. Os extratos da farinha de moringa do verão e outono possuem maior teor de ácido clorogênico e rutina, que dos períodos de inverno e primavera.

Tabela 30- Compostos fenólicos identificados por CLAE-UV/DAD nos extratos de farinha de folha de moringa expresso em mg g⁻¹ de sólidos solúveis

Estação	Compostos fenólicos	
	Acido Clorogênico ¹	Rutina ²
Verão	11,1 ^a ± 0,1	2,1 ^a ± 0,0
Outono	11,5 ^a ± 0,5	1,7 ^a ± 0,0
Inverno	10,2 ^b ± 0,1	0,2 ^b ± 0,1
Primavera	10,4 ^c ± 0,3	0,2 ^b ± 0,0

¹ expresso em mg de equivalente de ácido clorogênico por g de sólidos solúvel (media ± desvio padrão para n=3). ² expresso em mg de equivalente de rutina por g de sólidos solúvel (media ± desvio padrão para n=3). Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente (p<0,05)

Os compostos fenólicos encontrado na farinha de folha de moringa estão de acordo com os resultados relatados por ATAWODI e colaboradores (2010) que identificaram além de ácido clorogênico e rutina, também quercetina glicosídica e kaempferol no extrato da folha da moringa *in natura* coletada na Nigéria. SIDDHURAJ e BECKER (2003) encontraram quercetina e kaempferol nas amostras de folha de moringa coletadas na

Nicarágua, Índia e Níger. PARI e colaboradores (2007) identificaram ácido caféico, ácido p-cumárico e ácido ferúlico no extrato de folha de moringa coletado na Índia.

Importante ressaltar que não há nenhum estudo com a farinha da folha de moringa, todos os autores citados utilizam a folha de moringa *in natura*. Além disso, fatores agroclimáticos, tipo de solvente e metodologia utilizada na extração pode identificar diferentes fenólicos.

4.2.8. Atividade Antioxidante

A **Tabela 31** apresenta os resultados do coeficiente de inibição de 50% (IC₅₀) do radical livre DPPH, e valor de atividade antioxidante por ORAC dos extratos de farinha da folha de moringa de cada mês de coleta.

Tabela 31- Atividade antioxidante do extrato de farinha da folha de moringa

Estação	Atividade antioxidante	
	DPPH ¹ (IC ₅₀)	ORAC ²
Verão	488,7 ^b ± 6,9	0,3 ^a ± 0,0
Outono	597,1 ^a ± 35,7	0,2 ^b ± 0,0
Inverno	593,9 ^a ± 10,3	0,3 ^a ± 0,0
Primavera	588,8 ^a ± 24,1	0,2 ^b ± 0,0

¹ expresso em µg de sólidos solúveis por mL. ² expresso em mol de equivalente de Trolox por 100 g de sólidos solúveis. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente (p<0,05).

Podemos observar que o extrato da farinha de moringa no verão possui o valor de IC₅₀ significativamente menor quando comparado aos demais meses de coleta, ou seja, o período do verão apresenta maior capacidade antioxidante pelo método DPPH. O extrato do verão apresentou maior concentração de equivalente de Trolox por 100 g de sólido solúvel, e não difere estatisticamente do extrato da farinha de moringa no inverno.

SHIH e colaboradores (2011) apresentam valores do extrato de folha de moringa no inverno ($IC_{50} = 200,00 \mu g mL^{-1}$) e no verão ($IC_{50} = 387,00 \mu g mL^{-1}$). Os resultados demonstram que a capacidade de sequestrar radical DPPH no inverno é maior do que no verão, o que não ocorre com observado na farinha da folha de moringa. O extrato da folha de moringa apresentado por SHIH e colaboradores (2011) possui melhor capacidade antioxidante do que os obtidos neste estudo.

No Brasil não há grandes variações de temperatura, possivelmente este fator climático pode estar relacionado com a não diferenciação do teor de compostos fenólicos. IQBAL e BHANGER (2006) explica que há um aumento na produção de antioxidantes nos períodos mais frios, já que este é um mecanismo para a autodefesa da planta contra o estresse ambiental.

A vitamina C possui ação importante na redução do radical DPPH, tanto que se utiliza ácido ascórbico como controle positivo do ensaio. A ausência de ácido ascórbico na farinha da folha de moringa pode ser uma possível explicação para a menor capacidade antioxidante. Enquanto na folha de moringa estudada por SHIH e colaboradores (2011) foi identificado alto teor de ácido ascórbico.

A **Tabela 32** apresenta as correlações entre a atividade antioxidante por dois mecanismos (ORAC e DPPH) e compostos bioativos, como carotenoides e compostos redutores totais determinadas por Folin-Ciocalteu.

Em relação à capacidade sequestradora de Folin-Ciocalteu e atividade antioxidante por DPPH há uma correlação inversa forte ($r = - 0,834$, $p < 0,001$). Enquanto no método ORAC não foi encontrado correlação significativa com o teor de compostos fenólicos totais. Assim como os extratos de murici, os extratos de farinha de moringa apresentaram

uma correlação forte entre Folin-Ciocalteu e DPPH devido ao fato de que estes se baseiam em mecanismo de ação semelhante (DE SOUZA *et al.*, 2010).

Tabela 32- Coeficientes de correlação de Pearson entre atividade antioxidante e compostos bioativos presentes na farinha da folha de moringa

	Carotenoides totais	Compostos redutores totais
DPPH	0,276 ^{ns}	-0,834 ^{**}
ORAC	0,748 ^{**}	0,515 ^{ns}

^{**}, ^{*}, significantes ao $P \leq 0,05$ ou $0,01$ respectivamente. ^{ns} não significativa.

4.2.9. Atividade de inibição de lipase pancreática

Para cada período de coleta foi realizada uma curva em triplicata com cinco diluições com finalidade de obter o IC₅₀ (**Figura 24**).

Figura 24- Curva dose-resposta para inibição da lipase pancreática no extrato de farinha da folha da moringa de cada período de coleta (A = Verão, B = Outono, C = Inverno, D = Primavera)

O extrato das folhas colhidas no período do outono apresenta maior capacidade de inibição da lipase com relação ao material coletado nos outros meses (**Tabela 33**).

Tabela 33- Atividade de inibição da lipase pancreática do extrato de farinha da folha de moringa

Estação	IC ₅₀ ¹
Verão	912,2 ^a ± 36,5
Outono	581,7 ^b ± 35,4
Inverno	919,8 ^a ± 89,4
Primavera	982,8 ^a ± 66,5

¹ expresso em µg de sólidos solúveis por mL. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente (p<0,05).

Ao comparar com o controle positivo (IC₅₀ = 0,31 µg mL⁻¹) pode-se verificar que os extratos da farinha de moringa apresentam baixa atividade de inibição. Não foi encontrada associação significativa entre o teor de compostos fenólicos (r = - 0,106), ácido clorogênico (r = - 0,674) e rutina (r = - 0,450).

Não há relatos de inibição da lipase pancreática da farinha da folha da moringa, ou em alguma parte da planta estudada.

4.2.10. Atividade Antiglicação: Sistema Modelo Albumina Sérica Bovina (BSA)

Os extratos da farinha da folha de moringa apresentaram potencial de inibição da formação de produtos finais da glicação, como mostra na **Tabela 34**.

Tabela 34- Atividade de antiglicação do extrato de farinha da folha de moringa

Estação	IC ₅₀ ¹
Verão	298,4 ^a ± 12,7
Outono	333,1 ^a ± 9,5
Inverno	585,9 ^b ± 21,1
Primavera	309,4 ^a ± 13,8

¹expresso em µg de sólidos solúveis por mL. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente (p<0,05).

O IC₅₀ das amostras de extrato da farinha de moringa e foi calculado por meio da de uma curva em triplicata com cinco diluições do extrato (**Figura 25**).

Figura 25- Curva dose-reposta da inibição da formação de AGES no extrato de farinha da folha de moringa (A = verão, B = outono, C = inverno, D = primavera)

Todos os extratos da farinha da folha de moringa puderam inibir a formação de produtos de glicação. Utilizando 0,38 mg mL⁻¹ do extrato da farinha de moringa e do controle positivo pode-se observar inibição média na formação de AGEs de 50 e 74%,

respectivamente. Portanto os extratos apresentam significante atividade de inibição da glicação comparando com o controle positivo no modelo BSA/metilglioxal.

KIM e KIM (2003) avaliaram a atividade de antiglicação de 25 extratos de plantas. Os autores relataram que 22 extratos apresentaram IC_{50} maior que 200 μg de matéria seca mL^{-1} . XI e colaboradores (2008) relatam a inibição de glicação em modelo BSA/glicose em onze espécies tradicionais na medicina chinesa, oito extratos indicaram IC_{50} de 1 mg mL^{-1} . LUNCEFORD e GUGLIUCCI (2005) testaram extrato de *Ilex paraguariensis* (inibe 40% com 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$) e este possui maior capacidade de inibição na formação de AGEs que o chá verde.

Não houve correlação da capacidade antioxidante e dos compostos fenólicos da farinha da moringa com a inibição da glicação, há relatos que outros compostos podem estar associados com este efeito. WU e YEN (2005) discutem que a vitamina B1, B6, C, E, niacinamida e carnosina estão associados com a inibição da formação de AGEs.

5. CONCLUSÃO

De modo geral, o murici é um fruto rico em vitamina C e carotenoides, principalmente, luteína. O extrato de murici contém flavonoides (epicatequina, catequina, rutina e quercetina) e possui atividade antioxidante pelo método de DPPH e ORAC. Além disso, foi observada atividade de inibição da lipase pancreática e atividade antiglicação do extrato de murici.

A farinha da folha de moringa possui alto teor de proteína, cálcio, potássio e fibras. Também possui elevado teor de carotenoides, destacando a luteína e β -caroteno. No extrato da farinha de moringa foi identificado ácido clorogênico e rutina; apresentou atividade antioxidante, principalmente pelo método de DPPH. Os resultados mostraram que o extrato da farinha de moringa possui baixa atividade de inibição da lipase pancreática. O extrato da folha de moringa foi capaz de inibir a formação de AGEs pelo sistema BSA/metilglioxal.

O murici e a moringa são espécies vegetais com nutrientes adequados para a dieta do brasileiro, devido às características nutricionais apresentadas neste trabalho.

6. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. M. B.; de Sousa, P. H. M.; Arriaga, A. M. C.; do Prado, G. M.; Magalhães, C. E. C.; Maia, G. A.; de Lemos, T. L. G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2155-2159, 2011.
- ALVES, C. Q.; David, J. M.; David, J. P.; Bahia, M. V.; Aguiar, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.
- ALVES, G. L.; Franco, M. R. B. Headspace gas chromatography-mass spectrometry of volatile compounds in murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich). **Journal of Chromatography A**, v. 985, n. 1-2, p. 297-301, 2003.
- ANWAR, F.; Bhanger, M. Analytical characterization of Moringa oleifera seed oil grown in temperate regions of Pakistan. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 22, p. 6558-6563, 2003.
- ANWAR, F.; Latif, S.; Ashraf, M.; Gilani, A. H. Moringa oleifera: a food plant with multiple medicinal uses. **Phytotherapy Research**, v. 21, n. 1, p. 17-25, 2007.
- AOAC. Association of official analytical chemists. **Official methods of analysis**: Arlington 1995.
- AOAC. Association of official analytical chemists. In: (Ed.). **Official methods of analysis**. Washington: AOAC, 2002. cap. Appendix D: guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis,
- ATAWODI, S. E.; Atawodi, J. C.; Idakwo, G. A.; Pfundstein, B.; Haubner, R.; Wurtele, G.; Bartsch, H.; Owen, R. W. Evaluation of the polyphenol content and antioxidant properties of methanol extracts of the leaves, stem, and root barks of Moringa oleifera Lam. **Journal of Medicinal Food**, v. 13, n. 3, p. 710-6, 2010.
- BARRETO, G. P. M.; Benassi, M. T.; Mercadante, A. Z. Bioactive Compounds from Several Tropical Fruits and Correlation by Multivariate Analysis to Free Radical Scavenger Activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 10, p. 1856-U124, 2009
- BARRETO, M. B.; Bezerra, A. M. E.; Freitas, J. V. B.; Gramosa, M. V.; Nunes, E. P.; Silveira, E. R. Constituintes químicos voláteis e não-voláteis de Moringa oleifera Lam., Moringaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 893-897, 2009.
- BARTNIK, M.; Glowniak, K.; Gromek, A. TLC and HPLC analysis of the flavonoid glycosides in the aerial parts of *Peucedanum tauricum* Bieb. **Journal of Planar Chromatography - Modern TLC**, v. 20, n. 2, p. 127-130, 2007.

BARBA, A. I. O.; Hurtado, M.C.; Mata, M.C.S.; Ruiz, F.; Tejada, M. L. S. Application of a UV-vis detection-HPLC method for a rapid determination of lycopene and β -carotene in vegetables. **Food Chemistry**, v. 95, p. 328-336, 2006.

BASTOS, D. H. M.; Rogero, M. M.; Arêas, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 646-56, 2009.

BATAGLIA, O. C.; Furlani, A.C.M.; Teixeira, J.P.F.; Furlani, P.R. Gallo, J. R. Métodos de Análise Química de Plantas. Campinas: Instituto Agrônômico, p. 48, 1983.

BEAULIEU, L. P.; Harris, C. S.; Saleem, A.; Cuerrier, A.; Haddad, P. S.; Martineau, L. C.; Bennett, S. A.; Arnason, J. T. Inhibitory effect of the Cree traditional medicine wiishichimanaanh (*Vaccinium vitis-idaea*) on advanced glycation endproduct formation: identification of active principles. **Phytotherapy Research**, v. 24, n. 5, p. 741-7, 2010.

BIANCHI, M. D. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123-30, 1999.

BIRARI, R. B.; Bhutani, K. K. Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. **Drug Discovery Today**, v. 12, n. 19–20, p. 879-889, 2007.

BLANDO, F.; Gerardi, C.; Nicoletti, I. Sour Cherry (*Prunus cerasus* L) Anthocyanins as Ingredients for Functional Foods. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2004, n. 5, p. 253-258, 2004.

BLIGH, E. G.; Dyer, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-7, 1959.

BRAND-WILLIAMS, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Portaria SVS/MS nº 27, de 13 de Janeiro de 1998. **Regulamento técnico referente à informação nutricional complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes)**. Brasília, Distrito Federal: Diário Oficial da União 1998.

BRASIL. Plantas para o futuro - Ministério do Meio Ambiente. 2011. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biodiversidade/conserva%C3%A7%C3%A3o-e-promo%C3%A7%C3%A3o-do-uso-da-diversidade-gen%C3%A9tica/plantas-para-o-futuro>. Acesso em 13 de Fevereiro de 2011.

CAMARGO, M. S. Nutrição e adubação de *Aster ericoides* (White Master) influenciando produção, qualidade e longevidade. [Tese de doutorado]. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo; 2001.

CANUTO, G. A. B.; Xavier, A. A. O.; Neves, L. C.; Benassi, M. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p. 1196-1205, 2010.

CARDINALE, B. J. Biodiversity loss and its impact on humanity. **Nature**, v. 489, n. 7415, p. 326-326, 2012.

CARDOSO, L. D. M.; Martino, H. S. D.; Moreira, A. V. B.; Ribeiro, S. M. R.; Pinheiro-Sant'Ana, H. M. Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) of the Cerrado of Minas Gerais, Brazil: Physical and chemical characterization, carotenoids and vitamins. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2151-2154, 2011a.

CARDOSO, P. C.; Tomazini, A. P. B.; Stringheta, P. C.; Ribeiro, S. M. R.; Pinheiro-Sant'Ana, H. M. Vitamin C and carotenoids in organic and conventional fruits grown in Brazil. **Food Chemistry**, v. 126, n. 2, p. 411-416, 2011b.

CECCHI, H. M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. 3º ed. Campinas, São Paulo: Editora da Unicamp, 2007.

COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de nutrientes. 3º ed.. Barueri, São Paulo: Manole, 2009.

CRAFT, N. E.; Soares, J. H. Relative solubility, stability, and absorptivity of lutein and .beta.-carotene in organic solvents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 3, p. 431-434, 1992.

DAVEY, M. W.; Montagu, M. V.; Inzé, D.; Sanmartin, M.; Kanellis, A.; Smirnoff, N.; Benzie, I. J. J.; Favell, D.; Fletcher, J. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 7, p. 825-860, 2000.

DE ANGELIS, R. Fisiologia da nutrição: fundamentos para nutrição e desnutrição. São Paulo: EDART/EDUSP, v. 1, p. 44, 1977.

DE SOUZA S. G. A. E.; Lajolo, F. M.; Genovese, M. I. Chemical composition and antioxidant/antidiabetic potential of Brazilian native fruits and commercial frozen pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 8, p. 4666-74, 2010.

DE SOUZA, V. R.; Pereira, P. A. P.; Queiroz, F.; Borges, S. V.; de Deus, J. S. C. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 381-386, 2012.

DE SÁ, M. C.; Rodriguez-Amaya, D. B. Optimization of HPLC quantification of carotenoids in cooked green vegetables—Comparison of analytical and calculated data. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 17, n. 1, p. 37-51, 2004.

DIAS, A. A reação de Maillard nos alimentos e medicamentos. São Paulo: Petra, 2009.

DOS SANTOS, A. R. F. Desenvolvimento inicial de *moringa oleifera* sob condições de estresse. [Dissertação de mestrado]. Universidade Federal de Sergipe: São Cristóvão. 2010

FAO. West African Food Composition Table. 2012. Disponível em: < http://www.fao.org/infoods/tables_africa_en.stm >. Acesso em: Junho 2012.

FELTRIN, K. L.; Little, T. J.; Meyer, J. H.; Horowitz, M.; Rades, T.; Feinle-Bisset, C. Comparative effects of intraduodenal infusions of lauric and oleic acids on antropyloroduodenal motility, plasma cholecystokinin and peptide YY, appetite, and energy intake in healthy men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, n. 5, p. 1181-7, 2008.

FERREIRA, M. G. R. Murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich.). Porto Velho, RO, 2005. Disponível em: < <http://www.cpafrro.embrapa.br/portal/publicacao/244/> >. Acesso em: 19/06/2013.

FROTA, K. D. M. G.; Soares, R. A. M.; Arêas, J. A. G. Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. **Food Science and Technology** (Campinas), v. 28, p. 470-476, 2008.

FUKUMOTO, L. R.; Mazza, G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 3597-604, 2000.

GEORGE, S.; Brat, P.; Alter, P.; Amiot, M.J. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 1370-1373, 2005.

GIL, M. I.; Tomas-Barberan, F.A.; Hesse-Pierce, B.; Kader, A.A. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 17, p. 4976-82, 2002.

GU, L.; WU, T.; Wang, Z. TLC bioautography-guided isolation of antioxidants from fruit of *Perilla frutescens* var. *acuta*. **Lwt-Food Science and Technology**, v. 42, n. 1, p. 131-136, 2009.

GUGLIUCCI, A.; Bastos, D. H. M.; Schulze, J.; Souza, M. F. Caffeic and chlorogenic acids in *Ilex paraguariensis* extracts are the main inhibitors of AGE generation by methylglyoxal in model proteins. **Fitoterapia**, v. 80, n. 6, p. 339-44, 2009.

GUILHON-SIMPLICIO, F.; Pereira, M. D. M. Aspectos químicos e farmacológicos de *Byrsonima* (Malpighiaceae). **Química Nova**, v. 34, p. 1032-1041, 2011.

GUIMARÃES, M. M.; Silva, M. S. Valor nutricional e características químicas e físicas de frutos de murici-passa (*Byrsonima verbascifolia*). **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 28, p. 817-821, 2008.

HAN, L. K.; Kimura, Y.; Kawashima, M.; Takaku, T.; Taniyama, T.; Hayashi, T.; Zheng, Y.N.; Okuda, H. Anti-obesity effects in rodents of dietary teasaponin, a lipase inhibitor. **International Journal of Obesity and Metabolic Disorders**, v. 25, n. 10, p. 1459-64, 2001.

HART, D. J.; Scott, K. J. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. **Food Chemistry**, v. 54, n. 1, p. 101-111, 1995.

HOLDEN, J. M.; Eldridge, A. L.; Beecher, G. R.; Marilyn, B. I.; Bhagwat, S.; Davis, C. S.; Douglass, L. W.; Gebhardt, S.; Haytowitz, D.; Schakel, S. Carotenoid Content of U.S. Foods: An Update of the Database. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 12, n. 3, p. 169-196, 1999.

HORNSTRA, G. Importance of polyunsaturated fatty acids of the n-6 and n-3 families for early human development. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 103, p. 379-389, 2001.

IOM-US. Institute of medicine. In: (Ed.). **Food and nutrition Board**. Washington, DC: National Academy Press. cap. Standing committee on the scientific evaluation of dietary reference intakes. Dietary reference intake for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids, 2001.

IQBAL, S.; Bhanger, M. I. Effect of season and production location on antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaves grown in Pakistan. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6-7, p. 544-551, 2006.

JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; Jiménez-Jiménez, I.; Sánchez-Moreno, C.; Saura-Calixto, F. Evaluation of free radical scavenging of dietary carotenoids by the stable radical 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 11, p. 1686-1690, 2000.

KAMPHUIS, M. M.; Lejeune, M. P.; Saris, W. H.; Westerterp-Plantenga, M. S. Effect of conjugated linoleic acid supplementation after weight loss on appetite and food intake in overweight subjects. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 57, n. 10, p. 1268-74, 2003.

KIM, H. Y.; Kim, K. Protein glycation inhibitory and antioxidative activities of some plant extracts in vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 6, p. 1586-91, 2003.

KRESS-ROGERS, E.; Brimelow, C. J. B. Instrumentation and Sensors for the Food Industry: 2nd Edition. Woodhead Pub Limited, 2001.

KURIHARA, H.; Asami, S.; Shibata, H.; Fukami, H.; Tanaka, T. Hypolipemic effect of *Cyclocarya paliurus* (Batal) Iljinskaja in lipid-loaded mice. **Biological Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n. 3, p. 383-5, 2003.

LEÃO, A. L. M.; Santos, L. C. D. Micronutrient consumption and overweight: Is there a relationship? **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 15, n. 1, p. 85-95, 2012.

LIMA, D. **Tabela brasileira de composição de alimentos-TACO**. NEPA-UNICAMP, 2006.

LIU, S.C.; Lin, J.T.; Yang, D.J. Determination of cis- and trans- α - and β -carotenoids in Taiwanese sweet potatoes (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) harvested at various times. **Food Chemistry**, v. 116, n. 3, p. 605-610, 2009.

LIU, Y.; Perera, C. O.; Suresh, V. Comparison of three chosen vegetables with others from South East Asia for their lutein and zeaxanthin content. **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1533-1539, 2007.

LUNCEFORD, N.; Gugliucci, A. *Ilex paraguariensis* extracts inhibit AGE formation more efficiently than green tea. **Fitoterapia**. Netherlands, v.76, p.419-27, 2005.

LUTEROTTI, S.; Markovic, K.; Franko, M.; Bicanic, D.; Madzgalj, A.; Kljak, K. Comparison of spectrophotometric and HPLC methods of determination of carotenoids in food. **Food Chemistry**, v.140, p. 390-397, 2013.

LUTZ, I. A. Métodos físico-químico para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

MA, L.; Lin, X. M. Effects of lutein and zeaxanthin on aspects of eye health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 1, p. 2-12, 2010.

MAHATTANATAWEE, K.; Manthey, J. A.; Luzio, G.; Talcott, S. T.; Goodner, K.; Baldwin, E. A. Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-grown tropical fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 19, p. 7355-63, 2006.

MALTA, L. G.; Tessaro, E. P.; Eberlin, M.; Pastore, G. M.; Liu, R. H. Assessment of antioxidant and antiproliferative activities and the identification of phenolic compounds of exotic Brazilian fruits. **Food Research International**, v. 53, n. 1, p. 417-425, 2013.

MANCINI, M. C.; Halpern, A. Tratamento Farmacológico da Obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, p. 497-512, 2002.

MARLETT, J. A.; Mcburney, M. I.; Slavin, J. L. Position of the American Dietetic Association: Health Implications of Dietary Fiber. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 102, n. 7, p. 993-1000, 2002.

MATSUURA, F. C. A. U.; Cardoso, R. L.; Folegatti, M. I. S.; Oliveira, J. R. P.; Oliveira, J. A. B.; Santos, D. B. Avaliações físico-químicas em frutos de diferentes genótipos de

acerola (*Malpighia puniceifolia* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, p. 602-606, 2001.

MERCADANTE, A. Z.; Rodriguez-Amaya, D. B. Effects of Ripening, Cultivar Differences, and Processing on the Carotenoid Composition of Mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 1, p. 128-130, 1998.

METCALFE, L. D.; Schmitz, A. A.; Pelka, J. R. Rapid Preparation of Fatty Acid Esters from Lipids for Gas Chromatographic Analysis. **Analytical Chemistry**, v. 38, n. 3, p. 514-515, 1966.

MORENO, D. A.; Ilic, N.; Poulev, A.; Brasaemle, D. L.; Fried, S. K.; Raskin, I. Inhibitory effects of grape seed extract on lipases. **Nutrition**. United States, v.19, p.876-9, 2003.

MOYO, B.; Masika, P. J.; Hugo, A.; Muchenje, V. Nutritional characterization of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, p. 12925-12933, 2011.

NAEEM, S.; Ali, M.; Mahmood, A. Optimization of extraction conditions for the extraction of phenolic compounds from *Moringa oleifera* leaves. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 25, n. 3, p. 535-41, 2012.

NAKAI, M.; Fukui, Y.; Asami, S.; Toyoda-Ono, Y.; Iwashita, T.; Shibata, H.; Mitsunaga, T.; Hashimoto, F.; Kiso, Y. Inhibitory effects of oolong tea polyphenols on pancreatic lipase in vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 11, p. 4593-8, 2005.

NESBITT, M.; McBurney, R. P. H.; Broin, M.; Beemtje, H. J. Linking biodiversity, food and nutrition: The importance of plant identification and nomenclature. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 6, p. 486-498, 2010.

NIIZU, P. Y.; Rodriguez-Amaya, D. B. New data on the carotenoid composition of raw salad vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, n. 8, p. 739-749, 2005.

NIJVELDT, R. J.; van Nood, E.; van Hoorn, D. E.; Boelens, P. G.; van Norren, K.; van Leeuwen, P. A. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, n. 4, p. 418-25, 2001.

NISHIDA, C.; Uauy, R.; Kumanyika, S.; Shetty, P. The joint WHO/FAO expert consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. In: (Ed.). **Public Health Nutrition**. England, v.7, p.245-50, 2004.

ODRIOZOLA-SERRANO, I.; Hernández-Jover, T.; Martín-Belloso, O. Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. **Food chemistry**, v. 105, n. 3, p. 1151-1158, 2007.

OMS - Organização Mundial da Saúde. NCD Country profiles, 2011. Disponível em: http://www.who.int/nmh/countries/bra_en.pdf. Acesso em: 23 julho de 2013.

OMS - Organização Mundial da Saúde. Obesity and overweight, 2003 Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> Acesso em: 23 julho de 2013.

OU, B.; Hampsch-Woodill, M.; Prior, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. United States, v.49, p.4619-26, 2001.

PARI, L.; Rybarczyk, A.; Amarowicz, R. Antioxidant activity of the crude extracts of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) and sweet broomweed (*Scoparia dulcis* L.) leaves. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 57, n. 2, p. 203-208, 2007.

PEIXOTO MDO, R.; Benicio, M. H.; Jardim, P. C. The relationship between body mass index and lifestyle in a Brazilian adult population: a cross-sectional survey. In: (Ed.). **Caderno Saude Publica**. Brazil, v.23, p.2694-740, 2007.

PEREIRA, C. A.; Yariwake, J. H.; Lancas, F. M.; Wauters, J. N.; Tits, M.; Angenot, L. A HPTLC densitometric determination of flavonoids from *Passiflora alata*, *P. edulis*, *P. incarnata* and *P. caerulea* and comparison with HPLC method. **Phytochemical Analysis**, v. 15, n. 4, p. 241-8, 2004.

PEREZ-GUTIERREZ, R. M.; Muniz-Ramirez, A.; Gomez, Y. G.; Ramirez, E. B. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antiglycation effects of *Byrsonima crassifolia* fruit and seed in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 65, n. 4, p. 350-7, 2010.

PERRON, N. R.; Brumaghim, J. L. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 53, n. 2, p. 75-100, 2009.

PERRY, A.; Rasmussen, H.; Johnson, E. J. Xanthophyll (lutein, zeaxanthin) content in fruits, vegetables and corn and egg products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, p. 9-15, 2009.

PETT, M. A.; Lackey, N. R.; Sullivan, J. J. Assessing the characteristics of matrices. In: **Making Sense of Factor Analysis**. Thousand Oaks: Sage Publications, p. 60, 2003.

PINHEIRO, A. R. D. O.; Freitas, S. F. T. D.; Corso, A. C. T. Uma abordagem epidemiológica da obesidade; An epidemiological approach to obesity. **Revista Nutrição**, v. 17, n. 4, p. 523-533, 2004.

RICE-EVANS, C.; Miller, N. J. Antioxidants—the case for fruit and vegetables in the diet. **British Food Journal**, v. 97, n. 9, p. 35-40, 1995.

RÍOS-MORGAN, A.; Corral-Aguayo, R. D.; Ramírez-Padilla, G. K.; Camacho-Hernández, I. L.; Delgado-Vargas, F. Fatty acid composition and physicochemical analysis of nance (*Byrsonima crassifolia*). In: **IFT Annual Meeting**. Las Vegas, NV 2004.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A guide to carotenoid analysis in food. Washington: Internation Life Sciences Institute, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoids and Food Preparation: The Retention of Provitamin A Carotenoids in Prepared, Processed and Stored Foods. John Snow Incorporated/OMNI Project, 1997.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; Kimura, M.; Godoy, H. T.; Amaya-Farfan, J. Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 6, p. 445-463, 2008.

ROESLER, R.; Malta, L. G.; Carrasco, L. C.; Holanda, R. B.; Sousa, C. A. S.; Pastore, G.M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.

RUFINO, M. Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais. [Tese de doutorado]. Mossoró: Universidade Federal Rural do Semi-árido, 2008.

RUFINO, M. D. S. M.; Alves, R. E.; de Brito, E. S.; Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F.; Mancini-Filho, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

RUFINO, M. S. M.; Alves, R. E.; Brito, E.S.; Silveira, M. R. S.; Moura, C. F. H. Quality for fresh consumption and processing of some non-traditional tropical fruits from Brazil. **Fruits**. 64: 361-370 p. 2009.

RUFINO, M.S.M. ; Fernandes, F. A. N.; Alves, R. E.; de Brito, E. S. Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system. **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 693-695, 2009.

SALAZAR, J.; Velásquez, R.; Quesada, S.; Piccinelli, A. L.; Rastrelli, L. Chemical composition and antinutritional factors of *Lycianthes synanthera* leaves (chomte). **Food Chemistry**, v. 97, n. 2, p. 343-348, 2006.

SALVADOR, M. D.; Aranda, F; Gómez-Alonso, S.; Fregapane, G. Influence of extraction system, production year and area on Cornicabra virgin olive oil: a study of five crop seasons. **Food Chemistry**, v. 80, n. 3, p. 359-366, 2003.

SAMPAIO, G. R.; Bastos, D. H. M.; Soares, R. A. M.; Queiroz, Y. S.; Torres, E. A. F. S. Fatty acids and cholesterol oxidation in salted and dried shrimp. **Food Chemistry**, v. 95, n. 2, p. 344-351, 2006.

SANCHEZ-MACHADO, D. I.; Lopez-Cervantes, J.; Vazquez, N. J. High-performance liquid chromatography method to measure alpha- and gamma-tocopherol in leaves, flowers

and fresh beans from *Moringa oleifera*. **Journal Chromatography A**, v. 1105, n. 1-2, p. 111-4, 2006.

SANTOS, A. P.; Rogero, M. M.; Bastos, D. H. M. Edible plants, their secondary metabolites and antiobesogenic potential. **Recent patents on food, nutrition & agriculture**, v. 2, n. 3, p. 195, 2010.

SHIH, M. C.; Chang, C. M.; Kang, S. M.; Tsai, M. L. Effect of Different Parts (Leaf, Stem and Stalk) and Seasons (Summer and Winter) on the Chemical Compositions and Antioxidant Activity of *Moringa oleifera*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 9, p. 6077-88, 2011.

SIDDHURAJU, P.; Becker, K. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 8, p. 2144-2155, 2003.

SILVA, E. M.; Souza, L. N. S.; Rogez, H.; Rees, J. F.; Larondelle, Y. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. **Food Chemistry**, v. 101, n. 3, p. 1012-1018, 2007.

SIMOPOULOS, A.P., LEAF, A., SALEM Jr., N. Essentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. **Annals of Nutrition and Metabolism**, Basel, v.43, p.127-130, 1999.

SINGH, B. N.; Singh, B. R.; Singh, R. L.; Prakash, D.; Dhakarey, R.; Upadhyay, G.; Singh, H. B. Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. **Food Chemistry Toxicology**, v. 47, n. 6, p. 1109-16, 2009.

SINGLETON, V.; Rossi, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SORENSEN, L. B.; Cueto, H. T.; Andersen, M. T.; Bitz, C.; Holst, J. J.; Rehfeld, J. F.; Astrup, A. The effect of salatrim, a low-calorie modified triacylglycerol, on appetite and energy intake. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 87, n. 5, p. 1163-9, 2008.

SOUSA, M. S. B. Mecanismos de ação antioxidante de extratos de murici. [Dissertação de mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública. Universidade de São Paulo; 2013.

SREERAMULU, N.; Ndossi, G.; Mtoto Mwema, K. Effect of cooking on the nutritive value of common food plants of Tanzania: Part 1—Vitamin C in some of the wild green leafy vegetables. **Food Chemistry**, v. 10, n. 3, p. 205-210, 1983.

STADLMAYR, B.; Nilsson, E.; Mouille, B.; Medhammar, E.; Burlingame, B.; Charrondiere, U. R. Nutrition indicator for biodiversity on food composition-A report on

the progress of data availability. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 4-5, p. 692-698, 2011.

STRINGHAM, J. M.; Bovier, E. R.; Wong, J. C.; Hammond, B. R. The influence of dietary lutein and zeaxanthin on visual performance. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 1, p. 24-9, 2010.

SULAIMAN, S. F.; Yusoff, N. A.M.; Eldeen, I.M.; Seow, E. M.; Sajak, A.A.B.; Supriatno; Ooi, K.L. Correlation between total phenolic and mineral contents with antioxidant activity of eight Malaysian bananas (*Musa* sp.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 1, p. 1-10, 2011.

SULTANA, B.; Anwar, F.; Ashraf, M. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. **Molecules**, v. 14, n. 6, p. 2167-80, 2009.

TAKEITI, C. Y.; Antonio, G. C.; Motta, E. M. P.; Collares-Queiroz, F. P.; Park, K. J. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, n. S1, p. 148-160, 2009.

TIBERTI, L. A.; Yariwake, J. H.; Ndjoko, K.; Hostettmann, K. Identification of flavonols in leaves of *Maytenus ilicifolia* and *M. aquifolium* (*Celastraceae*) by LC/UV/MS analysis. **Journal of Chromatography B**, v. 846, n. 1, p. 378-384, 2007.

VALLILO, M. I.; Pastore, J. A.; de Eston, M. R.; Garbelotti, M. L.; de Oliveira, E. Caracterização química e valor nutricional dos frutos de *Byrsonima myricifolia* Griseb (*Malpichiaceae*) –Alimento de aves silvestres. **Revista do Instituto Florestal**, v. 19, 2007.

VERMA, A. R.; Vjayakumar, M.; Mathela, C. S.; Rao, C. V. In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 9, p. 2196-2201, 2009.

WAGNER, H.; Bladt, S. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. Springer Verlag, 1996.

WENZEL, A. J. et al. Macular pigment optical density and photophobia light threshold. **Vision Research**, v. 46, n. 28, p. 4615-22, 2006.

WESTERTEP-PLANTENGA, M.; Diepvens, K.; Joosen, A.M.C.P.; Bérubé-Parent, S.; Tremblay, A. Metabolic effects of spices, teas, and caffeine. **Physiology & behavior**, v. 89, n. 1, p. 85-91, 2006.

WOLFE, K. L.; Kang, X.; He, X.; Dong, M.; Zhang, Q.; Liu, R. H. Cellular antioxidant activity of common fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 18, p. 8418-26, Sep 24 2008.

WU, C.H.; Yen, G.C. Inhibitory effect of naturally occurring flavonoids on the formation of advanced glycation endproducts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 8, p. 3167-3173, 2005.

XI, M.; Hai, C.; Tang, H.; Chen, M.; Fang, H.; Liang, X. Antioxidant and antiglycation properties of total saponins extracted from traditional Chinese medicine used to treat diabetes mellitus. **Phytotherapy Research**, v. 22, n. 2, p. 228-237, 2008.

YUN, J. W. Possible anti-obesity therapeutics from nature--a review. **Phytochemistry**, v. 71, n. 14-15, p. 1625-41, 2010.

ANEXOS

Anexo 1 - Municípios de coleta do murici¹

¹ Imagem cedida, gentilmente, pela Federação das Cooperativas da Agricultura Familiar do Sul do Pará – FECAT (Março de 2011).

Anexo 2 -Laudo de identificação – *Byrsonima crassifolia*

SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO DE BOTÂNICA

Caixa Postal 3005
01061-970 São Paulo, SP - Brasil

LAUDO DE IDENTIFICAÇÃO

A amostra de planta que nos foi submetida a identificação, por Erica Sayuri Siguemoto, corresponde a:

Família: Malpighiaceae

Espécie: *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth

Dra. Maria Cândida Henrique Mamede
Pesquisador Científico

São Paulo, 28 de agosto de 2012

Obs. Este laudo de identificação é **exclusivo** de Erica Sayuri Siguemoto, **não** podendo ser repassado para nenhum outro fim, pois trata do resultado da análise de uma única amostra. Fica também vedada a menção ou utilização do nome ou sigla do Instituto de Botânica, em qualquer tipo de publicidade comercial, seja qual for o veículo publicitário, principalmente se o nome do Instituto for utilizado para qualificar produção industrial sobre a qual o mesmo não exerça qualquer meio de controle.

Anexo 3 - Laudo de identificação – *Moringa oleifera*

SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO DE BOTÂNICA

Caixa Postal 68041
04045-972 São Paulo, SP - Brasil

LAUDO DE IDENTIFICAÇÃO

A planta que nos foi submetida à identificação por Erica Sayuri Siguemoto, trata-se de:

***Moringa oleifera* Lam.**

(família: Moringaceae)

Dra. Rosângela Simão Bianchini
Pesquisador Científico

São Paulo, 28 de agosto de 2012.

Obs. Este laudo de identificação é exclusivo Erica Sayuri Siguemoto, não podendo ser repassado para nenhuma outra empresa, pois trata do resultado da análise de uma única amostra. Fica também vedada a menção ou utilização do nome ou sigla do Instituto de Botânica, em qualquer tipo de publicidade comercial, seja qual for o veículo publicitário, principalmente se o nome do Instituto for utilizado para qualificar produção industrial sobre a qual o mesmo não exerça qualquer meio de controle.

Anexo 4 – Primeira página do currículo Lattes do aluno

Érica Sayuri Siguemoto

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/2492726719566149>

Última atualização do currículo em 05/07/2013

Mestranda em Nutrição em Saúde Pública pela Universidade de São Paulo. Coursou Engenharia de Alimentos pela Universidade de São Paulo (2010). Estagiou no Laboratório de Biotecnologia Ambiental, do Departamento de Engenharia de Alimentos/ FZEA/USP, atuando na área de tratamento anaeróbio de efluentes agroindustriais (2008). **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome

Érica Sayuri Siguemoto

Nome em citações bibliográficas

SIGUEMOTO, É. S.

Endereço

Endereço Profissional

Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição.

Av. Dr. Arnaldo, 715

Cerqueira César

01246-904 - Sao Paulo, SP - Brasil

Formação acadêmica/titulação

2011

Mestrado em andamento em Nutrição em Saúde Pública.

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Título: Composição nutricional e propriedades funcionais de moringa (*Moringa oleifera*) e murici (*Byrsonima verbascifolia*), Orientador: Deborah Helena Markowicz Bastos.

Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

Grande área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição / Subárea: BROMATOLOGIA.

Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição.

2006 - 2010

Graduação em Engenharia de Alimentos.

Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, FZEA, Brasil.

Título: Influência da pré-hidrólise enzimática no desempenho de um ASBBR tratando efluentes de laticínios.

Orientador: Giovana Tommaso.

Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Anexo 5 – Primeira página do currículo Lattes do orientador

Deborah Helena Markowicz Bastos

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 2

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/2399624390092442>

Última atualização do currículo em 17/06/2013

Graduada em Engenharia Agrônômica pela Universidade de São Paulo (1982), mestrado em Ciências dos Alimentos pela Universidade de São Paulo (1989) e doutorado em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas (1996). Atualmente é Professor Associado da Universidade de São Paulo (obteve o título de Livre-Docente em dezembro de 2007). É docente colaborador do Mestrado Erasmus Mundus- FIPDes. É editor associado do periódico Molecules desde 2007. É editor associado da Nutrire desde 2013. Atua como revisor de vários periódicos da área e como Assessor Científico de várias Instituições de fomento à pesquisa (FAPESP, FAPEMAT, CNPq). Tem experiência na área de Nutrição, com ênfase em Composição de Alimentos, atuando principalmente nos seguintes temas: análise e composição de alimentos, alimentos funcionais e compostos bioativos. Tem desenvolvido ações junto à FAO para a avaliação dos indicadores da biodiversidade da dieta. É assessora do Ministério do Meio Ambiente para o desenvolvimento do projeto internacional "Conservação e Uso Sustentável da Biodiversidade para a Alimentação, Nutrição e Bem Estar Humano". Participa da Diretoria da SBCTA (Diretor de Divulgação)-Gestão 2013-2015. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome

Deborah Helena Markowicz Bastos

Nome em citações bibliográficas

Bastos, D.H.M.; Markowicz Bastos,D.H.; Bastos, D.M.;Bastos, Deborah H. Markowicz; DEBORAH HELENA MARKOWICZ BASTOS

Endereço

Endereço Profissional

Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição.

Av. Dr. Arnaldo, 715

Cerqueira César

01246-904 - Sao Paulo, SP - Brasil

Telefone: (11) 30617855

Ramal: 244

Fax: (11) 30626748

Formação acadêmica/titulação

2007

Livre-docência.

Faculdade de Saúde Pública -USP.

Título: Erva-mate (*Ilex paraguariensis*): compostos bioativos e funcionalidade, Ano de obtenção: 2007.

2008 - 2008

Pós-Doutorado.

Touro University.

Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.

Grande área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos / Subárea: Ciência de Alimentos.

Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição / Subárea: Alimentos Funcionais / Especialidade: Avaliação de atividade biológica de compostos bioativos de alimentos.

1993 - 1996

Doutorado em Engenharia de Alimentos (Conceito CAPES 7).

Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Brasil.

Título: Compostos voláteis de méis de eucalipto e laranja, Ano de obtenção: 1996.

Orientador: Maria Regina Bueno Franco.