

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Análise química e bioatividades *in vitro* de frutos de espécies da

Família Arecaceae

Rafaela Marin

Orientador: Profa. Dra. Amélia T. Henriques

Porto Alegre, 2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Análise química e bioatividades *in vitro* de frutos de espécies da
Família Arecaceae

Dissertação apresentada por **Rafaela Marin**, para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, pela Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Profa. Dra. Amélia T. Henriques

Porto Alegre, 2008

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 04.08.2008, pela Comissão Examinadora constituída por:

Profa. Dr. Célia Machado G. Chaves
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Jarbas Alves Montanha
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dr. Mario Luis Conte da Frota Junior
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

M337a	Marin, Rafaela Análise química e bioatividades in vitro de frutos de espécies da família Arecaceae / Rafaela Marin – Porto Alegre: UFRGS, 2008. – xx, 123 p.: il ., gráf., tab. Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. 1. Butia capitata. 2. Butia lalemantii. 3. Syagrus romanzoffiana. 4. Arecaceae. 5. Nutrientes minerais. 6. Óleos voláteis. 7. Compostos fenólicos. 8. Óleos fixos. 9. Bioatividades. 10. Flavonóides. I. Henriques, Amélia Teresinha. II. Título. CDU: 547.9
-------	---

Bibliotecária responsável:
Margarida Maria Cordeiro F. Ferreira – CRB10/480

Este trabalho foi desenvolvido sob orientação da Profa. Dra. Amélia T. Henriques nos laboratórios da Faculdade de Farmácia. Para os experimentos relativos à avaliação da atividade antiinflamatória *in vitro*, alguns experimentos foram executados nos laboratórios da Feevale sob a coordenação da Profa. Dra. Edna Suyenaga.

Para a realização do Curso, contamos com bolsa de estudos concedida pela CAPES.

"Tudo tem seu tempo e até certas manifestações mais vigorosas e originais entram em voga ou saem de moda. Mas a sabedoria tem uma vantagem: é eterna."

Baltasar Gracián

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Amélia Henriques pela orientação, ensinamentos e estímulo.

Ao Prof. Dr. Pedro Fröhlich pela gentileza de contribuir neste trabalho realizando as análises dos elementos mineirais.

À Prof. Dra. Elfrides Schapoval por ceder as instalações de seu laboratório para a realização dos ensaios de quimiotaxia.

Aos Professores Doutores José Ângelo Zuanazzi, Miriam Apel e Renata Limberger por todo apoio e pelos ensinamentos.

Ao Dr. Marcos Sobral por toda colaboração, atenção e gentileza.

À Embrapa Clima-temperado pela colaboração e pelas coletas de material vegetal.

Aos meus pais, Luiz e Dianete por sempre terem dedicado tanto de si para dar o melhor possível a mim e aos meus irmãos, por todo amor e carinho e compreensão.

Aos meus irmãos, Rodrigo e Rudinei, pelo companheirismo, apoio, carinho e conselhos.

Às minhas cunhadas, Cláudia e Fabiane, pelo apoio e incentivo.

Ao meu sobrinho, Enzo Miguel, por ser um verdadeiro tesouro em minha vida.

Aos colegas do laboratório de Farmacognosia Letícia Pagliosa, Grazielle Ramos, Roger e Maria Dresch, Simone Rossato, Ana Aboy, Juliana Andrade, Renata da Silva, Cláudia de Moraes, Laura Bauer, Bruna Neves, Melissa Schwanz, Jean Andrade e Leandro Francescato.

Aos grandes amigos Guilherme Pizzoli, Vanessa Quadros e Luiz Felipe Tronquini, por todo carinho, incentivo e pelos momentos ímpares que já compartilhamos.

À Marina Scopel por estar sempre pronta a ajudar, pela sua sinceridade e parceria constantes.

À Carolina Passos, Eduardo Konrath, Raquel Giordani e Tiago de Souza pela amizade, pelas discussões científicas com as quais muito aprendi, pela alegria, bom humor e pelo companheirismo que sempre tornavam nossas horas de trabalho muito mais prazerosas.

À Fabiane Moreira pelo carinho, pela força nos momentos difíceis e pela parceria nos momentos de descontração.

Ao Adriano T. Rossetto, meu namorado, por toda compreensão, estímulo, ajuda e dedicação.

SUMÁRIO

Lista de figuras	xiii
Lista de tabelas	xv
Resumo	xvii
Abstract	xix
Introdução geral.....	1
Objetivos gerais	7

CAPÍTULO I – Estudo químico das espécies *Butia capitata*, *Butia lalemantii* e *Syagrus romanzoffiana*

I.1. Introdução.....	13
I.2. Aspectos botânicos	14
I.2.1. Família Arecaceae.....	14
I.2.1.1. Gênero <i>Butia</i>	14
I.2.1.1.1. <i>Butia eriospatha</i> (Martius ex Drude) Beccari	15
I.2.1.1.2. <i>Butia paraguayensis</i> (Barb. Rodr.) Bailey.....	15
I.2.1.1.3. <i>Butia yatay</i> (Mart.) Beccari	16
I.2.1.1.4. <i>Butia capitata</i> (Mart.) Beccari	16
I.2.1.1.5. <i>Butia lalemantii</i> Deble & Marchiori	17
I.2.1.1.6. Outras espécies.....	18
I.2.1.2. Gênero <i>Syagrus</i>	18
I.2.1.2. 1. <i>Syagrus romanzoffiana</i>	18

Parte 1 - Determinação de elementos minerais nos mesocarpos das espécies *Butia capitata*, *Butia lalemantii* e *Syagrus romanzoffiana*

I.3. Introdução.....	23
I.3.1. Parte Experimental	27
I.3.1.1. Material vegetal	27
I.3.1.1.1. Processamento da matéria-prima vegetal	27
I.3.1.1.2. Liofilização e armazenamento das amostras.....	28
I.3.1.1.3. Preparação das curvas padrão.....	28
I.3.1.1.4. Preparação das amostras.....	28
I.3.2. Equipamentos e Materiais	29
I.3.3. Resultados e Discussão	29

Parte 2 - Extração e análise quali e quantitativa de óleos voláteis

I.4. Introdução.....	35
I.4.1. Parte Experimental	36
I.4.1.1. Material vegetal	36
I.4.1.2. Obtenção do óleo volátil	36
I.4.1.3. Análise química	27
I.4.2. Resultados e Discussão	38

Parte 3 - Determinação do teor compostos fenólicos totais e avaliação do perfil cromatográfico das espécies

I.5. Introdução.....	43
I.5.1. Parte Experimental	45
I.5.1.1. Equipamentos e materiais	45
I.5.1.2. Determinação do teor de umidade dos liofilizados	45
I.5.1.3. Preparo da solução extrativa para a análise de polifenóis totais	46
I.5.1.3. Determinação dos polifenóis totais	46
I.5.1.3. Preparo dos extratos para avaliação do perfil cromatográfico	47
I.5.1.6. Análise cromatográfica	47
I.5.2. Resultados e Discussão	48
I.5.2.1. Quantificação de polifenóis totais	48
I.5.2.2. Avaliação do perfil cromatográfico dos extratos metanólicos	50

Parte 4 - Obtenção, transesterificação e análise de óleos fixos

I.6. Introdução.....	67
I.6.1. Parte Experimental	71
I.6.1.1. Obtenção do óleo fixo.....	71
I.6.1.2. Reações de transesterificação	71
I.6.2.3. Análise química e Identificação dos ácidos graxos	72
I.6.3. Resultados e Discussão	72

CAPÍTULO II – Aspectos farmacológicos: Ação antioxidante e Influência sobre a migração de leucócitos *in vitro*

II.1. Introdução.....	81
-----------------------	----

Parte 1 - Atividade antioxidante

II.2. Introdução.....	85
II.2.1. Parte experimental.....	88
II.2.1.1. Equipamentos e materiais	88
II.2.1.2. Determinação da atividade antioxidante.....	88
II.2.1.1. Resultado e discussão.....	89
Parte 2 - Atividade antiinflamatória in vitro	
II.3. Introdução.....	93
II.3.1. Parte experimental.....	94
II.3.1.1. Equipamentos e materiais	94
II.3.1.2. Determinação da atividade antiinflamatória in vitro	94
II.3.1.2. 1. Obtenção do fator quimiotáxico	95
II.3.1.2. 2. Coleta e preparo da suspensão de neutrófilos	95
II.3.1.2. 3. Determinação da atividade migratória dos leucócitos.....	96
II.3.2. Resultados e discussão.....	96
DISCUSSÃO GERAL.....	101
CONCLUSÃO	107
REFERÊNCIAS	111

LISTA DE FIGURAS

Figura I.1.1. Comparação dos teores de minerais presentes nas <i>Butia capitata</i> , <i>Butia lallemantii</i> e <i>Syagrus romanzoffiana</i>	30
Figura I.1.2. Comparação dos teores de minerais presentes nas <i>Butia capitata</i> encontrados nas coletas dos anos de 2005, 2006 e 2007	30
Figura I.2.1. Representação das estruturas da taxifona deoxiesose, isovitexina, orientina e homorientina	44
Figura I.3.1. Determinação do volume de Folin-Ciocalteu para a realização da quantificação de polifenóis	48
Figura I.3.2. Teor de polifenóis totais determinado nas espécies <i>Butia capitata</i> , <i>Butia lallemantii</i> e <i>Syagrus romanzoffiana</i>	49
Figura I.3.3. Variação do teor de polifenóis totais nas diferentes coletas de <i>B. capitata</i>	49
Figura I.3.4. Sobreposição de cromatogramas de extratos de <i>B. capitata</i> (coleta 2005, 2006 e 2007) em 320 nm.....	51
Figura I.3.5. Sobreposição de cromatogramas de extratos de <i>B. capitata</i> (coleta 2005, 2006 e 2007) em 360 nm.....	51
Figura I.3.6. Espectros de ultravioleta dos padrões de referência ácido clorogênico, ácido caféico, canferol, catequina, luteolina, quercetina, quercetrina e rutina.....	52
Figura I.3.7. Cromatograma de <i>B. capitata</i> , com região de 5 a 45 minutos ampliada, em 320 nm – derivados de ácidos fenólicos	53
Figura I.3.8. Cromatograma de <i>B. capitata</i> , com região de 35 a 65 minutos ampliada, em 360 nm – derivados de flavonóides.....	54
Figura I.3.9. Cromatograma obtido com amostra de <i>B. lallemantii</i> , no comprimento de onda de 320 nm	56
Figura I.3.10. Cromatograma de <i>B. lallemantii</i> , com região de 5 a 45 minutos ampliada, em 320 nm – derivados de ácidos fenólicos	56
Figura I.3.11. Cromatograma de <i>B. lallemantii</i> , com região de 35 a 65 minutos ampliada, em 360 nm – derivados de flavonóides	57
Figura I.3.12. Cromatograma de <i>S. romanzoffiana</i> , em 320 nm.....	58
Figura I.3.13. Cromatograma de <i>S. romanzoffiana</i> , com região de 5 a 50 minutos ampliada, em 320 nm – derivados dos ácidos fenólicos	59

Figura I.3.14. Cromatograma de <i>S. romanzoffiana</i> , com região de 35 a 70 minutos ampliada, em 360 nm – derivados dos flavonóides	59
Figura I.3.15. Comparação dos cromatogramas das espécies <i>B. capitata</i> , <i>B. lalemantii</i> e <i>S. Romanzoffiana</i> , em 320	61
Figura I.3.16. Comparação dos cromatogramas das espécies <i>B. capitata</i> , <i>B. lalemantii</i> e <i>S. romanzoffiana</i> , em 360 nm	62
Figura I.4.1. Esquema da reação de transesterificação de óleo vegetal para a obtenção de ésteres de ácidos graxos	71
Figura II.1.1. Radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazila e 1,1-difenil-2-picrilhidrazina	88
Figura II.1.2. Porcentagem da atividade antioxidante do extrato metanólico das espécies <i>B. capitata</i> , <i>B. romanzoffiana</i> e <i>B. lalemantii</i>	89
Figura II.2.1.: Esquema de montagem da câmara de Boyden	95

LISTA DE TABELAS

Tabela I.1.1. Concentrações médias de micronutrientes nas espécies analisadas	30
Tabela I.2.1. Quantidade de material vegetal utilizado de cada espécie e a quantidade de óleo obtido	38
Tabela I.2.2. Composição percentual relativa dos constituintes voláteis de <i>B. capitata</i>	38
Tabela I.3.1. Sistema em gradiente linear utilizado para desenvolvimento do método de CLAE	48
Tabela I.3.2. Teor de polifenóis totais nos extratos de <i>Butia lallemantii</i> , <i>Syagrus romanzoffina</i> , <i>Butia capitata</i> coletados em 2007	50
Tabela I.4.1. Ácidos graxos comuns em palmeiras	74
Tabela I.4.2. Composição dos metilésteres de ácidos graxos obtidos do óleo das amêndoas de <i>S. romanzoffiana</i>	75
Tabela I.4.3. Composição de metilésteres de ácidos graxos do óleo extraído da polpa dos frutos de <i>S. romanzoffiana</i>	75
Tabela I.4.4. Composição de metilésteres de ácidos graxos do óleo extraído da polpa dos frutos de <i>B. lallemantii</i>	76
Tabela I.4.5.: Composição de Metilésteres de ácidos graxos constituintes dos óleos extraídos das polpas dos frutos de <i>B. capitata</i>	77
Tabela II.2.1.: Efeito antiquimiotáxico do extrato metanólico de <i>S. romanzoffiana</i>	97
Tabela II.2.2.: Efeito antiquimiotáxico do extrato metanólico de <i>Butia capitata</i>	97
Tabela II.2.3.: Efeito antiquimiotáxico do extrato metanólico de <i>Butia lallemantii</i>	97
Tabela II.2.4.: Efeito antiquimiotáxico do óleo fixo das amêndoas de <i>Syagrus romanzoffiana</i>	98
Tabela II.2.5.: Efeito antiquimiotáxico do óleo fixo das amêndoas de <i>Butia capitata</i>	99
Tabela II.2.6.: Efeito antiquimiotáxico do óleo fixo das amêndoas dos frutos de <i>Butia lallemantii</i>	99

Resumo

A família Arecaceae é caracterizada pelo grande número de espécies com elevado valor nutritivo e comercial agregados. Nesta família se encontram as espécies *Butia capitata*, *Butia lallemantii* e *Syagrus romanzoffiana*, nativas do Brasil e produtoras de frutos utilizados na alimentação. Devido à escassez de dados na literatura, este trabalho buscou informações fitoquímicas e dados farmacológicos para os mesocarpos e amêndoas dessas três espécies, bem como as possíveis variações na composição química entre coletas em anos diferentes (2005, 2006 e 2007) da espécie *B. capitata*. A partir dos mesocarpos dos frutos das cinco amostras foram realizadas análises de: a) quantificação dos micronutrientes por espectroscopia por absorção atômica. b) quantificação dos polifenóis totais. c) obtenção, transesterificação e análise dos metilésteres presentes no óleo fixo. d) análise de óleos voláteis por cromatografia em fase gasosa (CG). Os resultados apontaram o cálcio como microelemento mais abundante em todas as amostras. Quanto ao teor de fenóis, o maior teor (2,1g%) foi evidenciado para *B. capitata*. Quanto aos óleos voláteis os resultados apontaram principalmente biciclogermacreno (20,1%) como componente majoritário. Em relação aos óleos fixos, Ác. Palmítico foi majoritário em *B. capitata* e *S. romanzoffiana* e Ác. Esteárico em *B. lallemantii*. Das amêndoas de *S. romanzoffiana* foi extraído óleo fixo, submetido a diferentes técnicas de transesterificação (catálise ácida, alcalina e com BF₃) e analisado por CG. Foi observada a predominância de ácidos graxos saturados de cadeia média, sendo os ácidos láurico (27-48%) e oléico (11,24-26%) os majoritários. Os extratos metanólicos das cinco amostras apresentaram atividades antioxidante nas concentrações 10, 20, 40, 80, 160, 320, 450, 550, 650, 750, 850, 1000 µg/ml). Os resultados da determinação de atividade antiinflamatória *in vitro* demonstraram que os extratos de *B. capitata* e *B. lallemantii* foram ativos nas concentrações de 40, 80, 60 µg/ml, enquanto o óleo dessas espécies se mostrou ativo nas concentrações de 5, 10, 20, 40, 80, 160 µg/ml. O extrato da espécie *S. romanzoffiana* (80 e 160 µg/ml) bem como o óleo (10, 20, 40, 80, 160 µg/ml) se mostraram menos ativos. Os resultados indicaram a presença de metabólitos bioativos. Estes compostos agregam valor nutricional e nutracêuticos aos frutos dessas palmeiras.

UNITERMOS: *Butia capitata*, *Butia lallemantii*, *Syagrus romanzoffiana*, Arecaceae, flavonóides, compostos fenólicos, ácidos graxos, nutrientes minerais, óleos voláteis, atividade antioxidante, atividade antiinflamatória.

Abstract

Chemical analysis and in vitro bioactivities of fruits from the Arecaceae family

The family Arecaceae is characterized by a large number of species of high nutritional and commercial aggregated. *Butia capitata*, *Butia lalemantii* and *Syagrus romanzoffiana* are native species that belong to this family, and they are all, producers of fruits used as food. Due to the scarcity of data in literature, this work aimed to look for phytochemistry information and pharmacological activities about the mesocarps and kernel of the three species, as well as possible changes in the chemical composition between collections in different years (2005, 2006 and 2007) of *B. capitata* specie. The analyses carried out with the mesocarps' fruits of the five samples assayed consisted of: a) micronutrientes mineral quantification by Atomic absorption spectroscopy; b) quantification of total polyphenols through Folin-Ciocalteu method; c) obtention, transesterification and analysis of the methylesters present in the oil composition; d) essential oil analysis employing gas chromatography (GC). The results showed that calcium is the most abundant microelement in all samples. As to the polyphenols analysis, the highest content (2.1g%) was evidenced for *B. capitata*. The essential oils results indicated the sesquiterpene Bicyclogermacrene D (20.1%) as the major component. About the oil composition of the mesocarps, palmitic acid was the major component in the *B. capitata* and *S. romanzoffiana* species and the stearic acid in the *B. lalemantii* specie. The *S. romanzoffiana* fixed oil kernels was extracted, submitted to different techniques of transesterification (using BF_3 ; acid and alkaline catalysis) and analyzed by GC. The predominance of fatty acid medium chain saturated was observed and the lauric acid (27-48%) and oleic acid (11,24-26%) were characterized as predominant. The metanolic extracts from the five samples showed antioxidant activity in the concentrations of 10, 20, 40, 80, 160, 320, 450, 550, 650, 750, 850, 1000 $\mu\text{g/ml}$ in DPPH assay. The metanolic extracts and fixed oil from all species showed *in vitro* antichemotactic effect. The oils from *B. capitata* and *B. lalemantii* showed activity in the concentrations of 5, 10, 20, 40, 80, 160 $\mu\text{g/ml}$. The extract from this species showed activity in the concentrations of 40, 80 and 160 $\mu\text{g/ml}$; both *S. romanzoffiana* extract (80 and 160 $\mu\text{g/ml}$) and oil (10, 20, 40, 80, 160 $\mu\text{g/ml}$) showed lower activity. The results showed the presence of bioactives metabolites. These compounds aggregate nutritional and nutraceutical value for the fruits of these palms.

Keywords: *Butia capitata*, *Butia lalemantii*, *Syagrus romanzoffiana*, Arecaceae, phenolics compounds, fatty acids, micronutrients, essential oils, antioxidant activity, antinfammatory activity.

INTRODUÇÃO GERAL

As espécies da família Arecaceae, conhecidas como palmeiras, destacam-se do ponto de vista natural, econômico e ecológico. Algumas espécies são usadas na arborização de ruas e avenidas em todo o Brasil, na ornamentação de praças, jardins e ambientes internos. Apresentam grande importância econômica e algumas espécies são muito exploradas comercialmente pela produção de óleo, amido, palmito, cera e fibras. Também são utilizadas como fonte de alimentos, bebidas e como matéria-prima para construção de barcos e casas (LORENZI *et al.* 2004).

As palmeiras são de ocorrência predominantemente tropical e subtropical (HENDERSON *et al.*, 1995), têm a capacidade de se estabelecer em diversos tipos de habitat, como matas de terra firme, matas periodicamente inundadas, cerrado, e em ambientes degradados (LORENZI *et al.*, 2004).

A grande diversidade e abundância dessas monocotiledôneas nas florestas é indicativo de que são elementos de grande importância na estrutura e funcionamento dos ecossistemas. Destacam-se pelo período e tempo de frutificação: algumas espécies produzem frutos durante todo o ano e outras frutificam em épocas de escassez de produção de outras espécies e famílias, garantido, desta forma, alimento à fauna por todo o ano (DURÁN e FRANCO, 1992). Desta forma, várias espécies da fauna silvestre alimentam-se de suas folhas, polpa dos frutos (canídeos, primatas) e sementes (roedores de pequeno e médio porte, psitacídeos, etc.) (OLMOS *et al.*, 1997; REIS *et al.*, 2000).

No artesanato, produtos que utilizam folhas e fibras das espécies dos gêneros *Orbygnia*, *Syagrus*, *Acrocomia* e *Mauritia*, são freqüentemente comercializados em feiras e mercados de muitas cidades do Brasil (PEREIRA, 1996). Os índios utilizam as palhas em artesanatos e construção de suas casas, a polpa e sementes como alimento e ingredientes para pinturas.

Na alimentação humana, o número de produtos básicos à subsistência é maior na Família Arecaceae que em qualquer outra família de plantas (BATES, 1988). A importância desta Família é evidenciada por dados divulgados pelo IBGE referentes ao ano de 2006. Apenas o extrativismo dos frutos da palmeira açaí (*Euterpe oleracea* Martius) somou 101.341 toneladas, gerando 103.215 milhões de reais. Esses frutos são utilizados na fabricação do “vinho de açaí”, cujo consumo na

forma de bebidas, doces, geléias e sorvetes, antes restrito à Região Norte, se expandiu por todo o País (IBGE, 2006).

No País, a quantidade de palmito extraída de espécimes nativos, em 2006, somou 6.524 toneladas com rendimento de 9.940 milhões de reais. Várias espécies de palmeiras nativas do País fornecem palmito, mas as mais exploradas são a *Euterpe oleracea*, espécie também produtora dos frutos de açaí; a *Euterpe edulis*, denominada juçara, de ocorrência na Mata Atlântica; a *Bactris gasipaes*, pupunha; *Syagrus oleracea*, guariroba; a *Euterpe espirosantensis* e a *Euterpe precatoria* (IBGE, 2006).

Outra espécie relevante é o babaçu (*Attalea speciosa* Mart. Ex. Spreng), que tem o Maranhão como o estado detentor de 94% da produção nacional. Desta palma foram coletadas 117.150 toneladas de amêndoas cujo óleo destas extraído gerou 102.214 milhões de reais aos cofres brasileiros (IBGE, 2006).

Os óleos com elevados teores de ácido láurico (também chamados óleos láuricos) possuem grande valor e demanda comercial mundial. Neste cenário, os óleos láuricos que são obtidos de frutos, amêndoas e sementes de algumas espécies de palmeiras, movimentam bilhões de reais, sendo utilizados em diversos segmentos das indústrias como em alimentos, cosméticos, indústria farmacêutica e, mais recentemente, nas indústrias oleoquímicas para produção de biodiesel. Como exemplos de fontes produtoras de óleos láuricos, temos as sementes do babaçu (*Orrbignya speciosa* (Mart.) Barb. Rodr.), murumuru (*Astrocaryum murumuru*) (MAMBRIM e BARRERA-ARELLANO, 1997) cujo óleo possui grande utilização na indústria de cosméticos e os frutos do coqueiro (*Cocos nucifera*) (AZEES, 2007).

O Brasil possui enorme diversidade de palmeiras frutíferas extensamente distribuídas por todo território e sabe-se que uma das características desta Família é produção de óleos. No entanto, exceto as espécies com elevado valor comercial, grande número das demais espécies ainda têm seus potenciais alimentares e de obtenção de óleo dos frutos ainda pouco pesquisados (BORA *et al.*, 2003; LORENZI *et al.* 2004).

As frutas, além da importância comercial, são alimentos que possuem propriedades nutritivas indispensáveis ao organismo. Como parte de uma dieta

equilibrada, têm papel vital na nutrição humana fornecendo compostos que atuam como fatores de regulação e de crescimento, sendo necessários e essenciais para manter a saúde normal (PRASANNA *et al.*, 2007).

Dentre as palmeiras frutíferas com escassez de estudos científicos, tanto no que se refere aos aspectos químicos quanto a investigação de atividades farmacológicas relatados, estão as espécies *Butia capitata*, *Butia laevis* e *Syagrus romanzoffiana*. Estas são espécies nativas do Brasil e, além de muito utilizadas em ornamentações e artesanatos, são utilizadas na alimentação. Principalmente, a polpa dos frutos das espécies de *Butia* é aproveitada na forma de doces, sucos, licores, geléias ou mesmo *in natura* e a utilização e valorização dos frutos desta espécie é crescente. O município de Santa Vitória do Palmar cujo nome está vinculado à árvore símbolo da cidade: o butiazeiro, vem implementando política pública de incentivo ao cultivo da espécie para a fabricação e comercialização de doces e bebidas, distribuindo gratuitamente mudas da espécie (SANTA VITÓRIA DO PALMAR, 2007).

Com isso, face ao que foi exposto e, juntamente, com a grande importância representada pela Família Arecaceae, este trabalho buscou dados químicos que possam contribuir para o conhecimento dos frutos dessas três espécies de palmeiras, visando agregar valor nutricional bem como incentivar a preservação dessas espécies e a sua valorização comercial. Além disso, a investigação de bioatividades também poderá agregar maior valor econômico a estas espécies.

OBJETIVOS GERAIS

O objetivo geral deste trabalho foi a investigação da composição química dos frutos e amêndoas de *Butia capitata*, *Butia laevis* e *Syagrus romanzoffiana*, além da avaliação das atividades biológicas *in vitro*: antioxidante dos extratos metanólicos e antiinflamatória dos extratos metanólicos e óleos fixos obtidos, respectivamente, das polpas e das amêndoas dos frutos dessas espécies.

CAPITULO I

**Estudo químico das espécies *Butia capitata*, *Butia lalemantii* e
*Syagrus romanzoffiana***

I. 1. Introdução

Os artigos utilizados para embasar esta dissertação foram retirados das bases de dados: SCIENCE DIRECT, SCOPUS, SCIRUS, WEB OF SCIENCE, PUBMED, SCIFINDER, ISI WEB OF KNOWLEDGE. Não foram encontrados trabalhos e referências de estudos químicos para as espécies *Butia capitata*, *Butia laevis* e *Syagrus romanzoffiana* até a data final da redação deste trabalho.

Objetivos específicos:

Com o intuito de investigar a composição química dos frutos dessas espécies e desta forma contribuir com dados que possam agregar valor a estas frutas, os objetivos específicos deste capítulo consistem em:

- Quantificação de nutrientes minerais por espectrofotometria de absorção atômica.
- Extração de óleo essencial por hidrodestilação, identificação e quantificação dos componentes do óleo por cromatografia gasosa.
- Quantificação dos polifenóis totais por espectrofotometria no Uv-Visível.
- Aquisição e análise do perfil cromatográfico das espécies por cromatografia líquida de alta eficiência.
- Obtenção dos óleos fixos das amêndoas por extração com solvente a frio.
- Caracterização da composição quali e quantitativa dos óleos das amêndoas, por cromatografia gasosa, através de processos de transesterificação.

I.2. Aspectos Botânicos

I.2.1. Família Arecaceae

As palmeiras apresentam ampla distribuição, ocorrendo principalmente nos trópicos e subtropicais. Exibem hábitos variados, desde estipes subterrâneas e de pequeno porte até formas arborescentes e raramente trepadeiras, com ou sem espinhos no caule e folhas. A Família Arecaceae tem aproximadamente 189 gêneros e 3000 espécies (HENDERSAN, 1995), sendo que LORENZI e colaboradores (1996) citam 29 gêneros e 132 espécies para o Brasil.

I.2.1.1. Gênero *Butia*

Butia é um gênero que ocorre, principalmente, em regiões subtropicais da América do Sul, crescendo naturalmente no Sul do Brasil, nordeste da Argentina e norte do Uruguai. Abrange somente oito espécies e possui algumas características botânicas semelhantes ao gênero *Syagrus* (MATTOS, 1977; GLASSMAN, 1987), sendo que para algumas espécies não há concordância entre os profissionais botânicos para inclusão de espécies no primeiro ou no segundo gênero. Entre as características botânicas que distinguem os gêneros destaca-se: no *Butia*, os pecíolos são geralmente cobertos por espinhos e as brácteas, geralmente lisas ou levemente sulcadas na superfície exterior, enquanto, no *Syagrus* essas características não são observadas (MATTOS, 1977).

Algumas espécies, particularmente as que possuem haste curta ou subterrânea, são extremamente variáveis e por estas diferenças não serem bem explicadas, ocorre discordância entre botânicos na classificação destas espécies. Com isso, ocorre que, algumas vezes, espécies de *Butia* são incluídas no gênero *Syagrus*. Este é o caso da espécie *Butia campicola* que, segundo GLASSMAN (1987), pertence ao gênero *Butia*, porém, de acordo com MATTOS (1977), esta espécie pertence ao gênero *Syagrus*. A classificação da espécie *Butia arenicola* também é divergente. Para MATTOS (1977), é sinônimo da espécie *Butia paraguayensis* descrita por GLASSMAN (1987).

De acordo com MATTOS (1977) em *Palmeiras do Rio Grande do Sul*, no estado do Rio Grande do Sul podem ser encontradas as espécies: *Butia eriospatha*

(Martius ex Drude) Beccari, *Butia paraguayensis* (Barb. Rodr.) Bailey, *Butia yatay* (Mart.) Beccari, *Butia capitata* (Mart.) Beccari. Este autor também subdivide a espécie *B. capitata* nas variedades: *B. capitata* var. *pulposa* (Barb. Rodr.) Becc., *B. capitata* var. *rubra* Mattos e *B. capitata* var. *capitata* de acordo com a cor e tamanho dos frutos. No entanto, essa classificação não foi adotada neste trabalho, por observarmos que os parâmetros de tamanho e cor variam muito nos frutos coletados de uma mesma árvore (Marcos Sobral, comunicação pessoal).

I.2.1.1.1. *Butia eriospatha* (Martius ex Drude) Beccari

A principal característica botânica que diferencia *Butia eriospatha* das demais espécies do gênero *Butia*, é a presença de espatas tormentosas, de cor acastanhada ou marrom, na face externa. Esta palmeira possui estipe com altura aproximada de 2,5 a 5 m, podendo ser superior a essa medida e é rara no Rio Grande do Sul, encontrando-se apenas nos campos do Planalto. Também, pode ser vista nos capões ou nas bordas da Mata das Araucárias.

Os folíolos são aproveitados na fabricação de crina vegetal, cestas, etc. Seus frutos normalmente amadurecem em março, são saborosos e utilizados com cachaça, licores, vinhos. A planta é cultivada em jardins, em ornamentação, devido ao seu aspecto e forma da copa que apresenta.

Distribuição geográfica: Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

Nomes vulgares: butiá-da-serra (REITZ, 1974), butiazeiro (MATTOS, 1977; HENDERSAN, 1995).

I.2.1.1.2. *Butia paraguayensis* (Barb. Rodr.) Bailey

Butia paraguayensis é classificada como palmeira acaule ou com estipe de até 1-1,5 m de altura e 10-20 cm de diâmetro. Frequentemente é confundida com *B. yatay*.

A planta é ornamental, apropriada para parques e jardins. As folhas e frutos possuem as mesmas aplicações que as demais espécies do gênero.

Distribuição geográfica: Paraguai; Argentina; Uruguai; São Francisco de Assis, Itaqui, Alegrete, Sarandi, Passo Fundo, Quaraí (Rio Grande do Sul).

Nomes vulgares: butiazeiro-anão, palma-petiza, enana (Uruguai), yatay poni (Argentina) (MATTOS, 1977; HENDERSON, 1995).

I.2.1.1.3. *Butia yatay* (Mart.) Beccari

Planta que alcança até mais de 8m de altura, ereta, possui estipe cilíndrico com base mais espessa e fibrosa.

Além das utilizações atribuídas à ornamentação e artesanato, a parte terminal desta palmeira oferece palmito, tanto para os homens como para bovinos. Seus frutos são comestíveis, no entanto, comparativamente às demais espécies, é relatado que o sabor dos frutos desta espécie é mais ácido.

Distribuição geográfica: Paraguai; Paysandu e Rio Negro (Uruguai); Giruá (Rio Grande do Sul). No entanto, a maior ocorrência se verifica na Argentina, nas províncias de Entre Rios, Santa Fé e Corrientes. No RS, encontra-se em região plana onde a temperatura média anual fica em torno de 19 °C e pluviosidade média de 1850-1930 mm.

Nomes vulgares: yatay (Uruguai e Argentina); jataí (Brasil) (MATTOS, 1977; HENDERSAN, 1995).

I.2.1.1.4. *Butia capitata* (Mart.) Beccari

Conhecido popularmente como cabeçudo, butiá-de-praia, butiá-vinagre, butiá-azedo, butiá-branco, butiá-miúdo, butiá-veludo, butiazeiro, guariroba-do-campo. Apresenta tronco simples, espesso, de até 6 m de altura. É a espécie de maior ocorrência, comumente cultivada em jardins e parques, além de crescer naturalmente em vegetações de restinga.

Distribuição geográfica: Bahia, Goiás, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Brasil); Montevidéu (Uruguai). Em Santa Catarina, ocorre na vegetação de restinga, desde o litoral extremo norte até o extremo sul. Esta palmeira é utilizada pelas populações litorâneas na confecção de artefatos, de bebidas e

consumo de frutos (REITZ *et al.*, 1974; MATTOS, 1977; REITZ *et al.*, 1978; REITZ *et al.*, 1982; ROSA *et al.*, 1998).

I.2.1.1.5. *Butia lallemantii* Deble & Marchiori

Butia lallemantii Deble & Marchiori refere-se a uma nova espécie, exclusiva dos campos arenosos do sudoeste do Rio Grande do Sul. Floresce no final da primavera e verão e frutifica no verão-outono.

Este butiazeiro cresce nos campos arenosos do sudeste Sul-riograndense, é desprovido de estipe e forma populações de milhares de indivíduos. Sua abundância e aspectos peculiares chamam a atenção dos que percorrem os campos de Alegrete, Manoel Viana e São Francisco de Assis.

Conhecido localmente como butiá-anão, os primeiros relatos dessa espécie devem-se a Robert Ave-Lallemant, médico alemão que excursionou pelo Rio Grande do Sul em meados de século XIX. Em seu estudo sobre as Palmeiras do Rio Grande do Sul, MATTOS (1977), designou o material como *Butia paraguayensis* (Barbosa & Rodriguez) Bailey, critério que foi seguido pela maioria dos trabalhos posteriores.

MARCHIORI, ELESBÃO e ALVAREZ-FILHO (1995) igualmente tratam a espécie sob esse binômio, distinguindo-a de *Butia yatay* (Mart.) Becc. principalmente pela ausência de estipe ou pelo estipe curto (até 1,50 m). Posteriormente, MARCHIORI (2004), atribuiu às condições edáficas o porte de *Butia paraguayensis*, reconhecendo que a citada espécie pode expressar ecotipos ou aspectos taxonômicos ainda não definitivamente esclarecidos. Totalmente acaule nos campos arenosos do sudoeste do estado, poderia apresentar estipe de até 6 metros na região de Quaraí.

O estudo detalhado de numerosas populações, todavia, evidenciou diferenças suficientes para separar as duas espécies. *Butia paraguayensis* apresenta caule solitário e aéreo de até 2 metros, folhas pares de pinas, pecíolos com dentes ou espinhos curtos, intercalados com fibras e frutos ovados, amarelo-esverdeados ou amarelos. *Butia yatay* apresenta estipe de 3-8 metros (até 15 metros em palmares de Entre-Rios – Argentina), folhas com 60-70 pares de pinas, pecíolos armados e dentes espinescentes de até 3 cm e frutos ovados, distintamente apiculados no

ápice. O butiá-anão, ao contrário destas espécies, é uma planta cespitosa, provida de 3-6 caules subterrâneos, com pecíolo de margem fibrosa e frutos ovado-lanceolados, amarelo-alaranjados, de ápice avermelhado (DEBLE e MARCHIORI, 2006).

I.2.1.1.6. Outras espécies

No Brasil, é relatada ainda, a presença das espécies: *B. purpurascens* no estado de Goiás e, juntamente, com a vegetação do cerrado; *B. microspadix*, nos estados do Paraná e São Paulo; *B. archeri* na vegetação de cerrado, nos estados de Goiás, Minas Gerais, São Paulo e Distrito Federal (MATTOS, 1977; HENDERSON, 1995).

I.2.1.2. Gênero *Syagrus*

O gênero *Syagrus* (Arecaceae) é endêmico da América do Sul, tem centro de diversidade entre os estados brasileiros da Bahia e Minas Gerais, é constituído por 42 espécies e oito híbridos naturais, dos quais sete inter-específicos e um intergenérico (NOBLICK, 1996).

I.2.1.2.1. *Syagrus romanzoffiana*

Syagrus romanzoffiana (jerivá) é a espécie com a distribuição mais ampla do gênero, ocorrendo desde a Bolívia e o estado brasileiro da Bahia até o Uruguai e Argentina, sendo mais abundante no Sul e Leste do Brasil (GLASSMAN, 1987). Por ser altamente decorativa e apresentar facilidade de transplante quando adulta, *S. romanzoffiana* é a palmeira mais usada na arborização de ruas e avenidas em todo o Brasil (LORENZI, 1992; LORENZI *et al.*, 1996) e também em muitos outros países (LORENZI, 1992). Produz palmito de boa qualidade, sendo uma das espécies indicadas para a produção deste alimento (BERNACCI *et al.*, 2008). É planta apícola, fornecendo pólen e néctar para *Apis mellifera* L., *Tetragonisca angustula* Latreille e *Trigona* sp., entre outras espécies de abelha (SIQUEIRA, 1989; SOUZA *et al.*, 1993). A polpa do fruto é comestível e apreciada pelo homem e por animais (SANCHOTENE, 1989), os frutos e as folhas servem como alimento para o gado. Os frutos são drupas ovaladas com diâmetro aproximado de 2,5 cm, com exocarpo

macio e endocarpo duro. Indivíduos desta espécie produzem frutos durante todo o ano e, normalmente, dois cachos em cada vez (GALETTI, 1992).

PARTE 1

Determinação de elementos minerais nos mesocarpos das espécies *Butia capitata*, *Butia lalemantii* e *Syagrus romanzofiana*

I.3. Introdução

Os nutrientes minerais constituem um grupo de elementos largamente distribuído nos reinos animal e vegetal onde são encontrados sob diversas formas (carbonatos, óxidos, sulfatos), concentrações variadas e próprias. Grande número destes compostos é considerado elemento essencial por serem indispensáveis para o crescimento e desenvolvimento normais de plantas, animais e humanos (HE *et al.*, 2005).

Estes elementos agem regulando diversas funções do organismo humano. Podem atuar como catalisadores em sistemas enzimáticos, como cofatores que regulam a atividade de diversas enzimas e/ou representar partes integrantes de compostos orgânicos como o ferro na molécula de hemoglobina, o iodo na tiroxina, o cobalto na cianocobalamina, o zinco na insulina, o enxofre na biotina e tiamina. Sendo, desta forma, elementos da nutrição humana importantes para o crescimento, desenvolvimento e a manutenção das funções e equilíbrio nos tecidos corporais (AL-AWADI e SRIKUMAR, 2000).

O grupo dos nutrientes minerais, algumas vezes também denominados de elementos traço devido à baixa concentração em que estão disponíveis naturalmente, é constituído por 22 elementos, sendo metálicos em sua maioria (HE *et al.*, 2005). De acordo com a necessidade de ingestão diária, esse grupo é comumente dividido em:

- Macroelementos ou macronutrientes: são aqueles que a necessidade de ingestão diária é igual ou superior a 100mg. Neste grupo estão o Cálcio, Fósforo, Magnésio, Sódio, Potássio, Cloro, Enxofre.

- Microelementos ou micronutrientes: são aqueles que a necessidade diária é menor de 100mg. Este grupo abrange os elementos Ferro, Zinco, Cobre, Iodo, Manganês, Flúor, Molibdênio, Selênio, Cromo, Cobalto, Estanho, Níquel, Vanádio, Silício e Boro (STOREY e TREEBY, 2000; MIRDEHGHAN e RAHEMI, 2007; FRANCO, 2007).

Não sintetizados pelo organismo, esses nutrientes minerais devem ser adquiridos através da dieta e o seu consumo adequado é importante para a manutenção das diversas funções metabólicas do organismo. Pois, tanto a ingestão

insuficiente quanto a excessiva é prejudicial, podendo potencialmente levar a estados de carência nutricional ou representar toxicidade aos organismos (KLASSEN e WARTKINS III, 2001; HSU e GUO, 2002; MAIGA *et al.*, 2005).

Frutas e vegetais são importantes fontes de elementos essenciais (TAHAVONEN, 1993). Esses minerais se apresentam como componentes naturais de grande diversidade de frutas e possuem papel específicos na manutenção da qualidade e determinação do valor nutritivo das frutas (MIRDEHGHAN e RAHEMI, 2007).

Portanto, o conhecimento da composição dos nutrientes minerais dos frutos que estão presentes na dieta se faz necessário e, desta forma, este trabalho busca contribuir com a determinação da concentração de macro (Ca e Mg) e micronutrientes (Mn, Fe, Cu e Zn) nos frutos de *Butia lallemantii*, *Syagrus romanzoffiana* e em três coletas de *Butia capitata*.

Magnésio (Mg) – macronutriente que faz parte da composição da clorofila dos vegetais superiores, sendo, portanto, abundante em vegetais folhosos verdes escuros, leguminosas e em nozes e amêndoas.

No organismo humano, o magnésio atua como cofator de grande número de enzimas essenciais em diversos processos metabólicos. É necessário para o metabolismo energético e está envolvido na síntese protéica. Os processos fisiológicos de contração muscular e coagulação sangüínea são dependentes da presença de cálcio e de magnésio. (SANCHEZ-MORITO *et al.*, 1999; DIETARY, 2001).

A necessidade de ingestão diária recomendada é de 350 mg/dia para homens adultos e de 280 mg/dia para mulheres. A biodisponibilidade do magnésio numa dieta balanceada está estimada em cerca de 40 % e sua maior absorção ocorre no intestino delgado. A absorção do elemento é reduzida na presença de cálcio, álcool, fosfatos, fitatos e gorduras e é estimulada na presença de vitamina D (CABALLERO, 1988; DIETARY, 2001; BUENO, 2008).

Cálcio (Ca) – classificado como macronutriente, o cálcio é o quinto mineral mais abundante no organismo, atingindo 1,5 a 2,0 % da massa corporal. A função

primordial deste elemento no organismo é a formação dos ossos e dentes, sendo que estes possuem cerca de 99% da quantidade total de cálcio do organismo.

Nos ossos, cerca de 90% da totalidade deste mineral, é encontrado sob a forma de compostos da série das hidroxiapatitas. Neste tecido há constante deposição e reabsorção de cálcio, influenciadas pelo paratormônio e tirocalcitonina, sendo que o primeiro controla a reabsorção e o segundo inibe a retirada de cálcio ósseo.

O cálcio presente nos líquidos orgânicos possui diversas e importantes funções biológicas. Entre elas, estão: participação em duas etapas da cascata de coagulação sangüínea; juntamente com outros minerais como o magnésio e potássio, exercem papel vital na excitabilidade neuromuscular; participação na indução e transmissão de impulsos nervos; atuação como ativador de diversas enzimas e possui participação indispensável para a absorção de tiamina (DIETARY, 2001; FRANCO, 2007).

As principais fontes de cálcio são os queijos (teores chegam a 1 g%), leite, melado e alguns vegetais como milho, feijão, couve, brócolis (DIETARY, 2001).

Ferro (Fe) – micronutriente dos mais abundantes na crosta terrestre, existindo largamente em sua forma trivalente como óxido férrico ou hidróxidos ou como polímeros. É essencial à formação da hemoglobina, assim como em diversos processos biológicos, incluindo o transporte de oxigênio, participação na síntese de DNA e transporte de elétrons na cadeia respiratória e faz parte da composição de diversas proteínas (MONTEIRO *et al.*, 2006).

As desordens no metabolismo do ferro estão entre as mais comuns doenças em humanos e podem levar à manifestações clínicas diversas, como anemia e condições neurodegenerativas. Já as condições toxicológicas do ferro estão relacionadas, em sua maioria, com exposições agudas acidentais (geralmente com medicamentos) e sobredoses crônicas (EISENSTEIN, 1998). As quantidades diárias de ingestão recomendadas para homens são 11 mg/dia e 15 mg/dia para mulheres sendo que algumas das principais fontes da dieta são os derivados oriundos da cana, fígado, cereais, brócolis, aipim, sementes de abóbora e os frutos de açaí (DIETARY, 2001; FRANCO, 2007).

Zinco (Zn) – micronutriente que faz parte de mais de 300 processos metabólicos atuando como cofator enzimático ou como componente das metaloenzimas (FRÖEHLICH *et al.*, 2006). Dentre estas, destacamos as anidrases carbônica, carboxipeptidase, desidrogenase láctica e as fosfatases alcalinas. A presença deste microelemento é essencial para o metabolismo normal e de grande valor na proteção das células contra radicais livres (BUENO, 2008).

Da ingestão de zinco presente em alimentos e dietas, de 20 a 40 % são absorvidos. A diminuição da biodisponibilidade deste elemento tem sido associada com os teores de fitatos, ferro e compostos de estruturas complexas como as fibras (CLAYE, 1998; BUENO, 2008).

A recomendação de ingestão diária para homens e mulheres adultas é de 15 e 12 mg/dia, respectivamente. As principais fontes de zinco são: fígado, carnes, ovos e frutas como banana, maçã, abacaxi e amêndoas (DIETARY, 2001; FRANCO, 2007).

Manganês (Mn) – microelemento importante para vários sistemas enzimáticos por participar como parte destes ou por atuar como cofator enzimático. Dentre as reações nas quais está envolvido, destacamos: formação de uréia; síntese dos mucopolissacarídeos das cartilagens; metabolismo de glicídios, colesterol, e proteínas; síntese de ácidos graxos; ativação da protrombina (DIETARY, 2001; FRANCO, 2007).

É utilizado na terapêutica nas formas de cloreto ou sulfato, exerce antagonismo com o ferro e o cobalto, diminuindo a absorção do ferro. Possui biodisponibilidade baixa (3 a 12 % da ingesta oral), sendo que a recomendação de ingestão diária é de 2,0 -5,0 mg/dia para adultos e de 1,0- 1,5 mg/dia para crianças de 1 a 3 anos de idade. As principais fontes de obtenção na dieta são frutas como o pêssego, damasco, ameixa, castanhas e legumes e verduras como agrião, alface e feijão (DIETARY, 2001; FRANCO, 2007).

Cobre (Cu) – microelemento presente nas metaloenzimas e essencial para diversas funções orgânicas, como a mobilização do ferro para a síntese da hemoglobina, sendo sua deficiência rara no homem, pois a quantidade nos alimentos

habitualmente consumidos é adequada para prover as necessidades orgânicas (FRANCO, 2007).

Adultos possuem necessidade de ingestão diária de 1,5- 3,0 mg/dia deste elemento, sendo que a biodisponibilidade é de 40 a 50%. As principais fontes deste elemento são: farinha de soja, cacau, chocolate, amendoim, amêndoas, lentilha, favas, arroz, aveia, brócolis e carnes vermelhas (WHO, 1996; HARRIS, 1997).

I.3.1. Parte Experimental

I.3.1.1. Material vegetal

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizados os mesocarpos e as amêndoas de frutos maduros de três espécies de Arecaceae. A coleta dos frutos da espécie *B. capitata* foi realizada nos cultivares da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado, Embrapa, Município de Pelotas (RS). Devido à possibilidade e facilidade de aquisição do material, para esta espécie, as coletas foram realizadas em dezembro 2005, janeiro 2006 e abril 2007 por pesquisadores desta instituição. O material vegetal referente à coleta de 2005 foi constituído de frutos inteiros congelados. O material recebido, referente à coleta realizada em 2006, os mesocarpos e endocarpos estavam separados e congelados e a amostra de 2007 foi constituída de frutos inteiros e frescos.

Os frutos de *Butia lallemantii* foram coletados em abril de 2007, no Município de São Francisco de Assis (RS) e os de *Syagrus romanzoffiana* em Porto Alegre (RS), em setembro de 2007.

A identificação das espécies foi realizada pelo Botânico Dr. Marcos Sobral (UFMG).

I.3.1.1.1. Processamento da matéria-prima vegetal

Os endocarpos e mesocarpos dos frutos de *S. romanzoffiana*, *B. lallemantii*, *B. capitata* (coleta 2007) foram separados manualmente. Os mesocarpos foram submetidos à homogeneização, congelamento e liofilização e amêndoas foram retiradas dos endocarpos rompidos por impacto. O mesmo procedimento foi adotado para os frutos e polpa de *B. capitata* (coleta 2005) porém, para tornar possível sua

manipulação, foi necessário descongelamento parcial anterior a separação das partes dos frutos.

1.3.1.1.2. Liofilização e armazenamento das amostras

Os mesocarpos de todas as amostras foram divididos em frascos para liofilização cobertos com papel alumínio. Após o congelamento desses, procedeu-se à liofilização em Liofilizador Savant MicroModulyo Boc Edwards em temperatura de $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ e pressão de 3×10^{-2} mbar. Os frascos de liofilização permaneceram ao abrigo da luz durante todo o processo. O produto seco obtido da liofilização foi reduzido em moinho de facas e acondicionado em frascos âmbar, hermeticamente fechados e armazenadas em freezer à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até sua utilização.

1.3.1.1.3. Preparação das curvas padrão

As curvas padrão dos elementos Ca, Mg, Fe, Cu, Mn e Zn foram preparadas a partir de diluições realizadas de soluções estoque de cada elemento com concentrações de 1 mg/ml (Merck). Desta forma, foram obtidas seis curvas de calibração, sendo que todas as concentrações da curva foram analisadas em triplicata.

1.3.1.1.4. Preparação das amostras

Os mesocarpos liofilizados dos frutos de *Butia lallemantii*, *Syagrus romanzoffiana* e das três coletas de *Butia capitata*, foram submetidos à secagem em estufa a 105°C até peso constante. Após a secagem, o material foi transferido para embalagem hermeticamente fechada e armazenado em dessecador, a temperatura ambiente, até a execução das análises.

Para a quantificação dos elementos minerais, as amostras foram pesadas (1g) em tubos do tipo *Eppendorf* de 2 ml. Nestes tubos, foi adicionado 1 ml de ácido nítrico P.A. previamente bidestilado e, então, levado ao ultrassom por 30 minutos. Posteriormente, as amostras foram levadas à estufa a 60°C por uma hora para digestão. O sobrenadante foi então diluído em água ultrapurificada até abranger as concentrações das curvas padrão.

Foram preparadas e analisadas três diluições de cada amostra e os metais foram quantificados a partir das curvas de calibração. O branco consistiu de mistura de água ultrapurificada e ácido nítrico P.A. bidestilado.

I.3.2. Equipamentos e Materiais

Para realização dos experimentos, foi utilizado espectrofotômetro de absorção atômica Perkin-Elmer Analyst-300, equipado com forno de grafite Perkin-Elmer HGA-800, amostrador automático AS-72 e software Aawinlab para a aquisição de dados. Para quantificação dos elementos minerais foram utilizadas lâmpadas monoelemento de cátodo oco.

Os principais solventes e reagentes utilizados foram ácido nítrico bidestilado (Merck), água ultrapurificada (Milli-Q Plus; Millipore), solução Triton X-100 (Merck). As soluções padrões dos elementos minerais foram preparadas a partir de solução estoque 1 g/l (Titrisol[®], Merck).

I.3.3. Resultados e Discussão

Na Tabela I.1.1 e Figuras I.1.1 e I.1.2 são apresentados os valores de concentração para os elementos minerais Ca, Mg, Fe, Mn, Zn e Cu nos mesocarpos das espécies *Butia lallemantii*, *Syagrus romanzoffiana* e das coletas de *Butia capitata* realizadas nos anos de 2005 (BC 5), 2006 (BC 6), 2007 (BC 7).

Podemos observar, na Tabela I.1.1., que as concentrações dos elementos na espécie *S. romanzoffiana* seguiram a ordem decrescente Ca > Mg > Zn > Fe > Mn > Cu. Para *B. lallemantii* a seqüência de concentração dos elementos foi Ca > Mg > Fe > Mn > Zn > Cu. Nas diferentes coletas de *B. capitata* observa-se que os maiores valores de concentração são dos elementos Ca e Mg e menores para o Cu, no entanto, os demais micronutrientes não obedeceram seqüência e ordem idênticas de concentrações, sendo que para a coleta de 2005, a predominância foi de Ca > Mg > Mn > Fe > Zn > Cu; para a coleta de 2006 Ca > Mg > Zn > Mn > Fe > Cu e para a coleta de 2007 Ca > Mg > Mn > Zn > Fe > Cu.

Tabela I.1.1. Concentrações médias de micronutrientes nas espécies analisadas: *Butia capitata* (BC 5, BC6 e BC7), *Butia lallemantii* e *Syagrus romanzoffiana*.

Amostras	Ca *	Mg *	Fe *	Cu *	Mn *	Zn *
BC 5	52,6	24,5	3,2	0,69	4,65	3,16
BC 6	48,2	29,3	3	1,03	4,82	12,05
BC 7	50	25,1	4	0,65	4,82	4,09
<i>B. lallemantii</i>	72,3	67	6,31	0,92	4,82	2,91
<i>S. romanzoffiana</i>	139,8	26,1	4,84	0,31	4,82	6,09

* valores expressos em mg/100 g

Na Figura I.1.1. o gráfico apresenta a comparação do teor de cada elemento nas três espécies coletadas no ano de 2007. As maiores variações de teores entre as três espécies foram observadas para os macronutrientes cálcio e magnésio. Os teores de manganês permaneceram inalterados para as três espécies analisadas.

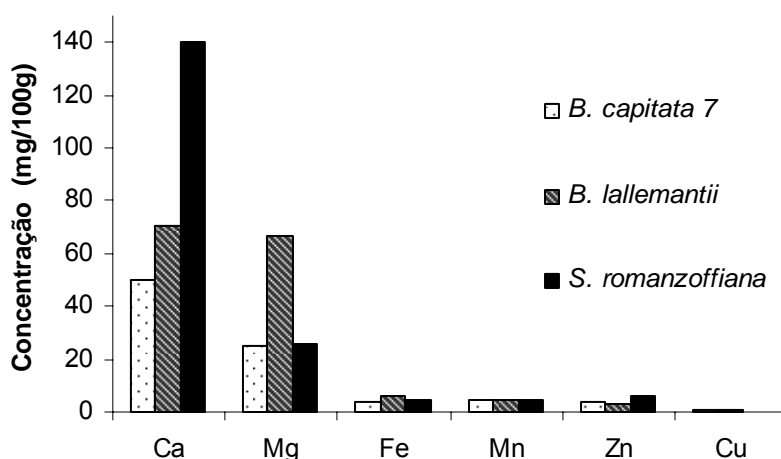


Figura I. 1.1: Comparação dos teores de minerais presentes nos mesocarpos das espécies *Butia capitata*, *Butia lallemantii* e *Syagrus romanzoffiana*.

A literatura reporta estudos sobre diversas variáveis que podem influenciar nos teores de nutrientes minerais de frutos e vegetais em geral como incidência de luz, temperatura, tipo de solo, estágio de desenvolvimento da planta, adubação do solo e estágio de maturação da fruta (STOREY e TREEBY, 2000; MORENO *et al.*, 2003; MIRDEHGAHAN e RAHEMI, 2007). MORENO e colaboradores (2003) demonstraram, em estudo com variáveis controladas, que a proporção de N, P a K

contida no adubo utilizado provoca alterações nas concentrações de minerais em pepinos. A variação foi observada para macro e micronutrientes, pois os fertilizantes possuem impurezas (micronutrientes) que contribuem significativamente para alterações nos teores destes (MORENO *et al.*, 2003). Com isso, a composição de nutrientes minerais pode não ser constante e nem característico de uma espécie.

Para fins comparativos de quanto as variáveis mencionadas influenciam na composição de minerais na espécie *B. capitata*, foram realizadas coletas em três anos consecutivos. Os butiazeiros dos quais foram coletados os frutos localizam-se próximos uns dos outros, em solo plano e, teoricamente com as mesmas condições de fertilização do solo. O período selecionado para coleta foi o início do aparecimento de frutos maduros. Verificou-se que o período de início do amadurecimento dos frutos variou bastante. No ano de 2005 a coleta foi realizada em dezembro, em 2006 foi realizada no final de janeiro e em 2007 em abril.

Na Figura I.1.2 são comparados os teores de cada elemento dessas três coletas. Houve variação nos teores e a seqüência de disponibilidade não foi mantida nos três anos. As variações foram sutis para os elementos Ca, Mn, e Cu e mais pronunciadas para os elementos Fe e Zn. Esses valores evidenciam as dificuldades de elaboração de tabelas nutricionais de alimentos como frutas.

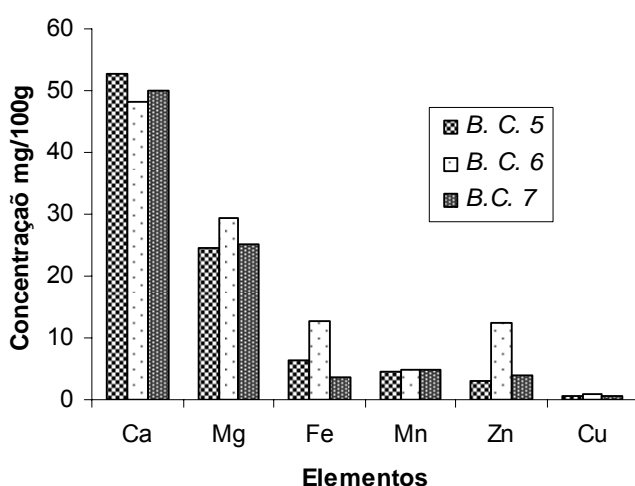


Figura I.1.2: Comparação dos teores de minerais da espécie *Butia capitata* encontrados nas coletas dos anos 2005, 2006 e 2007.

A técnica utilizada para a determinação dos nutrientes minerais também pode exercer influência sobre os resultados das análises, sendo que o método empregado para a realização deste trabalho é sugerido como um dos mais seguros e também é recomendado pela AOAC (BORDAJANDI *et al.*, 2004; MAIGA *et al.*, 2005).

Os valores de concentração de todos os elementos em todas as amostras analisadas estão abaixo dos níveis máximos de consumo diário sugeridos como seguros e ideais, portanto, de acordo com os resultados obtidos sugere-se a indicação desses frutos alimentação como fonte de obtenção de nutrientes minerais. No entanto, percebe-se a necessidade de maiores estudos para se avaliar o estágio de maturação dos frutos e as condições de cultivo mais favoráveis para o consumo.

PARTE 2

Extração e análise quali e quantitativa de óleos voláteis

I.4. Introdução

Dentre as diversas características atrativas e desejáveis que influenciam na demanda de frutas tropicais e subtropicais, o aroma característico é o mais perceptível pelos consumidores (PINO *et al.*, 2001). Dentre as três características sensoriais de frutas (aroma, textura e aparência), o aroma, em especial, se apresenta como o maior critério para a aceitação de frutas em geral, pois abrange, simultaneamente, dois sentidos humanos: olfato (aroma) e paladar (sabor), estreitamente relacionado com a percepção olfativa (ECHEVERRIA *et al.*, 2004).

O aroma está relacionado com uma grande variedade de compostos químicos que possuem em comum a característica de volatilidade. Dentre esses compostos estão os óleos voláteis, principalmente os monoterpenos.

Os óleos voláteis são obtidos de materiais vegetais como flores, brotos, sementes, folhas, ramos, raízes e frutas. Possuem composição química bastante diversificada que engloba desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, até compostos com nitrogênio e enxofre. Entre estes compostos, estão os aldeídos aromáticos, derivados mais comuns em óleos voláteis, que também contribuem para o aroma característico das frutas (GEISSMAN e CROUT, 1969; GUIGNARD *et al.*, 1985).

Entretanto, apesar da grande diversidade estrutural, os componentes dos óleos voláteis podem ser agrupados em duas séries principais: a série aromática e a série terpênic. A série aromática abrange os derivados do fenilpropano, oriundos do metabolismo do ácido chiquímico. Esses compostos são formados por reações de transaminação enzimática da fenilalanina e da tirosina que originam os ácidos cinâmico e *p*-cumárico, respectivamente. Já, a série terpênic, apresenta maior diversidade estrutural do que a série aromática representada pelos monoterpenos, compostos cujo esqueleto é formado por 10 átomos de carbono e pelos sesquiterpenos, com 15 átomos, arrançados em estruturas acíclicas, monocíclicas, bicíclicas e tricíclicas (CANE, 1990).

A distribuição dos óleos voláteis no reino vegetal é bastante pronunciada nas angiospermas dicotiledôneas, sendo abundante em algumas famílias como

Lamiaceae, Myrtaceae, Lauraceae, Piperaceae, Myristicaceae. Porém, para as angiospermas monocotiledôneas (exceção de coníferas) a presença de óleos não é profusa. A Família Arecaceae está entre as monocotiledôneas que possuem poucos relatos científicos de presença e identificação de óleo essencial.

BABASAHEB e colaboradores (2007) identificaram compostos voláteis na água de coco (*Cocos nucifera* - Arecaceae), sendo que, foram identificados, entre outros, os compostos farnesol e nerolidol em quantidades de 125,5 e 44,9 µg/l, respectivamente. Em outro estudo realizado com a espécie *Chamaerops Humilis*, CAISSARD e colaboradores (2004) determinaram localização histológica onde ocorre a produção e armazenamento agentes atraentes de polinizadores (terpenos) nas folhas e flores dessa espécie. As espécies *Areca triandra*, *Calamus gracilis*, *Elaeis guineensis*, *Raphis excelsa*, *Salacca secanda* foram avaliadas por GEREON e colaboradores (2006) em relação à emissão de isopreno e outros compostos voláteis para a atmosfera.

I.4.1. Parte Experimental

I.4.1.1. Material vegetal

Para a extração dos óleos voláteis foram utilizadas as polpas dos frutos frescos das espécies *B. capitata*, *S. romanzoffiana* e *B. lalemantii*, todos coletados no ano de 2007, nos locais descritos no item I.3.1.1.

I.4.1.2. Obtenção do óleo volátil

Polpa e endocarpo foram separadas manualmente com auxílio de lâmina cortante e, na seqüência, as polpas foram submetidas à hidrodestilação em aparelho tipo-Clevenger, durante 4 horas (Farm. Bras., 1988). A quantificação foi realizada pela leitura do volume de óleo coletado em relação a massa de mesocarpos utilizada para a extração. O óleo obtido foi armazenado em frascos âmbar hermeticamente fechados, sob refrigeração, até as análises quali e quantitativas de seus constituintes.

I.4.1.3. Análise química

Para as análises de identificação da composição química e quantificação de seus constituintes, o óleo foi diluído a 2% (v/v) em éter etílico, seguido por análise por cromatografia a gás.

Para a execução das análises foi utilizado aparelho cromatógrafo a gás Shimadzu GC17-A acoplado a detector de massas GC/MS – QP5000. Para separação dos constituintes foi utilizada coluna Durabond-DB5 (John Wiley & Sons Scientific, USA, com 25 m de comprimento, 0,25 mm de d.i., preenchida com um filme de 0,25 µm de espessura de polidimetildifenilsiloxano contendo 5% de grupamentos fenila). A temperatura do forno foi programada de 60 °C a 300 °C a 3 °C/min, com hélio como gás carreador a 80 kPa e fluxo de 1 ml/min. As temperaturas do injetor e do detector foram de 220 °C e 250 °C, respectivamente. A razão de fluxo do injetor foi de 1:20. Nitrogênio, ar sintético e hidrogênio foram utilizados como gases auxiliares, na razão de 1:1:10, respectivamente. A composição percentual foi obtida por integração eletrônica utilizando software CR10 (Shimadzu).

A identificação dos constituintes do óleo volátil foi conduzida por comparação de seus índices de retenção (Índice de retenção relativo) e respectivos espectros de massa com dados da literatura (ADAMS, 2001), ou, ainda, em bancos de dados como NIST 12 e NIST 62 – National Institute of Standards and Technology, Kyoto, Japão.

Para o cálculo do Índice de retenção relativo (I) foi utilizada a seguinte equação:

$$I = 100z + 100 \frac{(t'_{RX} - t'_{RZ})}{(t'_{R(Z+1)} - t'_{RZ})}$$

Onde:

z = número de carbonos do composto com menor peso molecular;

t'_{RX} = tempo de retenção do composto x, sendo t'_{RX} intermediário entre t'_{RZ} e t'_{R(Z+1)};

t'_{RZ} e t'_{R(Z+1)} = tempos de retenção ajustados de alcanos de cadeia normal.

I.4.2. Resultados e Discussão

Ao final do tempo estabelecido para as extrações, apenas a espécie *B. capitata* apresentou óleo volátil. Na tabela I.2.1 estão representadas as quantidades utilizadas, em gramas, de polpa das espécies *S. romanzoffiana*, *B. capitata* e *B. lalemantii* e a quantidade de óleo volátil. A quantidade relativa de cada constituinte identificado está sumarizada na Tabela I.2.2.

Tabela I.2.1.: Representação da quantidade de material vegetal utilizado de cada espécie e a quantidade de óleo obtido.

Espécie	Massa de material vegetal (g)	Rendimento da extração (ml)
<i>B. capitata</i>	155,1	< 0,1
<i>B. lalemantii</i>	45,5	n.d.*
<i>S. romanzoffiana</i>	15,0	n.d.*

*n.d. (não houve detecção de óleo volátil).

Tabela I.2.2.: Composição percentual relativa dos constituintes voláteis de *B. capitata*

Constituintes	IK*	Teor percentual
Alfa-humuleno	1454	1,6
Alfa-muroleno	1495	2,1
Beta-cariofileno	1418	12,2
Beta-elemeno	1391	1,5
Biclogermacreno	1494	20,1
Espatuleno	1571	2,5
Gama-cadineno	1527	1,6
Germacreno D	1580	8,2
Óxido de cariofileno	1569	2,6
Ácido hexadecanóico	1963	36,4
Compostos não identificados		12,0
Total de identificados		88,8

*Índice de Kovats em coluna DB5

O componente majoritário do óleo foi o ácido hexadecanóico (ácido palmítico) que também se mostrou presente no óleo fixo extraído da polpa desta espécie. Esse ácido graxo pode ser relacionado com a palatabilidade das frutas (de CASTRO et

al., 2004). Na forma livre ou como éster etílico, este composto também contribui para o aroma da frutas (GALLART *et al.*, 1997)

O biciclogermacreno, com 20,1%, é o segundo componente em maior teor, onde pesquisas demonstram que este composto tem sido associado à atividade antifúngica e antimicrobiana (da SILVA *et al.*, 2007). O β -cariofileno (12,2 %) tem sido citado na literatura por possuir diversas atividades biológicas, dentre as quais destacam-se a ação antimicrobiana sobre *Escherichia coli*, *Baccillus megathecium* e *Candida albicans*, espasmolítica, antiedematogênica e moderada atividade antimalárica sobre as formas intraeritrocitárias do *Plasmodium falciparum* (Suyenaga, 1997). Além disso, possui aroma herbal adocicado (OSORIO *et al.*, 2006; ALMEIDA *et al.*, 2005; da SILVA *et al.*, 2004).

O alfa-humuleno (1,6 %) é caracterizado pelo aroma “green” (OSORIO *et al.*, 2006) e sua propriedade antiinflamatória tem estado em evidencia atualmente devido a composição deste como ativo do medicamento fitoterápico ACHEFLAN[®], utilizado com antiinflamatório de ação local. O teor deste composto no óleo de *Cordia verbenaceae* DC, é preconizado em 2,3-2,9% (ANVISA, 2008).

As espécies *Butia lalemantii* e *Syagrus romanzoffiana* não apresentaram óleos na extração realizada. Além de não ser comum relatos na literatura de presença de óleo volátil para espécies da família Arecaceae, a quantidade de fibras e resinas na polpa fresca de *S. romanzoffiana* dificultou de forma profunda a extração, impedindo a obtenção de óleo por este método extrativo.

Além disso, aroma das frutas é influenciado por diversos fatores, incluindo estágio de maturação, concentrações atmosféricas de oxigênio e dióxido de carbono, tempo de estocagem, bem como variações sazonais, climáticas (HANSEN *et al.*, 1992).

PARTE 3

Determinação do teor de compostos fenólicos totais e avaliação do perfil cromatográfico dos mesocarpos das espécies de Arecaceae

I.5. Introdução

Os compostos fenólicos de plantas enquadram-se em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas e apresentam grande diversidade estrutural. O grupo dos flavonóides e dos ácidos fenólicos são os de maior ocorrência entre os metabólitos secundários presentes em frutas (SENEVIRATE *et al.*, 2008).

Os compostos fenólicos estão relacionados com importantes funções fisiológicas e morfológicas nos vegetais, como defesas contra estímulos agressivos, alelopatia, sinalização hormonal entre outros (CARVALHO *et al.*, 1999). Nos sistemas biológicos exibem muitas ações como antiinflamatória, antialérgica, antibacteriana, cardioproteção e ação antioxidante (HAVSTEEN, 2002; PAYER *et al.*, 2006).

Na Família Arecaceae estudos exploratórios da presença e identificação de compostos fenólicos não são abundantes. No entanto, para frutas com grande valor econômico e nutricional agregado como o coco e o açaí são reportadas identificações desses compostos.

Nos extratos aquosos e purificados por partição com acetato de etila, através de análise por LC/MS foram identificados catequina, e epicatequina (4→2) em *Cocos nucifera* Linn. variedade *typical* (coco). Esses extratos se apresentaram fortemente ativos frente à *Leishmania amazonensis* (MHO/BR/76/Ma-5) na concentração de 10 µg/ml, após 60 minutos de incubação (MENDONÇA-FILHO *et al.*, 2004).

Posteriormente SEVERATNE e colaboradores (2006) investigaram a presença de fenóis na água de coco e identificaram também, com o auxílio de LC/MS os compostos: ácido caféico, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico e catequina. Muitos compostos com espectro de ultravioleta comum a flavonóides e ácidos fenólicos permaneceram sem identificação devido à complexidade do cromatograma e padrões de fragmentações desconhecidos.

SCHAUS e colaboradores (2006) identificaram os esteróides beta-sitosterol, campesterol e estigmasterol e os flavonóides homorientina, orientina, isovitexina, escoparine, taxifolina desoxiesose nos frutos de açai (*Euterpe oleraceae* Mart.). Outros 7 compostos com absorções no UV típicas de flavonóides tiveram a identificação realizada por LC/MS (SCHAUS *et al.*, 2006). Nesta mesma espécie, GALLORI e colaboradores (2004) já haviam identificado no extrato hidroalcoólico dos frutos liofilizados os compostos homorientina, orientina, isovitexina e taxifolina desoxiose (Figura I.2.1), em análises por LC/DAD e LC/MS. Estes pesquisadores também não conseguiram identificar a maioria dos compostos presentes no cromatograma (GALLORI *et al.*, 2004).

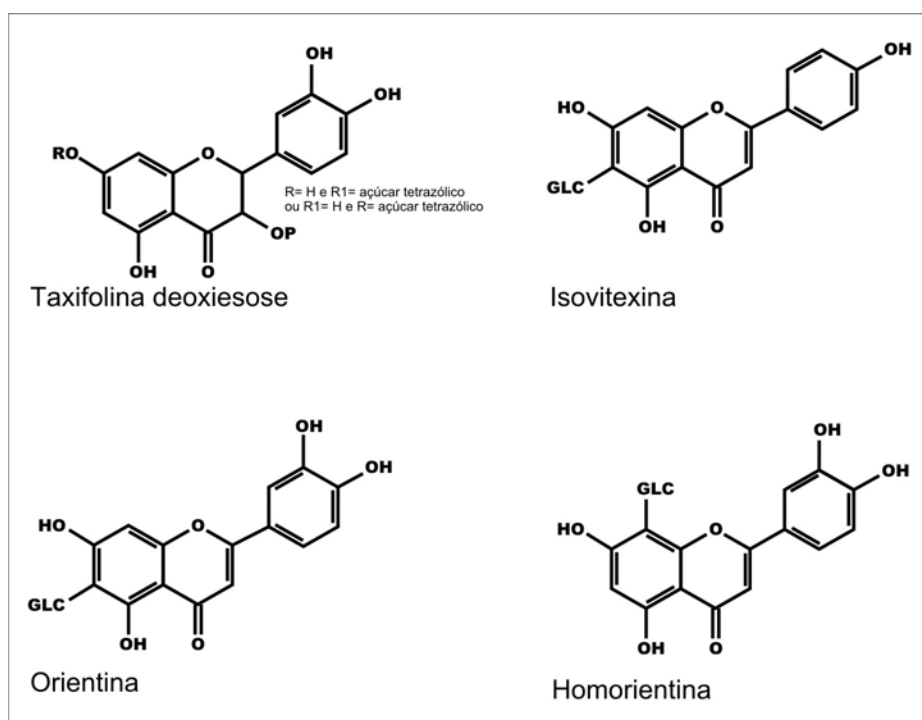


Figura I.2.1: Representação das estruturas da taxifona deoxiesose, isovitexina, orientina e homorientina.

MANSOURI e colaboradores (2005) investigaram a composição do extrato metanólico dos frutos de *Phoenix dactylifera*, os quais são muito apreciados pela população africana. Análises em LC/MS permitiram identificar três isômeros do ácido 5-O-cafeoilchiquimico, ácido sinápico, ácido cinâmico, coumaroilquinico. Outros 13 compostos fenólicos permaneceram sem identificação (MANSOURI *et al.*, 2005).

Estudos que utilizam extratos padronizados em teor de polifenóis totais e obtidos a partir de frutas são numerosos e tem sido o ponto de partida para *screening* da espécie e investigação de atividades biológicas e farmacológicas (BALDIOLI *et al.*, 1996; ARAUJO *et al.*, 2002; TALCOTT *et al.*, 2003; TACOLOV *et al.*, 2003; HASSIMOTTO *et al.*, 2005; MANSOURI *et al.*, 2005; POZO-INSFRAN *et al.*, 2006; SCHAUSS *et al.*, 2006). A quantificação espectrofotométrica de compostos fenólicos totais é realizada utilizando diversas técnicas, todavia, as que utilizam o reagente de Folin-Ciocalteu figuram entre as mais extensivamente utilizadas (HOU, *et al.*, 2003; VALKO *et al.*, 2003; BONOLI *et al.*, 2004; NACZK *et al.*, 2004; SOUZA *et al.*, 2007).

I.5.1. Parte Experimental

I.5.1.1. Equipamentos e materiais

Foram utilizados solventes de grau analítico: metanol, etanol, hexano e ácido trifluoacético (TFA) (Nuclear, Vetec, Quimex, Synth) e grau cromatográfico: metanol e acetonitrila (Merck) e reagente de Folin-Ciocalteu (Fluka). Foi utilizada água deionizada ou ultrapurificada (Milli-Q, Millipore) no preparo de soluções.

Entre os equipamentos utilizados estão espectrofotômetro Hewlett Packard UV-VIS modelo HP 8452-A e cromatógrafo Waters 2690 acoplado a detector de arranjo de diodos Waters 996.

Os padrões autênticos de rutina, quercetina, hiperosídeo, quercetrina, ácido clorogênico e ácido caféico, provenientes da Fluka, Sigma e Merck foram utilizados para fins comparativos nas análises cromatográficas.

I.5.1.2. Determinação do teor de umidade dos mesocarpos liofilizados

Três amostras de 1,0 g dos mesocarpos liofilizados (preparados conforme item I.3.1.3), exatamente pesados, foram analisados em triplicata, utilizando balança acoplada a sistema de secagem por irradiação infravermelho (termobalança - marca Top Ray). A temperatura foi programada, com rampa de aquecimento, para 105 °C. As amostras foram homogeneamente distribuídas em pratos de alumínio previamente dessecados em estufa (105 °C/1 hora). Os resultados foram fornecidos

pelo equipamento em perda de massa percentual e foi calculada a média e desvio padrão para a triplicata.

I.5.1.3. Preparo da solução extrativa para a análise do teor de polifenóis totais

Para a obtenção da solução extrativa, 2 g de polpa liofilizada (conforme descrito em I.3.1.3.) foram submetidas à decocção a 95 °C com 150,0 ml de água, durante 30 min. Após o resfriamento em água corrente, a solução extrativa foi transferida para balão volumétrico de 250,0 ml e o volume completado com água. A solução foi filtrada em papel filtro e os primeiros 50,0 ml desprezados (Ph. Eur., 2002).

I.5.1.4. Determinação dos polifenóis totais

A determinação dos polifenóis totais foi realizada conforme descrito no Método Geral para quantificação de taninos da Ph. Eur. (2002). Para tal, 5,0 ml da solução extrativa, preparada conforme descrito o item I.5.1.3., foram diluídos a 25,0 ml com água destilada. Em balão volumétrico de 25,0 ml foram adicionados: 3,0 ml de reagente Folin-Ciocalteu, 10 ml de água destilada, 2 ml de solução extrativa diluída e solução de carbonato de sódio a 20 % q.s.p.. A leitura da absorvância foi realizada em 760 nm, 30 minutos após a adição do reagente oxi-redutor. O branco constituído por 2,0 mL de água destilada, 3,0 mL do reagente de Folin-Ciocalteu em água destilada q.s.p. 25,0 mL. As operações de extração e diluição foram realizadas com proteção da luz.

A possibilidade de saturação do reagente de Folin-Ciocalteu em determinações de fenóis foi observada por MARTINS (1998). Embasados nisso e sabendo que frutas frequentemente apresentam elevados teores de polifenóis totais, utilizamos o liofilizado da espécie *B. capitata* (coleta 2006) e quantidade de 0,5, 1, 2, 3, 4 e 5 ml de reagente de Folin-Ciocalteu para verificarmos qual a quantidade ideal deste a ser utilizada.

O cálculo de determinação do teor de polifenóis totais foi realizado levando-se em consideração a absortividade molar do pirogallol, absorvância da amostra, massa de material vegetal utilizada e teor de umidade desta (Ph. Eur. 2002). Os ensaios

foram realizados em triplicata e os valores expressos em g % de pirogalol e avaliados através de ANOVA.

I.5.1.5. Preparação dos extratos metanólicos para avaliação do perfil cromatográfico

Os extratos metanólicos foram preparados segundo TSAI (2007). A 5 g de liofilizado, foram adicionados 100 ml de Metanol P.A. e em seguida levados a agitador mecânico orbital durante 24 horas. Decorrido o tempo da extração, a solução foi filtrada e o solvente eliminado em evaporador rotatório a vácuo com temperatura de 40 °C. Os extratos obtidos foram armazenados em dessecador, sob proteção da luz, até a realização das análises por cromatografia líquida de alta eficiência.

O teor de polifenóis totais, utilizando 0,5 g deste extrato, também foi avaliado, seguindo a técnica descrita no item I.5.1.4.

I.5.1.6. Análise cromatográfica

O sistema cromatográfico foi desenvolvido em cromatógrafo Waters 2690 acoplado a detector de arranjo de diodos Waters 996 (200 a 400 nm), coluna analítica Phenomenex Luna C₁₈ (5 µm; 4,6 x 150 mm d.i.), pré-coluna Lichrospher Merck (37-55 µm; 4,0 x 10,0 mm d.i.), e volume de injeção foi de 10 µl. Todas as amostras foram ressuspensas em 2,0 ml de metanol e previamente filtradas em membrana filtrante hidrofóbica (0,45 µm; 13 mm HV-Durapore; Millipore). A fase móvel foi composta de H₂O:MeOH:TFA (95:5:0,08) na via A e MeOH/TFA (100:0,08) na via B, filtradas com membrana filtrante (0,45 µm; Millipore) e desaeradas em banho de ultra-som. O gradiente de eluição selecionado para o desenvolvimento dos cromatogramas está representado na Tabela I.3.1.

Tabela I.3.1.: Sistema em gradiente linear utilizado para desenvolvimento do método de CLAE.

Tempo (min.)	Fluxo (ml/min.)	Via A (%)
0	0,5	95
8	0,5	75
30	0,4	64
35	0,4	61
70	0,5	40
75	0,5	15
77	0,5	5
80-85	0,5	0

I.5.2. Resultados e Discussão

I.5.2.1. Polifenóis totais

A figura I.3.1 apresenta os valores de reagente utilizados e sua influência no teor de polifenóis calculados. Esta determinação foi realizada para verificar se não ocorria a saturação reagente pela amostra. Foram testados volumes crescentes do reagente Folin-Ciocalteu frente a volumes fixos da solução extrativa preparada conforme o item I.5.1.3. e obtida a partir do liofilizado de *B. capitata* coleta de 2005. Os volumes de 3 e 4 ml de reagente não apresentaram diferença significativa ($p < 0,5$). Portanto, o volume de 3 ml de reagente foi utilizado para a determinação do teor de polifenóis de todas as espécies, tendo em vista que a coleta de 2005 apresentou o maior teor de polifenóis totais.

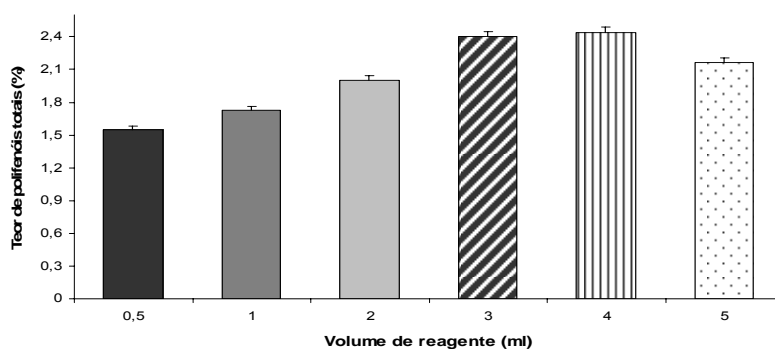


Figura I.3.1: Determinação do volume de Folin-Ciocalteu para a realização da quantificação de polifenóis.

Os resultados obtidos na determinação dos fenóis totais (FT), utilizando amostras liofilizadas, pelo método de Folin-Ciocalteu, expressos em g % de

pirogalol são apresentados na Figura I.3.1. A espécie *Butia capitata* apresentou maior teor de FT em relação as outras espécies. O menor teor de FT foi apresentado pela espécie *S. romanzoffiana*.

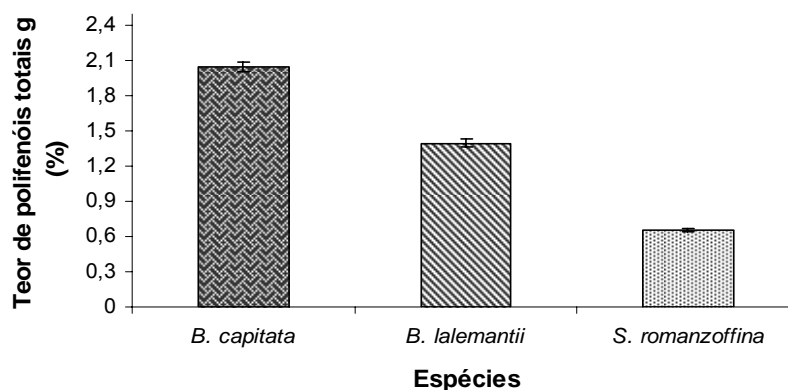


Figura I.3.2.: Teor de polifenóis totais determinado nas espécies *Butia capitata*, *Butia lalemantii* e *Syagrus romanzoffiana*.

Os teores de FT para as três coletas da espécie *B. capitata* estão representados na Figura I.3.2 na qual podem ser observadas diferenças significativas nos teores desses compostos. Variações nos teores de metabólitos secundários em função das condições edafoclimáticas são bem descritas na literatura o que pode justificar a diferença encontrada nos teores, uma vez que as coletas não foram realizadas na mesma época, devido ao fato de variações climáticas acarretarem o amadurecimento dos frutos em épocas distintas.

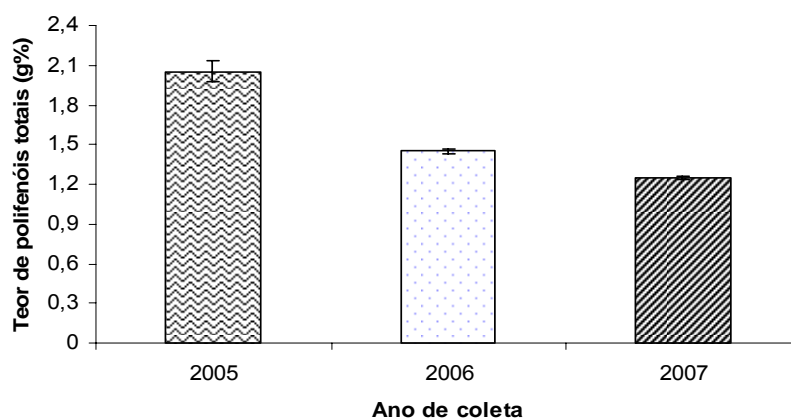


Figura I.3.3.: Variação do teor de polifenóis totais nas diferentes coletas de *B. capitata*

Os teores de FT para extratos metanólicos das três espécies, preparados conforme descrito no item I.5.1.5, estão representados na Tabela I.3.2. O extrato da

espécie *B. capitata* apresentou maior teor em relação às demais. Este ensaio foi realizado com estes extratos metanólicos pois os valores obtidos foram utilizados no Capítulo II, referente aos ensaios farmacológicos.

Tabela I.3.2.: Teor de polifenóis totais nos extratos de *Butia lallemantii*, *Syagrus romanzoffina*, *Butia capitata* coletados em 2007.

Espécie	Teor de polifenóis totais de pirogalol (g %)
<i>Butia lallemantii</i>	4,85 ± 0,08
<i>Syagrus romanzoffina</i>	3,36 ± 0,08
<i>Butia capitata</i>	4,95 ± 0,1

I.5.2.2. Avaliação do perfil cromatográfico dos extratos metanólicos

Para a determinação do sistema ideal para a avaliação do perfil cromatográfico das amostras de *Butia capitata* (coletas 2005, 2006 e 2007), *Butia lallemantii* e *Syagrus romanzoffina* foram testados sistemas isocrático e gradiente de eluição, diferentes composições de fase móvel, bem como colunas cromatográficas de diferentes especificações. O sistema cromatográfico selecionado, descrito no item I.5.1.6. se mostrou mais adequado para a visualização dos constituintes dos extratos.

Após a obtenção dos cromatogramas, foi possível a constatação da presença de compostos pertencentes às classes de ácidos fenólicos e flavonóides, como esperado, devido a realização prévia da quantificação através de técnica espectrofotométrica de oxi-redução. Sendo assim, foram selecionados os comprimentos de onda de 320 nm para avaliação dos ácidos fenólicos e 360 nm para os flavonóides, pois nestes, os cromatogramas apresentaram picos com maior intensidade de absorção.

Na Figura I.3.4 e Figura I.3.5 observa-se a sobreposição dos cromatogramas obtidos com os extratos das três coletas de frutos da espécie *Butia capitata* no comprimento de onda de 320 nm e 360 nm, respectivamente.

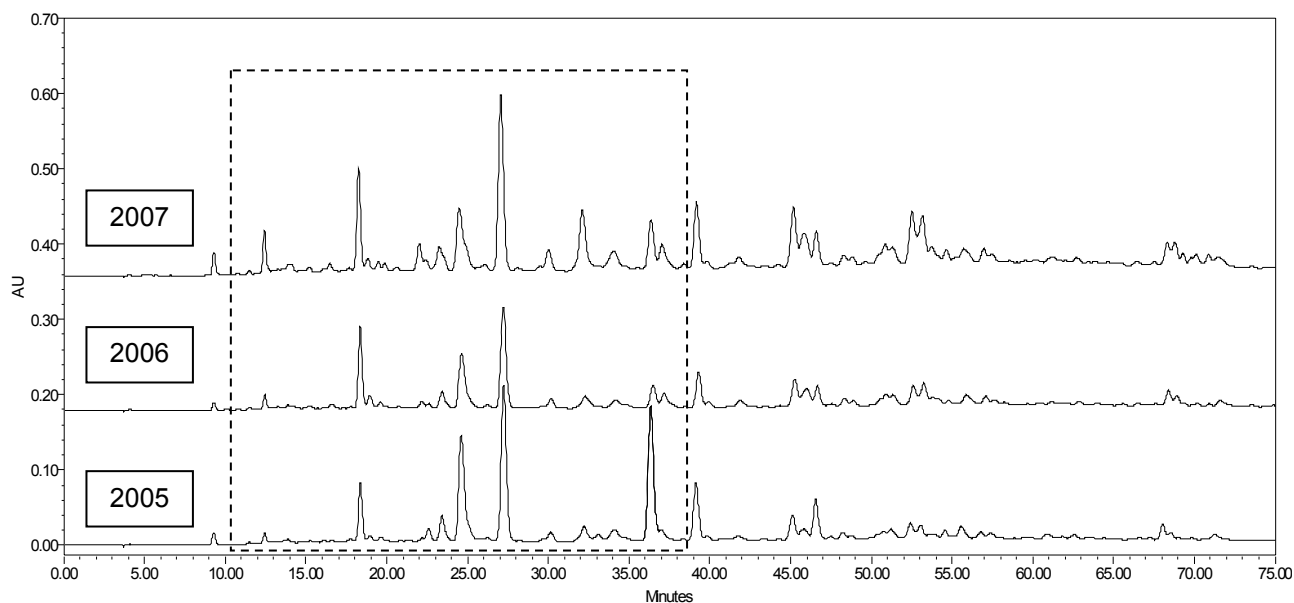


Figura 1.3.4.: Sobreposição de cromatogramas de extratos de *B. capitata* (coleta 2005, 2006 e 2007) no comprimento de onda de 320 nm – região de ácidos fenólicos (- - -).

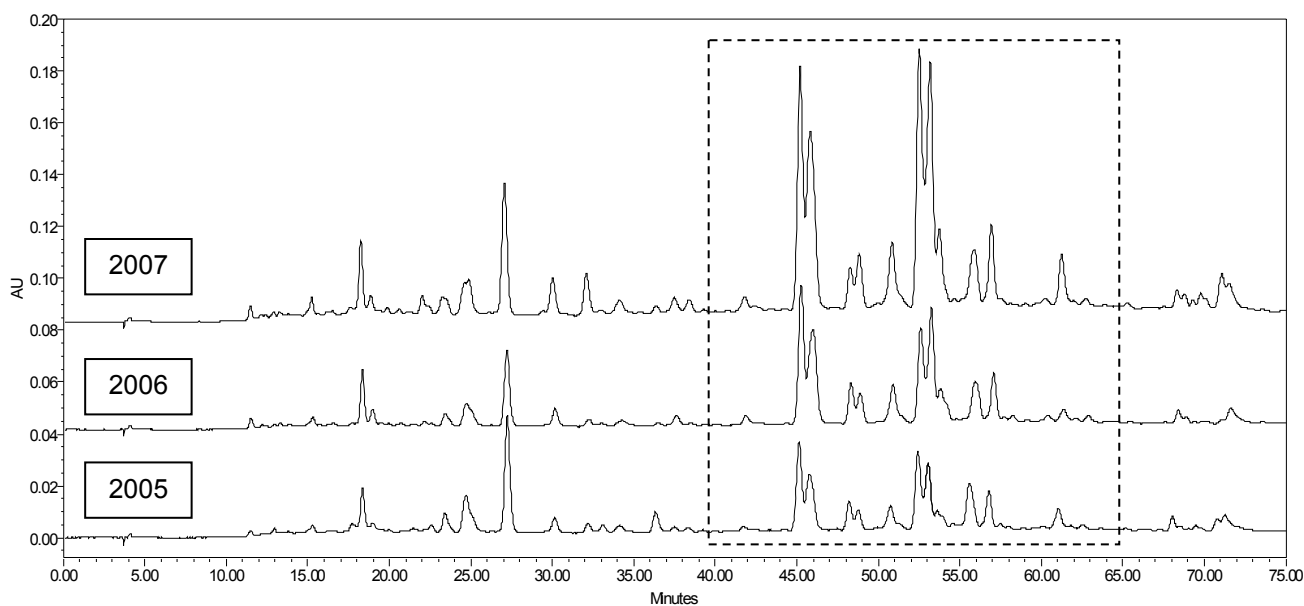


Figura 1.3.5.: Sobreposição de cromatogramas de extratos de *B. capitata* (coleta 2005, 2006 e 2007) no comprimento de onda de 360 nm – região de flavonóides (- - -).

Após análise do perfil cromatográfico, em 320 nm, obtido para as três coletas observou-se a baixa variabilidade de composição nos diferentes anos de coleta. Para a amostra de 2005, observou-se a maior intensidade dos picos nos tempos de retenção de aproximadamente 25 e 37 minutos. Por outro lado, para o exemplar de 2007 os picos nas regiões de 18 a 22 e 32 a 34 minutos apresentaram maior

intensidade em área quando comparado aos demais cromatogramas. A região correspondente aos flavonóides, em 360 nm, não apresentou variação entre o número de picos, somente foi observado maior intensidade dos picos referentes a coleta de 2007.

Buscando maiores informações sobre os núcleos das classes químicas de ácidos fenólicos e flavonóides presentes nas espécies estudadas, foram injetados padrões de referência como ácido caféico ($\lambda_{\max}= 237.9/323.7$) e ácido clorogênico ($\lambda_{\max}= 242.7/328.5$), representando os ácidos fenólicos. Para identificação dos núcleos flavonoídicos, foram injetados padrões de referência de rutina, quercetrina e isoquercetrina ($\lambda_{\max}= 256.9/352.5$), quercetina ($\lambda_{\max}= 252.2/370.2$), hiperosídeo ($\lambda_{\max}= 256.9/356.4$), luteolina ($\lambda_{\max}= 252.2/347.7$) e canferol ($\lambda_{\max}= 266.4/365.4$) para fins comparativos (Figura I.3.6.).

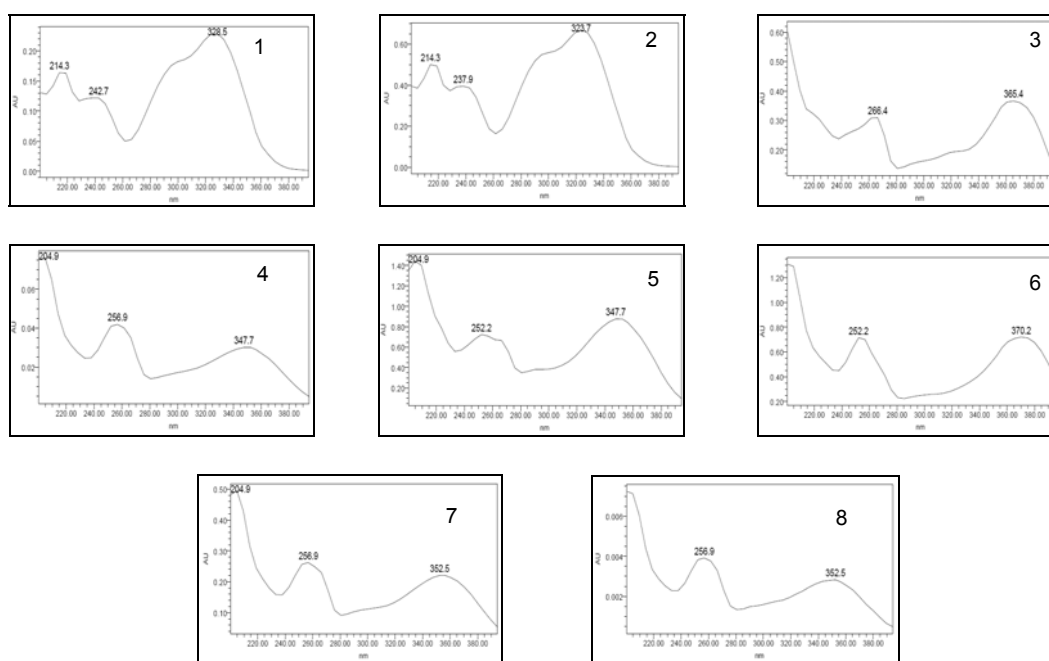


Figura I.3.6.: Espectros de ultravioleta obtidos dos picos cromatográficos referentes aos padrões de referência (1) ácido clorogênico, (2) ácido caféico, (3) canferol, (4) catequina, (5) luteolina, (6) quercetina, (7) quercetrina e (8) rutina.

Observou-se o máximo de absorção dos espectros de ultravioleta fornecidos pelo detector para os picos selecionados previamente nos cromatogramas, em 320

nm, identificando semelhanças com os padrões de referência para ácidos fenólicos (Figura I.3.7.).

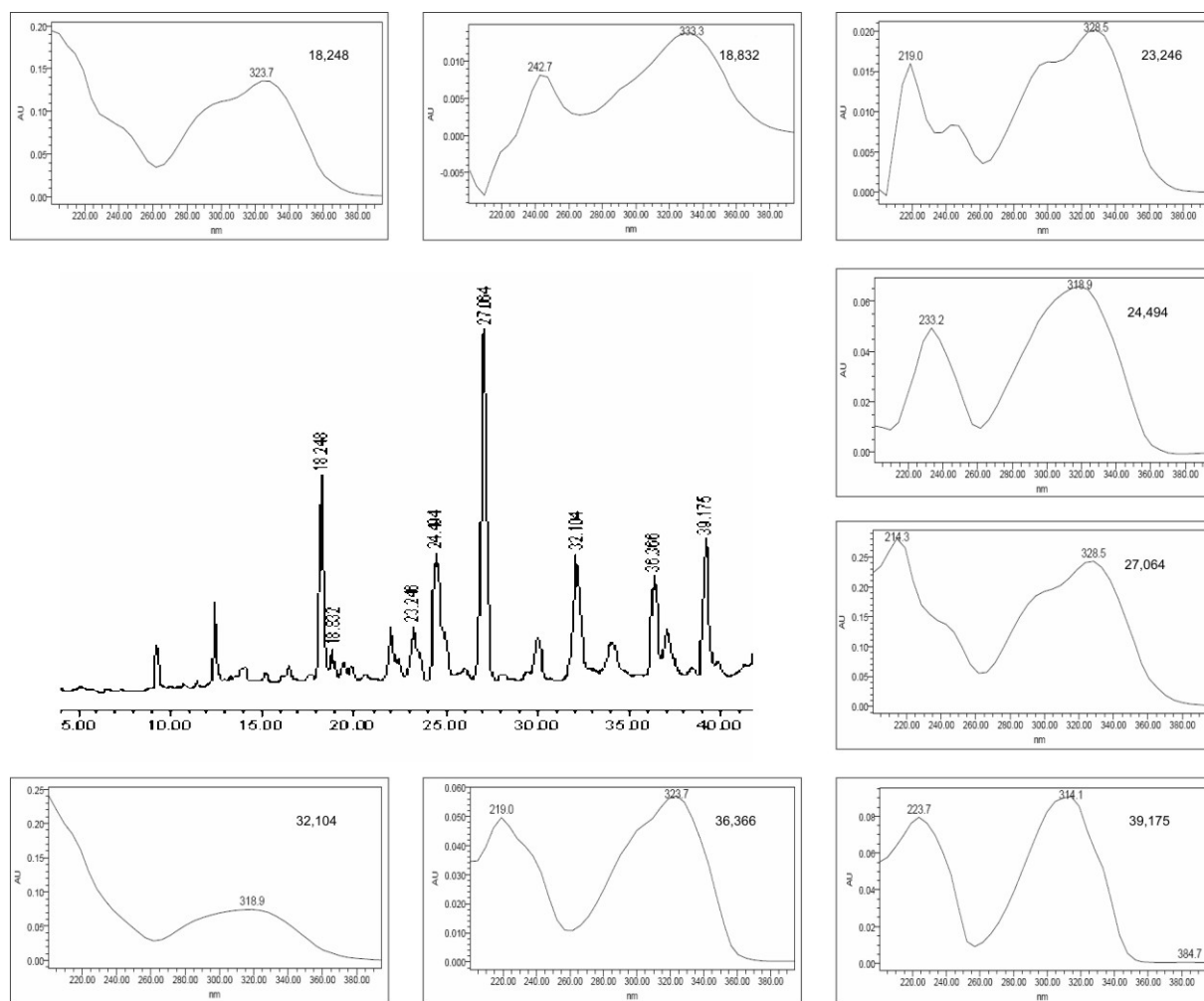


Figura I.3.7.: Cromatograma de *B. capitata*, com região de 5 a 45 minutos ampliada, observado no comprimento de onda de 320 nm – derivados de ácidos fenólicos.

O cromatograma avaliado em 320 nm, apresentou 8 picos de substâncias que possuem correlação com o núcleo de ácidos fenólicos. Considerando os máximos de absorção e perfil de espectro ultravioleta do ácido clorogênico e do ácido caféico, 6 destes picos (18.978 min.; 18.356 min.; 23.418 min.; 27.238 min.; 34.093 min.; 36.345 min.) apresentam similaridade e, sendo assim, possibilidade de serem derivados destas substâncias. Os outros picos nos tempos de retenção de 24.601 e 39.143 minutos também podem ser considerados derivados de outros ácidos fenólicos. A sobreposição dos cromatogramas dos picos do ácido clorogênico e caféico com aqueles obtidos com a amostra de *B. capitata*, observou-se similaridade nos tempos de retenção. Porém, devido ao fato da grande quantidade de picos

cromatográficos observados na mesma região, a resolução do cromatograma foi prejudicada impossibilitando a certeza da presença dos padrões. No entanto, é possível afirmar que existem substâncias químicas derivadas destes padrões.

Para observação dos flavonóides, o comprimento de onda de 360 nm foi selecionado para obtenção dos máximos de absorção dos picos selecionados (Figura I.3.8).

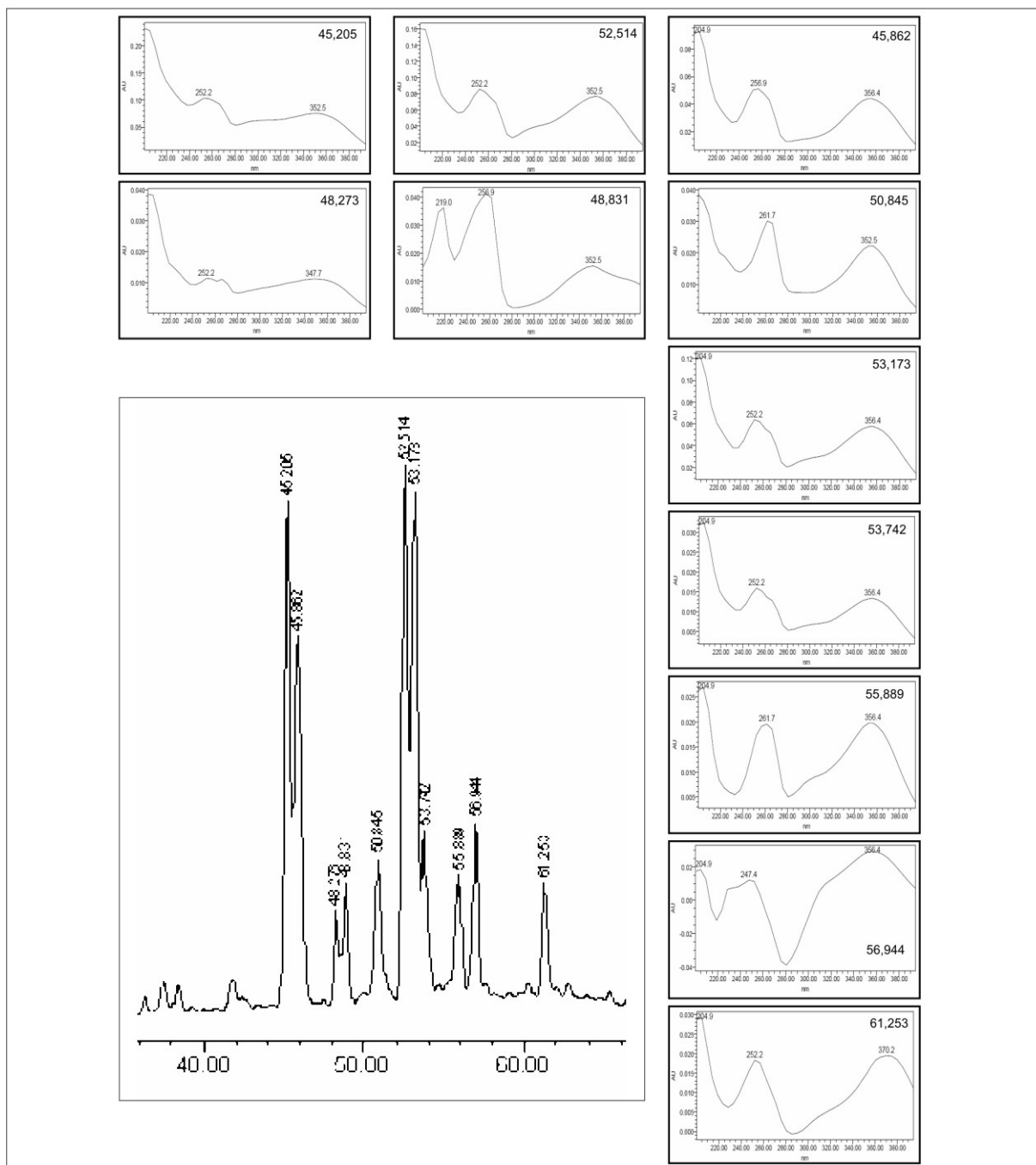


Figura I.3.8.: Cromatograma de *B. capitata*, com região de 35 a 65 minutos ampliada, observado no comprimento de onda de 360 nm – derivados de flavonóides.

Substâncias com núcleo flavonoídico também foram avaliadas em 360 nm, observando a presença de 11 picos com espectros de ultravioleta com máximos de absorção e perfil de espectro semelhantes aos dos padrões de referência utilizados na comparação. A maioria das substâncias observadas apresentou dois valores de máximos de absorção (λ_{\max} = 252/356) referindo-se provavelmente à flavonóides glicosilados, bem como os outros espectros que apresentaram uma pequena variação nos λ_{\max} . No tempo de retenção de aproximadamente 61 minutos, o pico apresentou máximos de absorção semelhantes à quercetina, referindo-se possivelmente à uma aglicona. Observando o λ_{\max} dos demais picos cromatográficos, percebe-se que são derivados de substâncias de núcleo flavonol.

Realizando sobreposição dos cromatogramas dos picos de canferol, catequina, luteolina, quercetina, rutina e hiperosídeo com aqueles obtidos com a amostra de *B. capitata*, observou-se similaridade nos tempos de retenção. Porém, devido a grande quantidade de picos cromatográficos, observados na mesma região, com baixa resolução impossibilitando a certeza da presença desses padrões. No entanto, é possível afirmar que existem substâncias químicas derivadas destes padrões e de outras substâncias com núcleo flavonol.

A Figura I.3.10. está apresentando cromatograma da amostra proveniente da espécie *Butia lallemantii*, observado em 320 nm. As figuras I.3.9 e I.3.10 são referentes à ampliação das regiões referentes à ácidos fenólicos e aos flavonóides (320 e 360 nm, respectivamente).

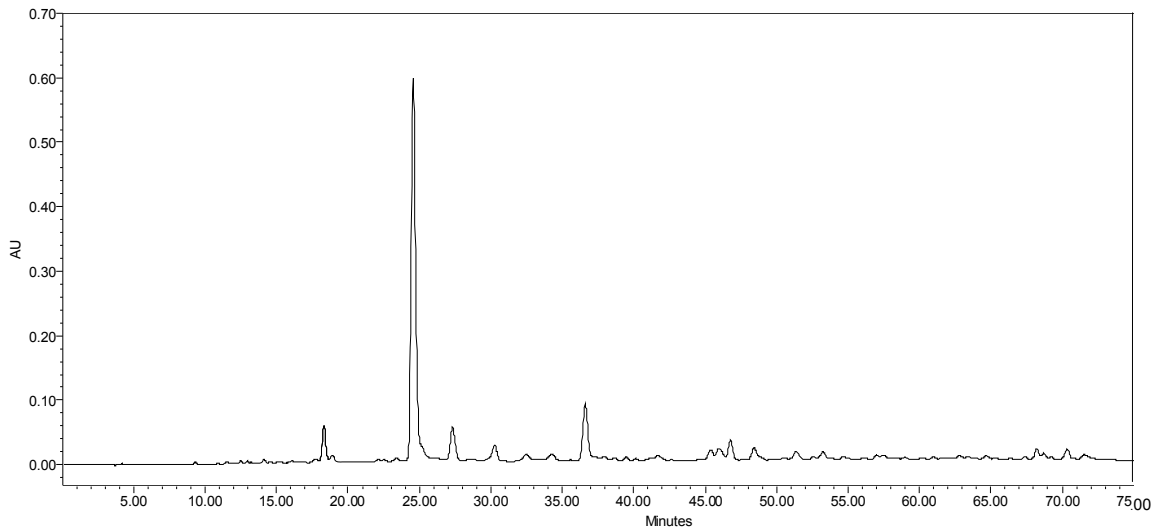


Figura I.3.9.: Cromatograma obtido com amostra de *B. lallemantii*, no comprimento de onda de 320 nm.

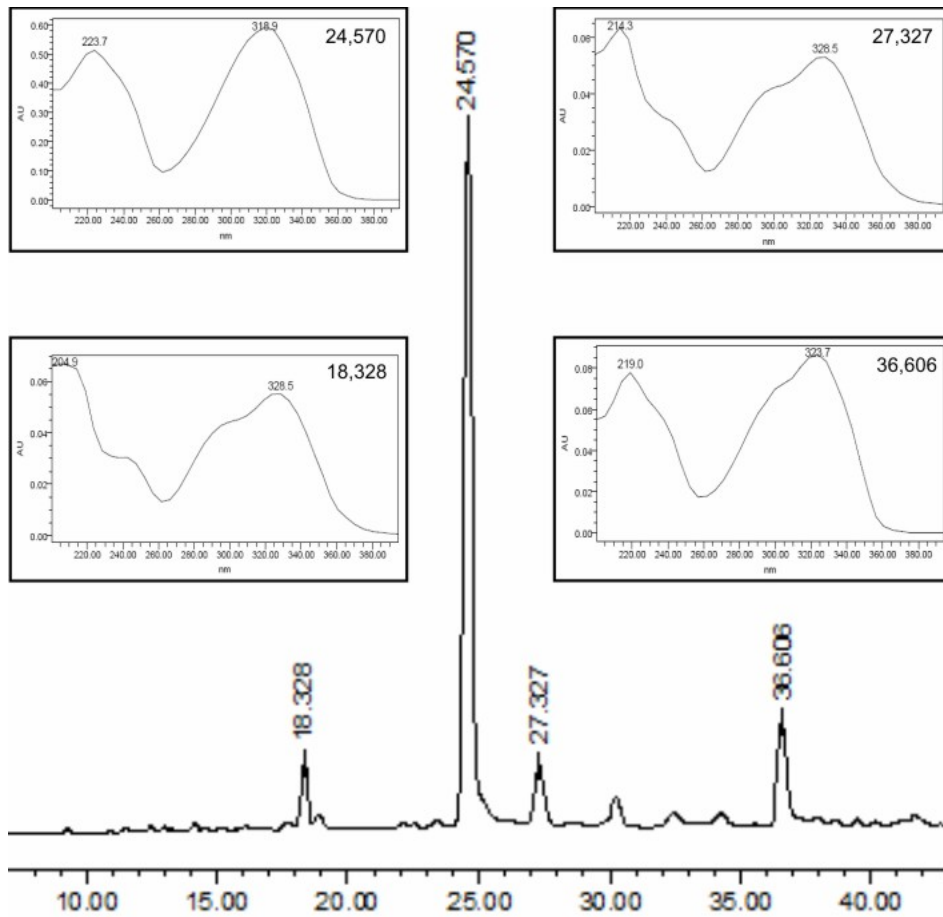


Figura I.3.10.: Cromatograma de *B.lallemantii*, com região de 5 a 45 minutos ampliada, observado no comprimento de onda de 320 nm – derivados de ácidos fenólicos.

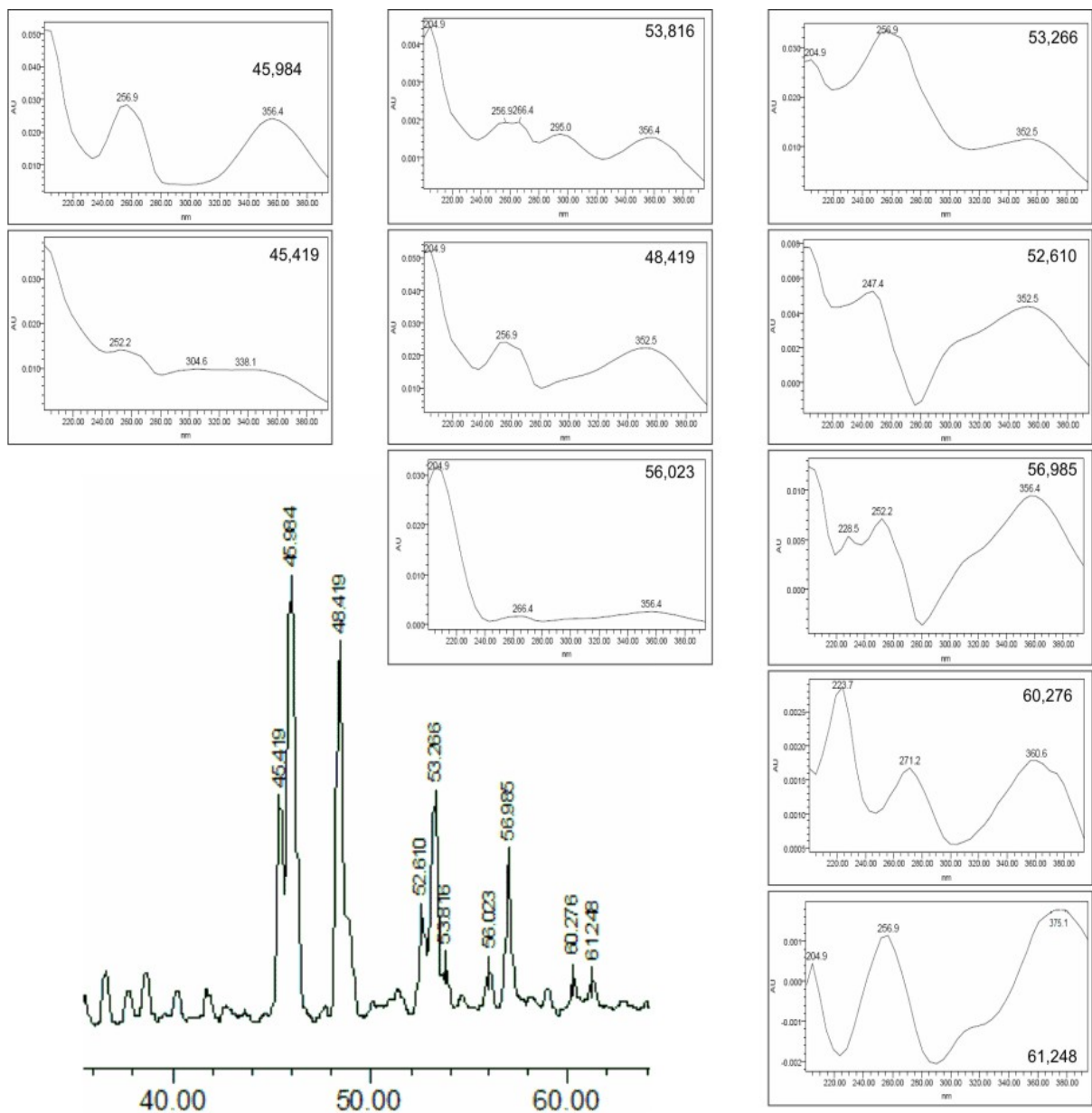


Figura I.3.11: Cromatograma de *B. lallemantii*, com região de 35 a 65 minutos ampliada, observado no comprimento de onda de 360 nm – derivados de flavonóides.

O cromatograma do extrato de *B. lallemantii* avaliado em 320 nm, apresentou 4 picos de substâncias que possuem correlação com o núcleo de ácidos fenólicos. Considerando os máximos de absorção e perfil de espectro ultravioleta do ácido clorogênico, 3 destas substâncias (18.328 min.; 27.327 min.; 36.606 min.) apresentam similaridade e, sendo assim, possibilidade de serem derivados destes compostos. Porém, não é possível confirmar presença por não termos observado a banda típica destes compostos em, aproximadamente, 240 nm. O pico no tempo de retenção de 24.570 minutos também pode ser considerado derivado de outros ácidos fenólicos.

A sobreposição dos cromatogramas dos picos do ácido clorogênico e caféico com aqueles obtidos com a amostra de *B. lallemantii*, observou-se similaridade nos tempos de retenção. Porém, o espectro de ultravioleta referente às substâncias em questão não foram idênticos, o que não descartaria a possibilidade de ser um derivado de ácidos fenólicos.

Substâncias com núcleo flavonoídico também foram avaliadas em 360 nm, observando a presença de 10 picos com espectros de ultravioleta com máximos de absorção e perfil de espectros semelhantes aos dos padrões de referência utilizados na comparação. A maioria das substâncias observadas apresentou dois valores de máximos de absorção próximos aos valores de 256/356 referindo-se provavelmente à flavonóides glicosilados. No tempo de retenção de aproximadamente 61 minutos, o pico apresentou máximos de absorção semelhantes à quercetina, referindo-se possivelmente à uma aglicona. Observando o λ_{\max} dos demais picos cromatográficos, percebe-se que são derivados de substâncias de núcleo flavonol.

A sobreposição dos cromatogramas dos picos de canferol, catequina, luteolina, quercetina, rutina e hiperosídeo com aqueles obtidos com a amostra de *B. lallemantii*, observaram-se similaridade nos tempos de retenção, mas a baixa resolução do cromatograma impossibilitou a certeza da presença dos padrões. No entanto, é possível afirmar que existem substâncias químicas derivadas destes padrões e de outras substâncias com núcleo flavonol.

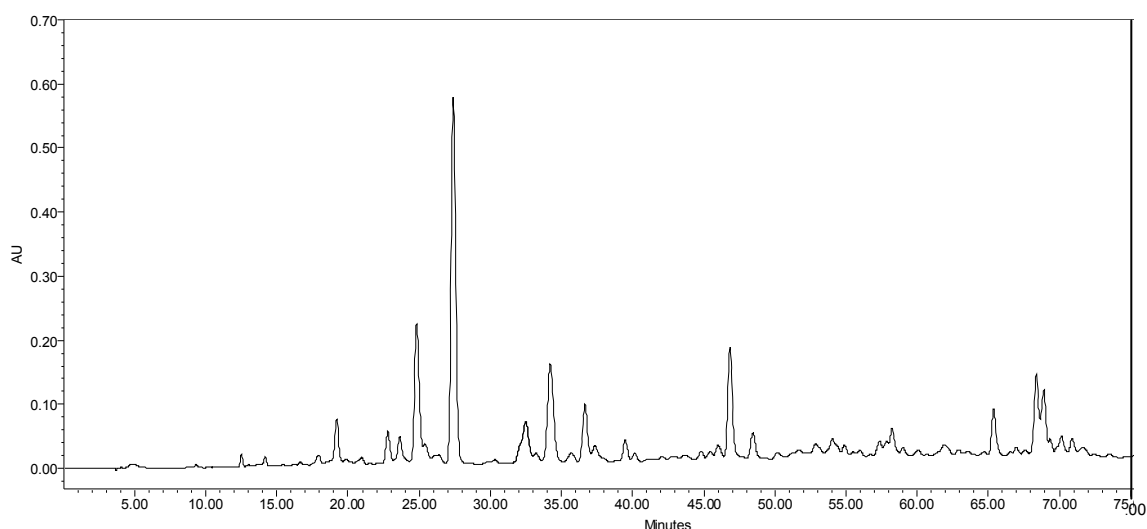


Figura I.3.12.: Cromatograma obtido com amostra de *S. romanzoffiana*, no comprimento de onda de 320 nm.

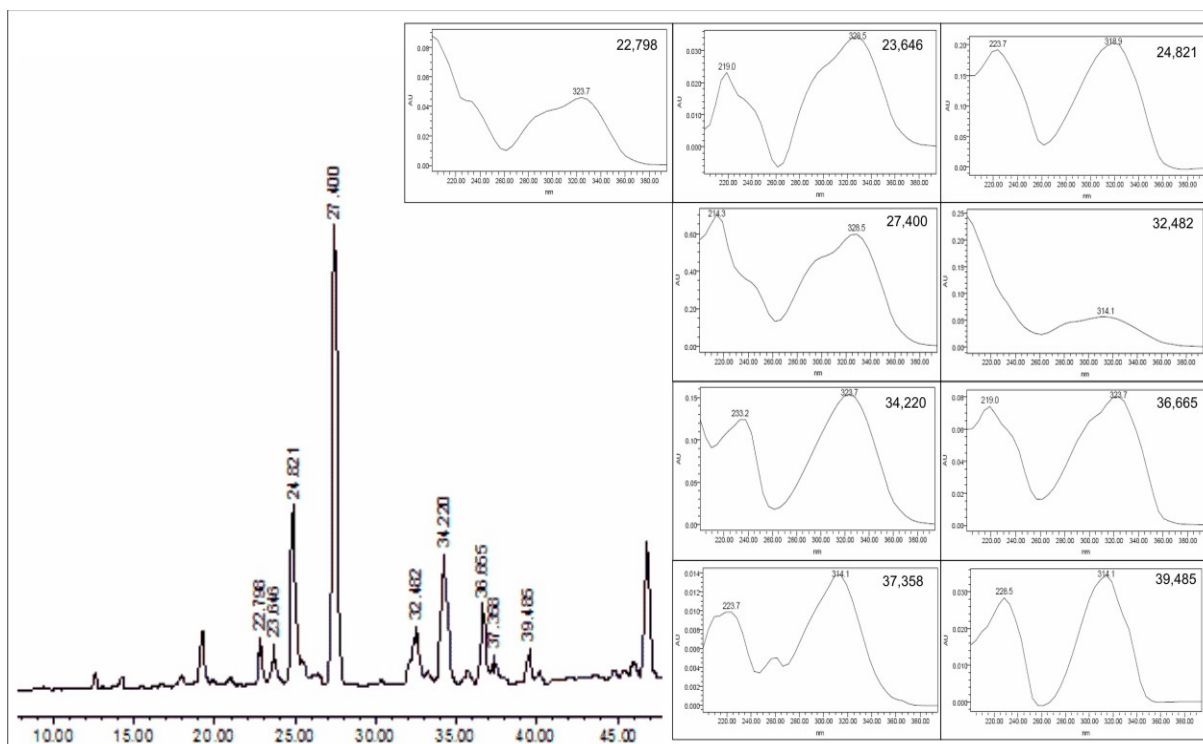


Figura I.3.13.: Cromatograma de *S. romanzoffiana*, com região de 5 a 50 minutos ampliada, observado no comprimento de onda de 320 nm – derivados dos ácidos fenólicos.

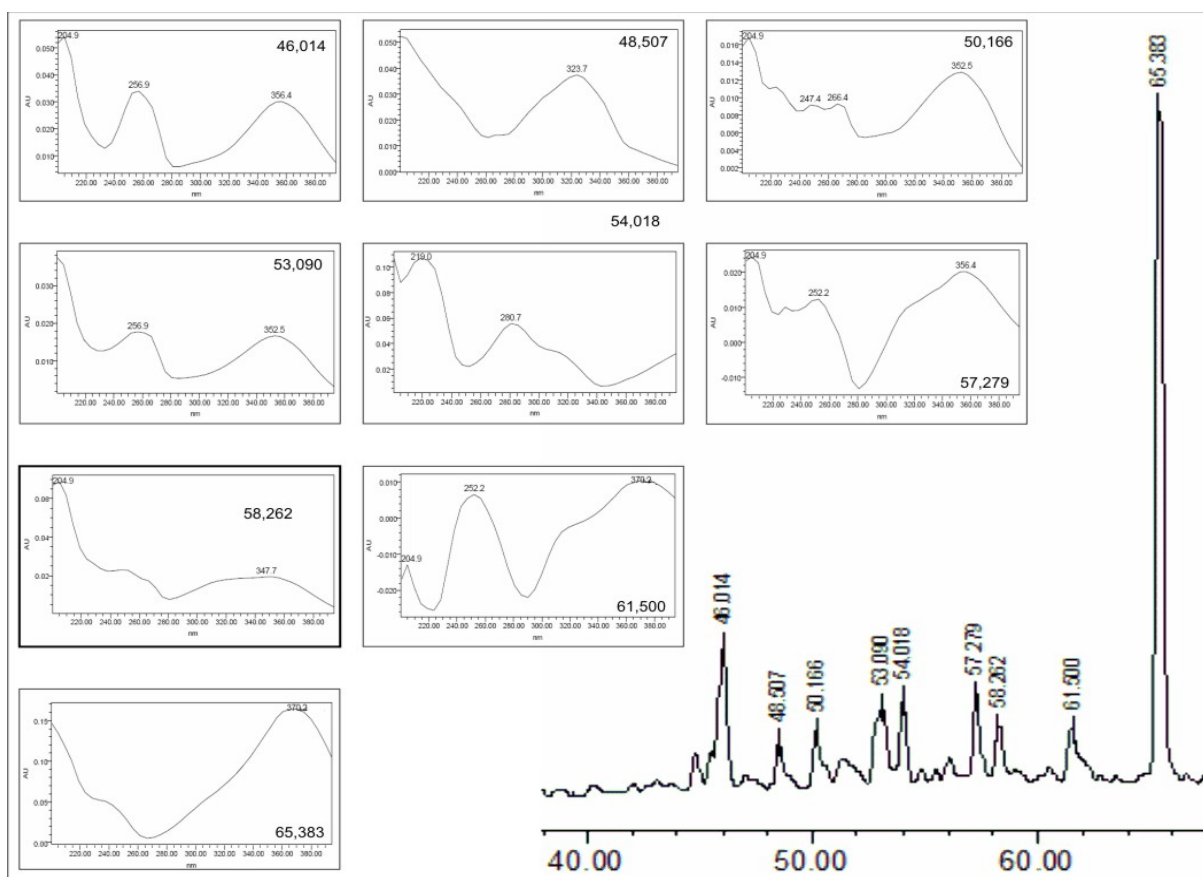


Figura I.3.14.: Cromatograma de *S. romanzoffiana*, com região de 35 a 70 minutos ampliada, observado no comprimento de onda de 360 nm – derivados dos flavonóides.

O cromatograma avaliado em 320 nm, apresentou 9 picos de substâncias que possuem correlação com o núcleo de ácidos fenólicos. Considerando os máximos de absorção e perfil de espectro ultravioleta do ácido clorogênico, 5 destas substâncias (22.798 min.; 23.646 min.; 27.400 min.; 34.220 min.; 36.665 min.) apresentam similaridade e, sendo assim, possibilidade de serem derivados destas substâncias. Porém, não observamos a banda característica em, aproximadamente, 240 nm. Os outros picos nos tempos de retenção de 24.821, 32.482, 37.358 e 39.485 minutos também podem ser considerados derivados de outros ácidos fenólicos.

Substâncias com núcleo flavonoídico também foram avaliadas em 360 nm, observando a presença de 9 picos cromatográficos, porém somente 5 com espectros de ultravioleta com máximos de absorção e perfil de espectro semelhantes aos dos padrões de referência utilizados na comparação. A maioria das substâncias observadas apresentou dois valores de máximos de absorção próximos aos valores de 256/356 referindo-se provavelmente à flavonóides. No tempo de retenção de aproximadamente 61 minutos, o pico apresentou máximos de absorção semelhantes à quercetina, referindo-se possivelmente à uma aglicona. Observando o λ_{\max} dos demais picos cromatográficos, percebe-se que são derivados de substâncias de núcleo flavonol.

Realizando sobreposição dos cromatogramas dos picos de canferol, catequina, luteolina, quercetina, rutina e hiperosídeo com aqueles obtidos com a amostra de *S. romanzoffiana*, observou-se similaridade nos tempos de retenção. Porém, devido ao fato da grande quantidade de picos cromatográficos observados na mesma região, a resolução do cromatograma foi prejudicada impossibilitando a certeza da presença dos padrões. No entanto, é possível afirmar que existem substâncias químicas derivadas destes padrões e de outras substâncias com núcleo flavonol.

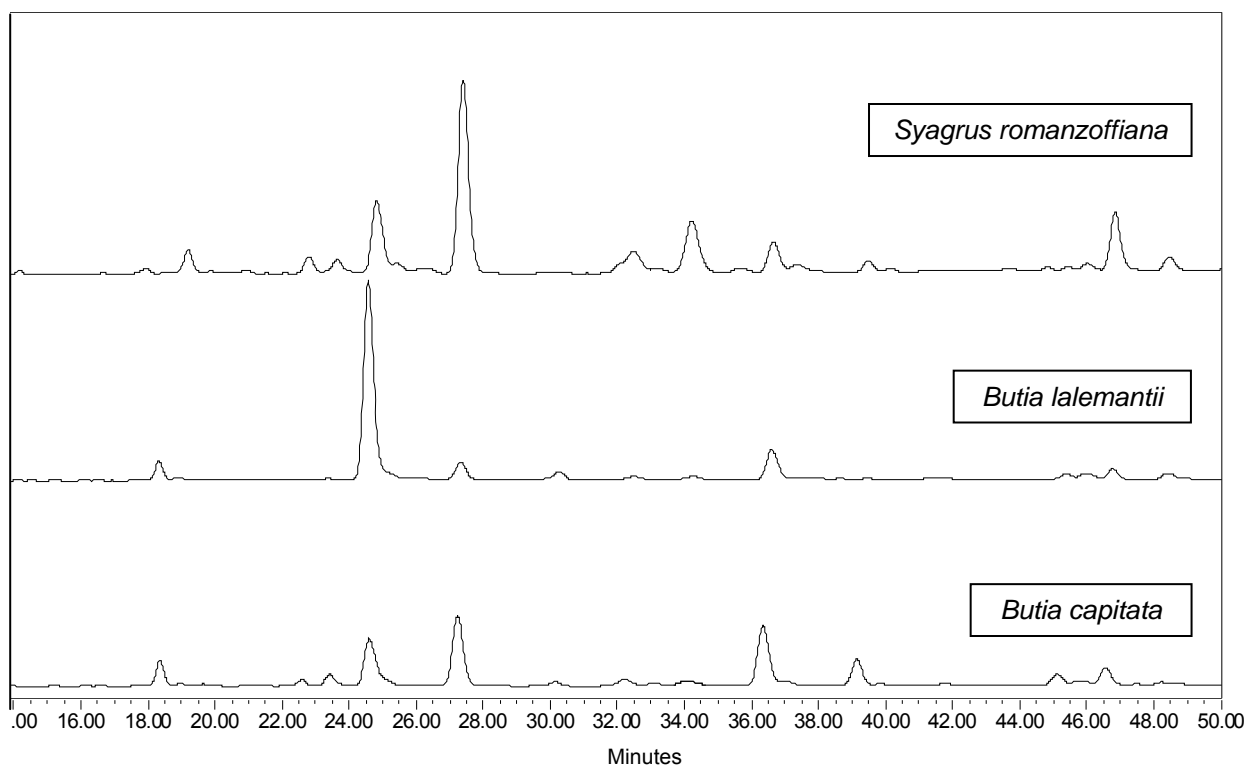


Figura I.3.15.: Comparação dos cromatogramas obtidos com amostras das espécies *B. capitata*, *B. lallemantii* e *S. Romanzoffiana*, no comprimento de onda de 320 nm.

Comparando os cromatogramas entre si das três espécies estudadas observou-se que existiu similaridade entre os perfis cromatográficos. Isto pode ser comprovado pela presença de picos cromatográficos com espectros de ultravioleta e máximos de absorção muito próximos nos tempos de retenção de, aproximadamente, 24.6, 27.3 e 36.6 minutos, variando apenas em termos quantitativos. Deve-se ressaltar que o cromatograma obtido para a espécie *B. capitata* apresentou deslocamento de 0.2 minutos, aproximadamente, nos tempos de retenção.

As espécies *B. capitata* e *S. romanzoffiana* apresentaram maior similaridade entre os cromatogramas quando comparados com *B. lallemantii*. Os picos cromatográficos nos tempos de retenção de, aproximadamente, 23.4, 34.1 e 39.2 minutos, nos cromatogramas das duas primeiras espécies mencionadas, apresentaram λ_{\max} e espectros de ultravioleta muito semelhantes, variando em termos quantitativos. A principal diferença entre as espécies foram os picos em 32.5 que apresenta λ_{\max} de ácido fenólico.

A presença de 2 picos cromatográficos na região de 22 a 24 minutos e outro em, aproximadamente 39 minutos para a espécie de *B. capitata* podem ser considerados constituintes chave, distinguindo-a da espécie *B. lallemantii*. Para os cromatogramas de *S. romanzoffiana* e *B. lallemantii*, os picos na região de 22 a 24 minutos, 32.5, 34.1 e 39.2 minutos poderiam diferenciar as espécies.

Outra observação que pode ser feita foi que o pico cromatográfico no tempo de retenção de, aproximadamente, 18 minutos esteve presente nas três espécies, porém, quando observados os λ_{\max} não foi possível afirmar tratar-se de mesma substância no caso das espécies de *Butia*. Já, para *S. romanzoffiana*, o λ_{\max} não correspondeu a derivado de ácido fenólico. Este fato também pode ser observado no pico cromatográfico presente no tempo de retenção de 32.5 minutos no cromatograma de *S. romanzoffiana* e de *B. capitata*. No cromatograma da primeira espécie este pico possui λ_{\max} correspondente a derivado de ácido fenólico e o mesmo pico para a outra espécie não possui a mesma característica.

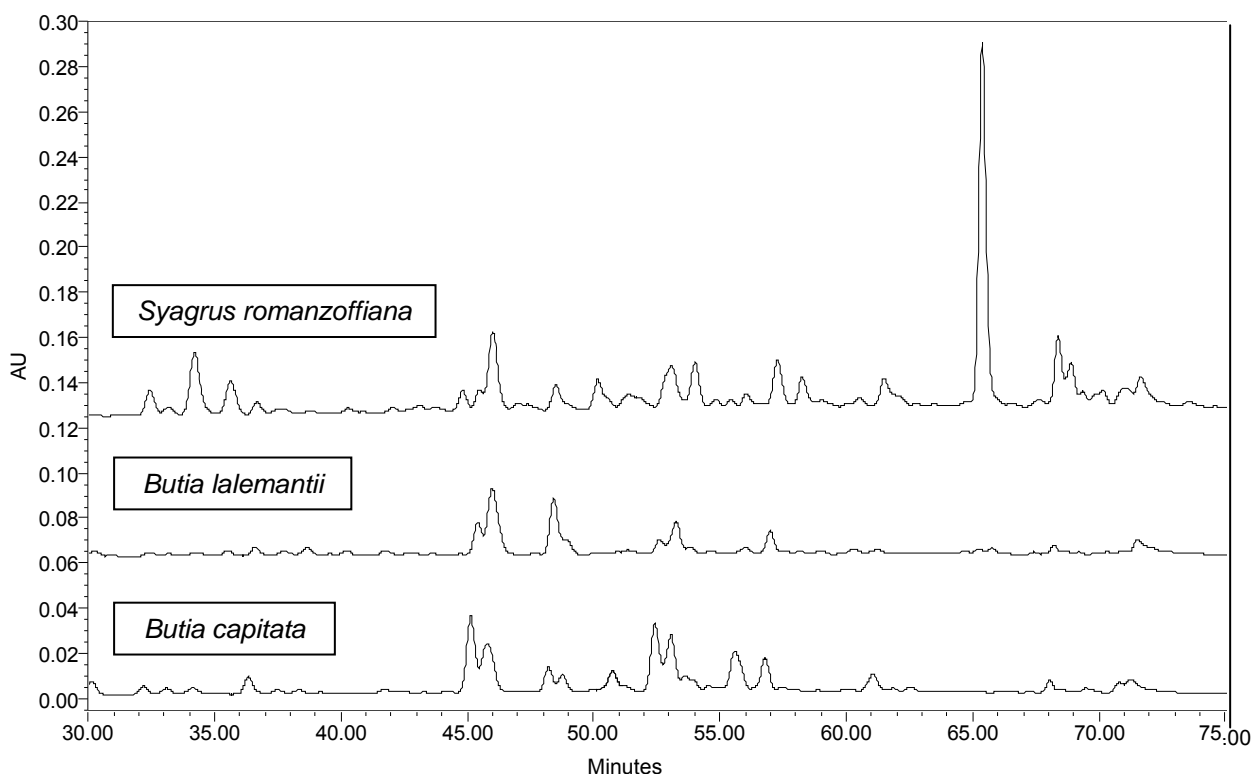


Figura I.3.16: Comparação dos cromatogramas obtidos com amostras das espécies *B. capitata*, *B. lallemantii* e *S. romanzoffiana*, no comprimento de onda de 360 nm.

A comparação dos cromatogramas de *S. romanzoffiana*, *B. capitata* e *B. lallemantii*, considerando a região correspondente aos compostos com núcleo

flavonol, de 40 a 75 minutos, revelou que as espécies são muito semelhantes em sua constituição. Deve-se ressaltar que o cromatograma obtido para a espécie *B. capitata* apresentou deslocamento de 0.2 minutos, aproximadamente, nos tempos de retenção. Os picos cromatográficos nos tempos de retenção de, aproximadamente, 45.9, 48.5, 52.6, 56.9 e 61.2 foram observados em todos os cromatogramas. A espécie *B. capitata* apresentou dois picos, com tempos de retenção de, aproximadamente, 48.8 e 50.8 minutos com características de núcleo flavonol, ausentes nas outras duas espécies. Já, a espécie *S. romanzoffiana* apresentou quatro picos característicos nos tempos de retenção de, aproximadamente, 50.1, 54.0, 58.2 e 65.3 minutos, onde somente o primeiro apresentou λ_{\max} similar a de flavonóides; e a espécie *B. lallemantii* apresentou somente um pico distinto das demais espécies, no tempo de retenção de 60.2 minutos, característico de flavonóides. Além dos picos cromatográficos que as três espécies apresentaram em comum, *B. capitata* e *B. lallemantii* apresentaram quatro picos em comum, nos tempos de retenção de, aproximadamente 45.3, 53.2, 53.8 e 55.9 minutos com espectro de UV característico de flavonóides.

Entre os picos cromatográficos que estão presentes nos três cromatogramas, algumas observações podem ser inferidas. O único pico cromatográfico com λ_{\max} e espectro de absorção idêntico nas três espécies foi o que apresentou tempo de retenção de, aproximadamente, 45.9 minutos com λ_{\max} de 256/356, tratando-se de, provavelmente de um flavonóide contendo molécula(s) de açúcar em sua estrutura.

No cromatograma referente à *S. romanzoffiana* foi possível observar que, entre os picos que foram considerados comuns às três espécies, aquele que apresentou tempo de retenção de 48.5 minutos, possivelmente pode pertencer à classe de ácidos fenólicos, o que o diferenciaria do mesmo pico encontrado nos cromatogramas das outras espécies mesmo apresentando tempo de retenção similar. Também pode-se inferir que o pico cromatográfico que estava presente no tempo de retenção de, aproximadamente 61.2 minutos, nos três cromatogramas pode ser correspondente a um flavonóide glicosilado semelhante à estrutura química da quercetina.

PARTE 4

Obtenção, transesterificação e análise de óleos fixos

I.6. Introdução

Nos últimos anos o interesse por óleos e gorduras bem como por suas fontes tem se mostrado crescente. Esta tendência pode ser atribuída principalmente ao fato desses materiais serem obtidos de fontes naturais e empregados como importantes matérias-primas para as indústrias químicas, farmacêuticas e alimentícias. Mundialmente é estimada uma produção anual de óleos e gorduras de aproximadamente 100 milhões de toneladas (GUNSTONE, 1999; DE CASTRO *et al.*, 2004).

Quimicamente, os óleos se caracterizam por serem misturas de glicerídeos que, por sua vez, são estruturas formadas pela associação química entre o glicerol e uma, duas ou três moléculas de ácidos graxos. Os triglicerídeos (glicerol ligado a três ácidos graxos) são os componentes mais expressivos de óleos vegetais, chegando a valores próximos a 100 % da massa do óleo. Desta forma, diferenças estruturais dos triglicerídeos determinam a identidade dos óleos bem como as propriedades químicas, físicas e nutricionais destes (FERNANDEZ-MOYA *et al.*, 2000; de CASTRO *et al.*, 2004;).

As diferentes estruturas dos triglicerídeos derivam das possibilidades de combinações do glicerol com os ácidos graxos esterificantes bem como pelas características da cadeia hidrocarbonada desses ácidos. Os ácidos graxos podem ser divididos em dois grandes grupos: os insaturados e os saturados. Ainda, dentro deste grupo de insaturados existem subclassificações de acordo com o número de insaturações: monoinsaturado (uma ligação dupla) ou poliinsaturados (duas ou mais ligações duplas). Estruturalmente um ácido graxo é composto por cadeia hidrocarbonada que pode variar de 4 a 24 átomos de carbono com um grupo carboxílico (HO-C=O) ligado a um extremo da cadeia e um grupo metílico (CH_3) no outro. De acordo com o tamanho desta cadeia hidrocarbonada podem ser classificados em ácidos graxos de cadeia curta (4 a 6 átomos de carbono), ácidos graxos de cadeia média (8 a 12 carbonos) e ácidos graxos de cadeia longa (mais de 12 átomos de carbono) (FRANCO, 2007). Desta forma, a diversidade estrutural de ácidos graxos disponíveis para a esterificação em cada um dos três sítios de ligação do glicerol dá origem às diferentes características físicas, químicas e nutricionais de cada óleo.

Óleos e gorduras têm um papel fundamental na alimentação humana: contribuem para a palatabilidade dos alimentos, proporcionando sabor, odor e textura, além estarem relacionados à sensação de saciedade (SALEM, 1999); são fontes de obtenção de energia; agem como veículo para as vitaminas lipossolúveis, como A, D, E e K; são fontes de ácidos graxos essenciais como o linoléico, linolênico e araquidônico (GURR, 1996). Além disso, possuem função estrutural por serem componentes das membranas celulares, participando, desta forma, da manutenção da integridade, forma, flexibilidade e permeabilidade celular (LEHNINGER, 2006).

Nos processos fisiológicos, os lípidios da dieta são indispensáveis para o funcionamento dos órgãos e tecidos por estarem diretamente envolvidos em processos como a produção de eicosanóides, mediadores do processo inflamatório. Os ácidos graxos essenciais também participam da manutenção da parede vascular, nas respostas imunes (FRANCO, 2007) e possuem ação antiinflamatória. Sendo assim, fontes ricas destes compostos têm sido utilizadas como complemento nutricional no tratamento de doenças como artrite, asma e alergias (HENRY *et al.*, 2002). Além disso, os ácidos graxos insaturados têm sido associados à diminuição na incidência de doenças como câncer, esclerose múltipla e lúpus, tendo, desta forma, a ingestão recomendada (MONTAUNG *et al.*, 1999; JIANG *et al.*, 2000).

Nas indústrias farmacêutica e química, os óleos vegetais são importantes matérias-primas para a produção de formulações cosméticas, produtos de higiene e beleza, xampus, sabonetes, bases lipofílicas bem como para a obtenção de ácidos graxos importantes como ácido láurico. Os óleos que possuem elevados teores de ácido láurico, também chamados de óleos láuricos, possuem grande demanda nas indústrias químicas e de alimentos por serem caracterizados pela estabilidade à oxidação, baixo ponto de fusão, formam emulsões bastante estáveis e são utilizados como fonte de obtenção de ácido láurico, utilizado como ponto de partida para a produção de derivados surfactantes, emulsificantes e tensoativos (MAAG, 1984).

Os óleos são normalmente extraídos de sementes ou pericarpos de frutas onde são encontradas na família Arecaceae o maior número de espécies oleíferas. Também, nesta família, encontram-se as espécies consideradas como as maiores produtoras de óleos láuricos como o coqueiro, dendezeiro, babaçu murumuru

(MAMBRIN *et al.*, 1997; FILHO *et al.*, 2000; BORA *et al.*, 2003; IBGE, 2006 ; AZEES, 2007).

Na Tabela I.4.1 é apresentado a composição de ácidos graxos dos óleos das espécies Buriti - *Mauritia flexuosa* L. (ABREU *et al.*, 2004); Murumuru - *Astrocaryum murumuru* Mart (MAMBRIN *et al.*, 1997); açaí - *Euterpe oleraceae* Mart. (SCHASS *et al.*, 2006); dendê – *Eliaes guineensis* (BORA *et al.*, 2003); coco - *Cocos nucifera* (AZEES, 2007); babaçu - *Orbignya phalerata* (ABREU *et al.*, 2004), pertencentes à família Arecaceae e conhecidas como produtoras de óleos (BORA *et al.*, 2003). Ao contrário dos óleos de coco, murumuru, babaçu e das sementes de dendê que se caracterizam pela presença majoritária de ácidos graxos saturados, o óleo da polpa de dendê, açaí e buriti possuem, predominantemente, ácidos graxos insaturados em sua composição.

Tabela I.4.1.: Representação de ácidos graxos presentes no óleo de espécies de palmeiras.

Constituintes	Murumuru	Babaçu	Coco	Dendê ^a	Dendê ^b	Açaí	Buriti
Saturados							
Ác. capríco (C6:0)	-	-	-	n.i.*	0,11	tr**	-
Ác. caprílico (C8:0)	1,85	4,5	2,39	3,09	tr**	tr**	n.i.*
Ác. cáprico (10:0)	1,85	5	4	3,37	tr**	tr**	n.i.*
Ác. láurico (C12:0)	47,46	50	40,95	53,2	tr**	tr**	n.i.*
Ác. mirístico (C14:0)	26	16	23,27	19,3	0,53	0,2	-
Ác. palmítico (C16:0)	6,78	10	13	10,35	36,9	24,1	16,3
Ác. esteárico (C18:0)	2,65	2	11	2,34	4,68	4,3	1,3
Monoinsaturados							
Ác. palmitoléico (C16:1)	n.i.*	n.i.*	n.i.*	0,19	0,21	tr**	0,4
Ác. oléico (C18:1)	12,56	14	3,96	5,5	45,29	56,2	79,2
Ác.gadoleico (C20:1)	n.i.	n.i.	-	0,09	0,14	tr**	n.i.*
Poliinsaturados							
Ác. linoléico (C18:2)	2,87	5	n.i.*	0,61	10,69	12,5	16
Ác. linolênico (C18:3)	n.i.*	n.i.*	n.i.*	n.i.*	0,27	tr**	1,3
Ác. araquidônico (C20:4)	n.i.*	n.i.*	n.i.*	0,15	0,36	tr**	n.i.*

^a Semente

^b Polpa

*n.i.: composto não identificado na amostra

** tr: elemento presente em traços (< 0,1 %)

A cromatografia a gás tem sido o método de escolha para a determinação da composição de ácidos graxos em óleos. No entanto, a análise direta dos óleos por esta técnica é dificultada pelas características próprias de lipídios como a alta polaridade, baixa volatilidade e grande tendência a formar pontes de hidrogênio. Com isso, técnicas como a transesterificação prévia das amostras se fazem

necessárias, tanto por aumentarem a volatilidade dos componentes dos lipídeos quanto por também permitir melhor separação destes bem como reduzir o tempo de análise (GARCÉS *et al.*, 1993; RUIZ-LOPEZ *et al.*, 2003; CARVALHO *et al.*, 2005).

Técnicas de transesterificação

Muitos procedimentos de transesterificação são descritos na literatura. A maioria envolvem a conversão dos ácidos graxos em seus respectivos ésteres (ABREU *et al.*, 2004; CARVALHO *et al.*, 2005; GUTIERREZ *et al.*, 2005; RUIZ-LOPEZ *et al.*, 2005; SCHAUSS *et al.*, 2006). A reação de transesterificação consiste na clivagem de um éster e formação de outro via reação com álcool. Quando o álcool utilizado é o metanol, a reação é denominada metanólise ou transmetilação. Quando os metil ésteres formados são oriundos da reação do entre ácidos graxos e metanol, o processo é denominado de metilação. Essas reações são reversíveis e ocorrem na presença de catalisadores ácidos ou alcalinos. No entanto, tanto a catálise ácida quanto a alcalina, posteriormente necessitam de meio ácido e temperatura para que a metilação ocorra (CARVALHO *et al.*, 2005; RUIZ-LOPEZ *et al.*, 2005).

Os três ácidos mais utilizados no processo de transesterificação são o HCl, H₂SO₄ e BF₃. O HCl é mais utilizado que o H₂SO₄ por ser menos reativo, uma vez que o H₂SO₄ pode causar a decomposição dos ácidos graxos poliinsaturados sob certas condições experimentais. O BF₃, assim como o HCl acelera a metilação, e requer menor tempo de reação. No entanto, a técnica mais apropriada para a realização do processo de transesterificação depende das características da amostra. Com isso, neste trabalho, testamos três técnicas que utilizam os três ácidos mais utilizados no processo de metilação dos ácidos graxos: HCl, H₂SO₄ e BF₃ (CARVALHO *et al.*, 2005).

Como resultado do processo catalítico de transesterificação de óleos vegetais são obtidos como produtos o glicerol e a mistura de metil ésteres de ácidos graxos, como representado no esquema abaixo (ABREU *et al.*, 2004):

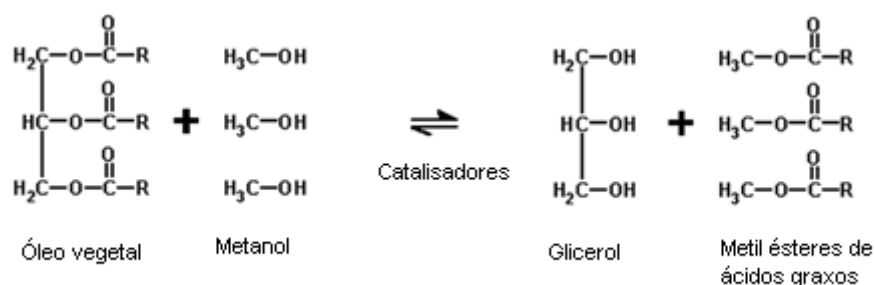


Figura I.4.1: Esquema da reação de transesterificação de óleo vegetal para a obtenção de ésteres de ácidos graxos. O radical R representa a presença de cadeia carbonada e o tamanho desta é relativo ao número de carbonos de cada ácido graxo.

I.6.1. Parte Experimental

I.6.1.1. Obtenção do óleo fixo

O endocarpo e o mesocarpo dos frutos foram separados manualmente e, em seguida, o endocarpo foi rompido por ação de força de impacto e, desta forma, a amêndoa oleífera retirada. As amêndoas e mesocarpos foram reduzidos com auxílio de moinho de facas a fim de aumentar a eficiência do processo extrativo. A extração dos óleos foi realizada por técnica preconizada pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1985). À 20 g de amêndoas trituradas foram adicionados 100 ml de hexano e, em abrigo da luz, deixados em maceração estática por 6 horas. O solvente foi renovado 3 vezes. Este procedimento foi repetido três vezes. Após a eliminação do solvente, o óleo obtido foi armazenado em frascos fechados e ao abrigo da luz. O cálculo do rendimento foi obtido pela relação entre a quantidade de material vegetal, em gramas, pela quantidade de óleo obtido na extração.

I.6.1.2. Reações de transesterificação

Método 1 – Transesterificação catalisada por base (NaOH)

O procedimento adotado nesta técnica segue norma preconizada pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1985). Foram pesadas 80 mg do óleo em tubo de centrífuga com tampa. Neste foi adicionado 3 ml de hexano e submetido a agitação até a solubilização completa da amostra. Em seguida foram adicionados 4 ml de NaOH 0,5 M em metanol e a solução foi levada a banho-maria com temperaturas de

65-70 °C por 5 minutos para a hidrólise dos triglicerídeos. Após arrefecimento da solução, foi adicionada solução esterificante constituída de NH_4Cl , H_2SO_4 e metanol, a mistura homogeneizada em vórtex e levada novamente ao banho-maria por mais 5 minutos. Após a solução retornar a temperatura ambiente, foram adicionados 5 ml de solução supersaturada de NaCl e, após a agitação, mais 3 ml de hexano para a extração dos metil ésteres. A fase orgânica foi filtrada em sulfato de sódio anidro e em seguida analisada por cromatografia a gás. Todas as amostras foram feitas em triplicata e calculado o desvio padrão relativo (DPR).

Método 2 – Transesterificação catalisada por ácido (HCl)

Foram pesados 100 mg de óleo em tubo de centrífuga com tampa e neste foram adicionados 4 ml de HCl 0,5 N em metanol. Após a homogeneização, os tubos bem fechados foram levados a banho-maria a 65 °C por 45 minutos. Quando atingida a temperatura ambiente, os ésteres foram extraídos com 3 ml de hexano. Todas as amostras foram filtradas em sulfato de sódio para garantir a ausência de água, causadora de hidrólise (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985, adaptado).

Método 3 – Transesterificação catalisada por BF_3

O procedimento adotado nesta técnica é preconizado pela AOCS (*American Oil Chemistry Society*). Esta técnica consiste em previamente hidrolisar os triglicerídeos com NaOH 0,5 M a 100 °C e em seguida adicionar BF_3 12 % em metanol e em seguida retornar a solução por mais 30 minutos a 100 °C. Após esse procedimento, foi adicionado hexano para realizar a extração dos ésteres.

I.6.2.3. Análise química e Identificação dos ácidos graxos

Para a execução das análises dos metilesteres de ácidos graxos foi utilizado aparelho cromatógrafo a gás Shimadzu GC17-A acoplado a detector de massas GC/MS – QP5000. Para separação dos constituintes foi utilizada coluna VF-23 (30 m x 0.25 mm). A temperatura do forno foi programada de modo que permaneceu a 50 °C por 5 minutos e posteriormente aumentou a 3 °C por minuto até atingir 240 °C, totalizando 73 minutos de análise para cada amostra. Foi utilizado hélio como gás carreador a 80 kPa e fluxo de 1 ml/min. As temperaturas do injetor e do detector foram de 260 °C para ambos e a razão de fluxo do injetor foi de 1:100. Nitrogênio, ar

sintético e hidrogênio foram utilizados como gases auxiliares, na razão de 1:1:10, respectivamente.

Os componentes foram identificados por comparação de seu tempo de retenção em relação ao de padrões autênticos (FAME mix: 18919-1, Supelco) bem como pelos espectros de massa com dados da literatura (ADAMS, 2001), bem como espectroteca de aquisição (NIST 12 e NIST 62 – National Institute of Standards and Technology, Kyoto, Japão). A quantificação foi realizada por técnica de normalização.

I.6.3. Resultados e Discussão

Os rendimentos percentuais considerando a massa de óleo obtida em relação à massa de amêndoas utilizadas foi de 28 % para a espécie *Syagrus romanzoffiana*; 34% para *Butia lalemantii*; 29 % para *Butia capitata* coleta de 2005; 28 % para a coleta de 2006 e 33 % para a coleta de 2007. Esses rendimentos creditam as espécies como fontes produtoras de óleo, uma vez que espécies de palmeiras que são comercializadas, como *Eliaes guinensis* (dendê), possui teor de 32 % de óleo em suas amêndoas (BORA *et al.*, 2003) e o açaí com 32,5 % de óleo em sua polpa (SCHAUSS *et al.*, 2006).

Os teores relativos a composição de metilésteres obtidos pelos três métodos de transesterificação do óleo da amêndoa de *Syagrus romanzoffiana* estão apresentados na Tabela I.4.2. As análises realizadas demonstraram que esta espécie é caracterizada pela predominância de ácidos graxos saturados de cadeia média (AGCM). O número de compostos identificados bem como os componentes majoritários (ácido láurico e o ácido oléico) obtidos pelos três métodos de transesterificação permaneceram inalterados, no entanto, foram observadas diferenças nos teores percentuais dos metilesteres obtidos.

Tabela I.4.2.: Composição dos metil ésteres de ácidos graxos obtidos do óleo da amêndoa de *Syagrus romanzoffiana* a partir de transesterificação.

T .R (min.)	Ácidos graxos	Teor (% , média ± DPR)		
	AGCM	Método 1	Método2	Método 3
5.01	Ác.capróico (C6:0)	tr	tr	tr
6.670	Ác.caprilico (C8:0)	9,21 ± 0,50	13,60 ± 0,16	9,56 ± 0,42
13.751	Ác.caprico (C10:0)	8,48 ± 0,32	11,38 ± 0,35	8,47 ± 0,22
27.652	Ác. láurico (C12:0)	32,02 ± 0,96	48,29 ± 0,49	27,72 ± 0,27
	AGCL			
33.575	Ác. mirístico (C14:0)	10,37 ± 0,14	7,92 ± 0,14	10,81 ± 0,09
38.933	Ác. palmítico (C16:0)	8,19 ± 0,09	4,39 ± 0,12	9,1 ± 0,28
43.731	Ác. esteárico (C18:0)	3,57 ± 0,13	1,84 ± 0,05	4,51 ± 0,27
44.487	Ác. oléico (C18:1)	25,46 ± 0,56	11,32 ± 0,28	26,06 ± 0,39
47.496	Ác. linoléico (C18:2)	2,70 ± 0,10	1,27 ± 0,01	3,64 ± 0,32
48,165	Ác. <i>cis</i> -11-eicosanoico (C20:1)	tr	tr	0,13 ± 0,01
	Total de saturados	71,84	87,42	70,17
	Total de insaturados	28,16	12,59	29,83

T.R.: tempo de retenção dos compostos, em minutos;

tr: traços;

DPR: desvio padrão relativo à média de três determinações

As análises estatísticas demonstraram que, no óleo da amêndoa de *S. romanzoffiana*, a catálise ácida (método 2) se mostrou mais adequada para a quantificação dos AGCM, enquanto a catálise alcalina, seguida de metilação na presença de H₂SO₄ (método 1) e com BF₃ (método 3) foram mais apropriadas para a quantificação dos ácidos graxos de cadeia longa (AGCL). A grande variação no teor de ácido graxo monoinsaturado (oléico), obtido com o método 2 (11,32 %) em relação aos métodos 1 e 3, 25,46 e 26,06 %, respectivamente, podem estar relacionadas com o fato de que ácidos podem levar a degradação de ácidos graxos insaturados (CAVALHO *et al.*, 2005), bem como a possibilidade do maior tempo de reação do método 2.

A composição química do óleo da amêndoa de *S. romanzoffiana* foi semelhante a composição das espécies murumuru *Astrocaryum* Mart. (MAMBRIN *et al.*, 1997) e babaçu - *Orbignya phalerata* (ABREU *et al.*, 2004), as quais também possuem como componentes majoritários os ácidos láurico, mirístico e oléico. O elevado teor de ácido láurico observado bem como o rendimento percentual do óleo nas amêndoas, representam a possibilidade de inclusão da espécie *S. romanzoffiana* como fonte alternativa para a obtenção e comercialização dos “óleos láuricos”, bem como a sua potencial utilização em indústrias de cosméticos,

alimentícia e química, além de ser fonte importante para a obtenção de ácidos graxos de cadeia média, especialmente o ácido láurico, que é muito importante na indústria mundial.

As análises dos ácidos graxos constituintes das polpas dos frutos de *S. romanzoffiana*, *B. capitata* (coletas 2005, 2006 e 2007) e *B. lalemantii* foram realizadas somente através da técnica de transesterificação descrita no item I.6.2.2 (método 1). Foi empregado somente um método de transesterificação devido ao baixo rendimento de óleo encontrado na polpa. O método 1 foi selecionado por ser de execução mais rápida quando comparado ao método 2 e de menor custo em relação ao método 3 que utiliza BF₃, nas análises realizadas para o óleo da amêndoa de *S. romanzoffiana*.

Os rendimentos percentuais relativos aos óleos extraídos da polpa foram de 3,5% para a espécie *B. lalemantii*, 2,1 % para a espécie *S. romanzoffiana* e 0,8 % (coleta 2005), 1,2 % (coleta 2006) e 1,05 % (coleta 2007) da espécie *B. capitata*. Esses valores obtidos são baixos e demonstram que a amêndoa é mais apropriada para obtenção de óleo nestas espécies.

Na Tabela I.4.3 estão apresentados os teores percentuais e a composição dos metilésteres obtidos através de transesterificação com catálise alcalina, do óleo extraído da polpa espécie *S. romanzoffiana*. Somente três ácidos graxos foram identificados na polpa desta espécie.

Tabela I.4.3.: Composição percentual de metilésteres de ácidos graxos constituintes do óleo extraído da polpa dos frutos de *S. romanzoffiana*.

T .R. (min.)	Ácidos graxos	Teor (% , média ± DPR)
38.933	Ác. palmítico (C16:0)	60,47 ± 0,52
44.487	Ác. oléico (C18:1)	13,49 ± 1,01
47.496	Ác. linoléico (C18:2)	19,04 ± 0,47
	Total de saturados	60,47
	Total de insaturados	32,53

T.R: tempo de retenção dos compostos, em minutos;
DPR: desvio padrão relativo à média de três determinações

A composição química da polpa e da amêndoa de *S. romanzoffiana* apresentou-se bem diferenciada. Enquanto a amêndoa apresentou o ácido láurico e

oléico como majoritários, a polpa apresentou o ácido palmítico com teor de 60 % da composição total do óleo.

Na Tabela I.4.4 estão apresentados os teores percentuais e a composição dos metilésteres obtidos através de transesterificação, com catálise alcalina, do óleo extraído da polpa espécie *B. lalemantii*. Foram identificados 10 metilésteres e o composto majoritário presente no óleo desta espécie foi o ácido esteárico com 43,6 %. Este ácido é muito utilizado na indústria cosmética na produção de cremes de barbear, sabonetes, cremes e loções cremosas e possui propriedades de, quando submetido a reação com o monoetilenoglicol, obtém-se o mono ou diestearato de etilenoglicol, excelente doador de opacidade e brilho pérola, muito utilizado em produtos de higiene pessoal e cremes cosméticos. O ácido mirístico também apresentou elevado teor (31,2%) e igualmente possui aplicações importantes em cosméticos.

Tabela I.4.4.: Composição percentual de metilésteres de ácidos graxos constituintes do óleo extraído da polpa dos frutos de *B. lalemantii*.

T .R. (min.)	Ácidos graxos	Teor (%; média ± DPR)
AGCM		
5,01	Ác. capríco (C6:0)	1,01 ± 0,2
6.670	Ác. caprilico (C8:0)	0,74 ± 0,3
13.751	Ác. cáprico (C10:0)	1,56 ± 0,1
27.652	Ác. láurico (C12:0)	2,61 ± 0,12
AGCL		
33.575	Ác. mirístico (C14:0)	31,2 ± 1,9
38.933	Ác. palmítico (C16:0)	1,05 ± 0,2
43.731	Ác. esteárico (C18:0)	43,6 ± 1,2
44.487	Ác. oléico (C18:1)	13,06 ± 0,1
47.496	Ác. linoléico (C18:2)	1,75 ± 0,2
	Ác. <i>cis</i> -11-eicosanoico (C20:1)	tr
	Total de saturados	81,77
	Total de insaturados	13,06

T.R: tempo de retenção dos compostos, em minutos;

tr: traços;

DPR: desvio padrão relativo à média de três determinações

Na Tabela I.4.5 estão apresentados os teores percentuais e a composição dos metilésteres obtidos através de transesterificação, com catálise alcalina, dos óleos extraídos das polpas dos três anos de coleta da espécie *B. capitata*.

Tabela I.4.5.: Metilésteres de ácidos graxos constituintes dos óleos extraídos das polpas dos frutos de *B. capitata* coletas 2005, 2006, 2007.

T .R. (min.)	Ácidos graxos	Teor (%; média ± DPR)		
		Coleta 2007	Coleta 2006	Coleta 2005
38,920	Ác. palmítico (C16:0)	47,0 ± 1,3	60,47 ± 2,0	39,15 ± 1,1
39,818	Ác. palmitolêico (C16:1)	n.i.	n.i.	5,52± 1,5
43,741	Ác. esteárico (C18:0)	11,7 ± 2,1	n.i.	n.i.
44,514	Ác. oléico (C18:1)	22,6 ± 0,7	13,49 ± 1,1	21,23 ± 0,9
45,826	Ác. linoléico (C18:2)	10,3 ± 0,1	19,04 ± 1,5	19,31 ± 1,2
45,840	Ác. gama-linolênico (C18:3)	8,4 ± 1,7	n.i.	12,87± 1,3
	Total de saturados	58,7	60,47	39,15
	Total de insaturados	41,3	32,53	58,94

T.R.: tempo de retenção dos compostos, em minutos;
tr: traços;
n.i.: não identificado

Para os três anos de coleta, o ácido palmítico se apresentou como o composto majoritário do óleo. No entanto, podem ser observadas diferenças nos teores e na presença dos demais componentes. O ácido gama-linolênico não foi identificado na coleta de 2006. O ácido palmitolênico foi identificado somente na coleta de 2005 bem como o esteárico só se fez presente na coleta de 2007.

Essas diferenças observadas entre as três coletas de *B. capitata* derivam de que, pelos baixos rendimentos observados, os mesocarpos dessas frutas não são produtores de óleo. Os lipídios extraídos desses mesocarpos são componentes com funções fisiológicas reguladas de acordo com a necessidade e estágio de amadurecimento da fruta. Durante o amadurecimento e envelhecimento de frutas ocorrem alterações nas proporções e composição dos lipídios de membrana que sinalizam esses processos (GUTIÉRREZ *et al.*, 2005).

CAPÍTULO II

**Aspectos farmacológicos: Ação antioxidante e Influência sobre a
migração de leucócitos *in vitro***

II.1 Introdução

Os artigos utilizados para o embasamento desse capítulo foram retirados das bases de dados: SCIENCE DIRECT, SCOPUS, SCIRUS, WEB OF SCIENCE, PUBMED, SCIFINDER, ISI WEB OF KNOWLEDGE. Não foram encontrados trabalhos e referências de estudos das atividades farmacológicas para as espécies do gênero *Butia* e para a espécie *Syagrus romanzoffiana* até a data de final da redação deste trabalho.

Assim, visando contribuir com dados de ações biológicas para extratos e óleos fixos destas espécies, os objetivos deste capítulo consistiram em:

- Determinar a atividade antioxidante *in vitro* dos extratos metanólicos obtidos a partir do mesocarpo das espécies em estudos, através do ensaio espectrofotométrico de DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila).
- Determinar a ação antiinflamatória *in vitro* dos óleos fixos e extratos metanólicos das espécies em estudo.

PARTE 1

Atividade antioxidante

II.2. Introdução

Espécies reativas (ER) são definidas como radicais e não- radicais de oxigênio que podem ser convertidos, rapidamente, para radicais através de reações químicas. Estima-se que 2-5% do oxigênio utilizado pelas células é subsequente convertido a radicais livres (LAU *et al.*, 2005). Os radicais livres se caracterizam por possuir um ou mais elétrons desemparelhados na última camada eletrônica, capazes de existência independente. Esses elétrons sem pareamento podem alterar a reatividade química de um átomo ou molécula devido à sua capacidade de seqüestrar elétrons de outras moléculas. (PAAL, 2002; LAU *et al.*, 2005).

Dentre os radicais livres mais comuns, destacam-se o radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), óxido nítrico (NO_2), o altamente reativo radical hidroxila ($\bullet OH$), bem como os radicais peroxila (ROO^{\bullet}) e alcóxila (RO^{\bullet}). Os intermediários, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e peroxinitrito (ONOO), formados durante a redução do oxigênio molecular, não são radicais livres, mas são classificadas como espécies reativas por tornarem possível a geração destes através de várias reações químicas. (GILGUN-SHERKI *et al.*, 2001).

É estimado que 1% da produção diária de ER não seja eliminado pelos mecanismos antioxidantes endógenos realizados por enzimas como a superóxido-dismutase, glutatona peroxidase. Desta forma, essas espécies não neutralizadas ficam livres para causar danos celulares, o que caracteriza o estresse oxidativo (AZZI *et al.*, 2004; LAU *et al.*, 2005). Essa disparidade entre a produção e eliminação pode gerar danos nas membranas biológicas pela peroxidação de lipídeos, ligações cruzadas das proteínas, inativação de enzimas e lesão ao DNA, entre outros fatores que levam a várias patologias incluindo câncer, problemas cardíacos, inflamação e bem como doenças neurodegenerativas como Parkinson e de Alzheimer (LAU *et al.*, 2005; TEPE *et al.*, 2005).

Uma das formas eficientes de combate aos radicais livres em excesso é através da dieta rica em frutas e vegetais por estes serem fontes ricas de compostos com ação antioxidante. Estes compostos combatem os radicais por inibirem a sua formação ou por suprimirem a propagação das reações que dão origem aos radicais

livres se ligando aos íons metálicos, reduzindo o peróxido de hidrogênio e neutralizando superóxidos e oxigênio singlete (LIM *et al.*, 2005). Desta forma, os antioxidantes são substâncias que podem prevenir danos oxidativos dos lipídeos de membrana, proteínas e ácidos nucleicos por (ER) (LIM *et al.*, 2005).

Os compostos antioxidantes mais abundantes em frutas são os polifenóis, Vitamina C, Vitamina A, B, E e carotenóides. No entanto, os polifenóis, especialmente os flavonóides e ácidos fenólicos, possuem maior ocorrência, teor e potência (SENEVIRATNE *et al.*, 2008). Com isso o efeito antioxidante dos alimentos vegetais tem sido fortemente relacionado com a presença de polifenóis (MANSOURE *et al.*, 2005; SENEVIRATNE *et al.*, 2008) e como resultado das crescentes evidências de efeitos benéficos à saúde atribuídos a esta classe, a identificação de polifenóis antioxidantes bem como a avaliação de seu potencial antioxidante tem sido alvo de interesse de muitas pesquisas (SENEVIRATNE *et al.*, 2008).

Estudos epidemiológicos apresentam evidências de que o consumo de frutas e vegetais está associado com reduções no risco de diversas doenças crônicas incluindo algumas formas de câncer, doenças cardiovasculares, hiperlipidemia, ocorrência de acidentes vasculares, inflamações, disfunções cerebrais (HALLIWELL, 1996; GABRIELLI *et al.*, 2005; POZO-INSFRAN *et al.*, 2006; LIM *et al.*, 2007). Sendo que são muito freqüentes as relações estabelecidas entre o consumo de elevado conteúdo de metabólitos antioxidantes em alimentos vegetais e a inibição da incidência de doenças como essas relatadas (HALLIWELL, 1996; EL AGAMEY *et al.*, 2004; CHEN *et al.*, 2001; GABRIELLI *et al.*, 2005; MANSOURI *et al.*, 2005).

Dentre os diversos componentes antioxidantes encontrados nas frutas, destacam-se os polifenóis incluindo flavonóides, taninos e catequinas como os mais representativos (OKONOGLI *et al.*, 2007). Estudos de RICE-EVANS e MILLER (1996) observaram relação entre as propriedades antioxidantes e antiinflamatória das frutas e os compostos polifenólicos presentes.

A quimioproteção atribuída aos polifenóis está relacionada com a sua ação antioxidante bem como com a mediadora de funções relacionadas com a supressão da atividade mutagênica e proliferativa e inibição ou indução de enzimas específicas. Principalmente os flavonóides como a apigenina, quercetina, e quercetina-3-

glicosídeo têm sido relacionados com essas atividades inibitórias por se mostrarem ativos em processos que envolvem a sinalização de síntese do DNA (WANG *et al.*, 1999; BOYER *et al.*, 2004; MERTENS-TALCOTT *et al.*, 2005; POZO-INSSFRAN *et al.*, 2006).

Vários estudos *in vitro* e *in vivo* têm demonstrado como compostos isolados ou misturas simples de compostos influenciam os sistemas biológicos. No entanto, poucos estudos avaliam como uma mistura complexa de polifenóis pode interagir e influenciar as propriedades biológicas de certas frutas e vegetais (POZO-INSSFRAN *et al.*, 2006). A teoria de pesquisa dos nutracêuticos tem essa questão em sua base, sendo que também investiga o quanto e como os antioxidantes da dieta atuam diminuindo ou revertendo os processos naturais do envelhecimento celular (LAU *et al.*, 2005).

Determinação da atividade antioxidante in vitro

Nas bases de dados consultadas não foram encontrados estudos de atividade antioxidante para as espécies dos gêneros *Butia* e *Syagrus*. No entanto, estudos que avaliam essa atividade em extratos de frutas comestíveis são abundantes.

Os ensaios de atividade *in vitro*, apesar de não reconstituírem as condições fisiológicas na totalidade, são métodos priorizados para se estimar a capacidade antioxidante de compostos pouco estudados bem como das fontes destes frente a radicais livres (JIMENES-ALVAREZ *et al.*, 2008). Desta forma, devido à grande importância atribuída aos compostos com atividade antioxidante e a constante busca de novos metabólitos e novas fontes promissoras para esta atividade, foram desenvolvidas diversas metodologias para avaliação do potencial antioxidante de substâncias químicas isoladas e extratos. Muitos desses ensaios como o de captura de radicais livres (DPPH) auxiliam na previsão dos efeitos de tais substâncias sobre sistemas biológicos (RUBERTO e BARATTA, 2000; MOLYNEUX, 2004; TEPE *et al.*, 2007).

O ensaio que utiliza DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazila, Figura 2.1) como indicador de atividade antioxidante é fundamentalmente fotolorimétrico e é um dos mais utilizados para a medida desta atividade (SOUZA *et al.*, 2007). O radical 2,2

difenol-1-picril-hidrazina apresenta coloração púrpura e absorve em 515 nm. Por ação de um antioxidante ou espécie radical, o DPPH[•] é reduzido formando 1,1-difenil-2-picrilhidradrina de coloração amarelada (representado na Figura II.1.1), com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorvância. (MOLYNEUX, 2004; SOUZA *et al.*, 2007).

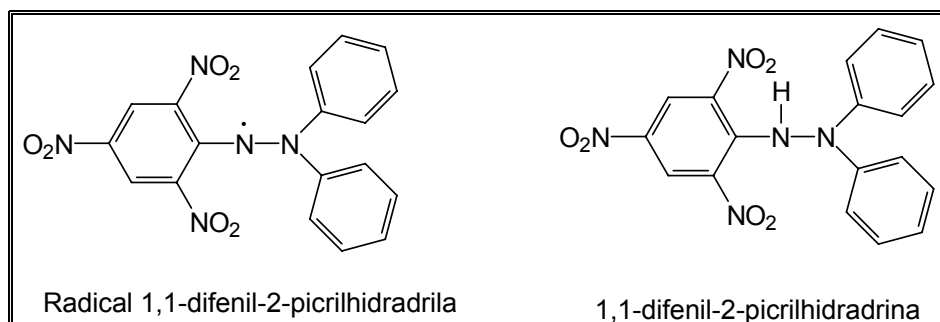


Figura II.1.1: Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila e 2,2-difenil-1-picrilhidrazina.

II. 2.1. PARTE EXPERIMENTAL

II. 2.1.1. Equipamentos e materiais

Radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) Sigma, Metanol Quimex P.A., espectrofotômetro Hewlett Packard UV-VIS modelo HP 8452-A.

II. 2.1.2. Determinação da atividade antioxidante

A ação antioxidante foi testada para os extratos preparados de acordo com o item I.5.1.5. A técnica consistiu na adição de 2 ml de DPPH[•] 0,08% a tubos de ensaio protegidos da luz e a esses tubos foram adicionadas alíquotas variáveis de amostra e metanol de modo que o volume final de cada tubo atingisse exatamente 4ml. A concentração final do DPPH[•] foi 0,04% e das amostras de 5, 20, 40, 160, 320, 450, 650, 750, 850, 1000 µg/ml. Decorridos 30 minutos de reação, foi realizada a leitura em espectrofotômetro em 515 nm. O percentual de inibição do radical DPPH foi obtido através da relação do decréscimo das absorções das amostras testadas com a absorção da solução de DPPH a 0,04%. Como branco foi utilizado metanol e rutina como padrão positivo de controle do experimento na concentração de 10 µg/ml (ROCHE *et al.*, 2004).

II. 2. 2. Resultados e Discussão

Os resultados referentes ao ensaio antioxidante realizado com os extratos metanólicos obtido das polpas das três espécies trabalhadas estão representados na Figura II.1.2.

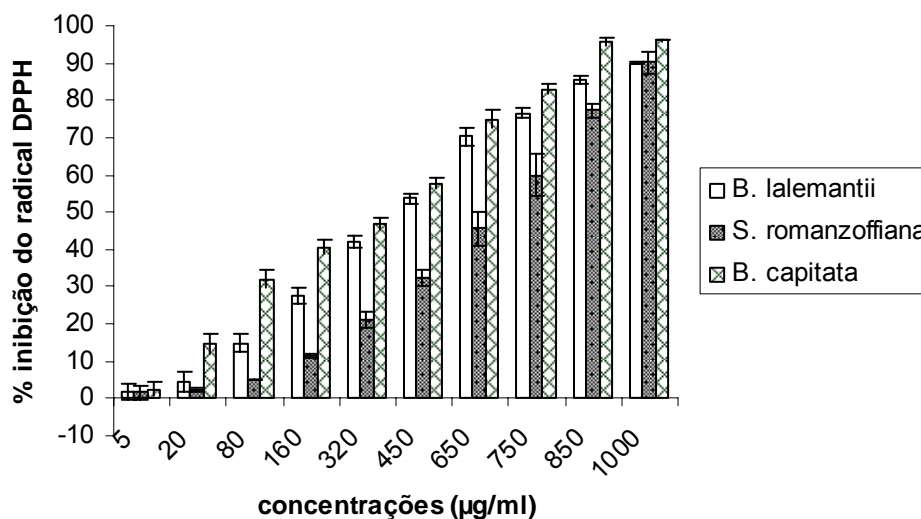


Figura II.1.2.: porcentagem da atividade antioxidante do extrato metanólico das espécies *B. capitata*, *B. romanzoffiana* e *B. lalemantii*.

Levando-se em consideração a análise estatística dos dados de atividade antioxidante em todas as concentrações testadas, aplicando-se ANOVA e TUKEY, verificou-se que as espécies *B. capitata* e *B. lalemantii* foram ativas e não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre si como fontes seqüestradoras de radicais livres, enquanto a espécie *S. romanzoffiana* apresentou-se como fonte menos potente em concentrações inferiores a 850 µg/ml.

As curvas representadas nas Figura II.1.3, mostra a relação direta e dose-dependente do aumento das concentrações da amostra com aumento na porcentagem de inibição do radical DPPH.

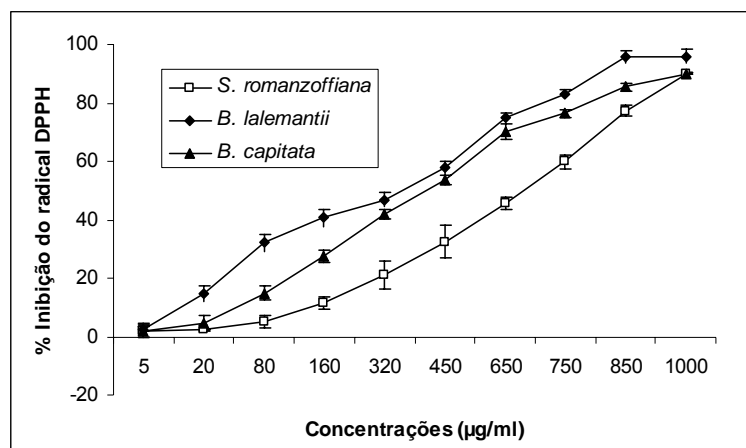


Figura II.1.3.: representação comparativa das curvas de concentração do extrato metanólico versus porcentagem de inibição do radical DPPH para as três espécies de Arecaceae.

Tanto a espécie *B. capitata* e *B. lalemantii* apresentaram inibição máxima com concentrações de 850 µg/ml. Já a espécie *S. romanzoffiana* apresentou inibição máxima na concentração de 1000 µg/ml.

Diversos compostos comuns na composição de frutas apresentam atividade antioxidante. Dentre estes estão as Vitaminas C e E, beta-caroteno, taninos e os compostos fenólicos representados, em frutas, principalmente pelos ácidos fenólicos, flavonóides, catequinas e pigmentos antocianícos (LIM *et al.*, 2007; OKONOGI *et al.*, 2007).

A preparação dos extratos testados por maceração com metanol não é específica para fenólicos, porém, na literatura, está entre as mais comuns para esta classe de metabólitos secundários. O beta-caroteno e a Vitamina E, normalmente necessitam de solventes mais apolares como o hexano para a sua extração, além de serem bastante instáveis (YOUNGKI *et al.*, 2008), o que torna mais difícil estarem presentes no extrato ou terem grande influência sobre a atividade.

Portanto, a diferença observada entre as concentrações de atividade máxima sugere que a atividade antioxidante está diretamente relacionada com o teor de polifenóis totais presentes no extrato, uma vez que o teor encontrado para *B. capitata* e *B. lalemantii* foi de $4,95 \pm 0,1$; $4,85 \pm 0,08$ g%, respectivamente e de $3,36 \pm 0,08$ g% para *S. romanzoffiana*.

PARTE 2

Atividade antiinflamatória *in vitro*

II.3. Introdução

Os processos inflamatórios são eventos que ocorrem nos tecidos em resposta a patógenos invasores, traumas ou a presença de agentes nocivos e resultam numa série de eventos vasculares e celulares que buscam reparar a lesão. A resposta inflamatória se caracteriza por reações complexas que incluem a secreção de mediadores como a Interleucina-6, proteína C reativa e moléculas de adesão que desencadeiam sequências de eventos. Esta resposta é importante para o estabelecimento da reação imunológica (HUJANEN *et al.*, 1995).

A quimiotaxia ou diapedese de leucócitos da corrente sanguínea em direção ao local lesado está entre as etapas desse processo inflamatório (RANG *et al.*, 2004). A resposta imediata contra estímulos agressores está relacionada com os leucócitos, pois estes respondem a vários sinais quimiotáticos específicos como peptídeos, leucotrienos, principalmente o B₄, componentes do sistema complemento, metabólitos do ácido araquidônico e produtos bacterianos como os lipopolissacarídeos (LPS) (HUJANEN *et al.*, 1995; LEY *et al.*, 2007).

Muitos compostos fenólicos possuem ação antiinflamatória. Agem na captura dos radicais livres formados durante o processo inflamatório e também inibindo a enzima hialuronidase que está relacionada com o aumento da permeabilidade vascular (LEE *et al.*, 1993).

Evidências da ação dos ácidos graxos no processo inflamatório são mais comuns para poliinsaturados. A literatura reporta que os ácidos graxos poliinsaturados agem sobre a síntese de leucotrienos, proporcionando alívio em doenças imunológicas e inflamatórias. O ácido eicosenóico (C20:1) compete com o ácido araquidônico como substrato da lipoxigenase, o que resulta em redução no processo inflamatório (FRANCO, 2007).

Estudos clínicos têm reportado que suplementação alimentar com óleos ricos em poliinsaturados resulta em efeitos benéficos na redução de artrites reumatóides e outros processos inflamatórios. Estes efeitos tem sido atribuído a presença do ácido oléico que está relacionado com ações antiinflamatória e imunomoduladoras (CALDER, 2001).

HENRY e colaboradores (2002) realizaram estudo com 30 ácidos graxos isolados, sendo que 11 destes eram insaturados, onde verificaram a inibição das enzimas cicloxigenase I e II. Os ácidos graxos saturados com até 12 átomos de carbono em sua estrutura apresentaram atividades inibitórias que variaram de 10 a 70 %, já os ácidos poliinsaturados apresentaram inibições superiores a 70%.

II.3. 1. Parte experimental

II. 3. 1. 1. Equipamentos e materiais

O ensaio antiinflamatório foi realizado em câmara de Boyden modificada que é composta por em duas placas de acrílico com poços de 0,5 ml de capacidade e filtros de nitrato de celulose Millipore (13 mm diâmetro x 8 µm poro). As leituras referentes ao ensaio foram realizadas em microscópio Nikon Alpha Phot-2 YS-2.

II. 3. 1. 2. Determinação da atividade antiinflamatória in vitro

O ensaio de atividade antiinflamatória *in vitro* foi realizado através da técnica padronizada por SUYENAGA (2002), que emprega a câmara de Boyden, modificada por ZIGMOND e HIRSCH (BOYDEN, 1962; ZIGMOND e HIRSCH, 1973; MELLO *et al.*, 1992) no qual se observa a inibição da migração de leucócitos polimorfonucleares, processo denominado quimiotaxia.

A câmara de Boyden, que está representada na Figura II.2.1., é composta por duas placas de acrílico transparente, contendo poços com capacidade de 0,5 ml cada. O compartimento inferior é preenchido com solução contendo fator quimiotático, sobre ele é depositado filtro de nitrocelulose que separa os dois compartimentos. No compartimento superior é adicionada amostra com a suspensão de neutrófilos. A migração dos leucócitos através do filtro, seguindo gradiente quimiotático foi avaliada e comparada ao branco que continha somente a suspensão de leucócitos. Genisteína na concentração de 100 mM, preparada através do mesmo procedimento controle positivo do experimento foi utilizado preparada Para a obtenção do plasma e da suspensão de neutrofilos, foram utilizados ratos Wistar machos com pesos entre 180 e 220g obtidos do biotério central da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

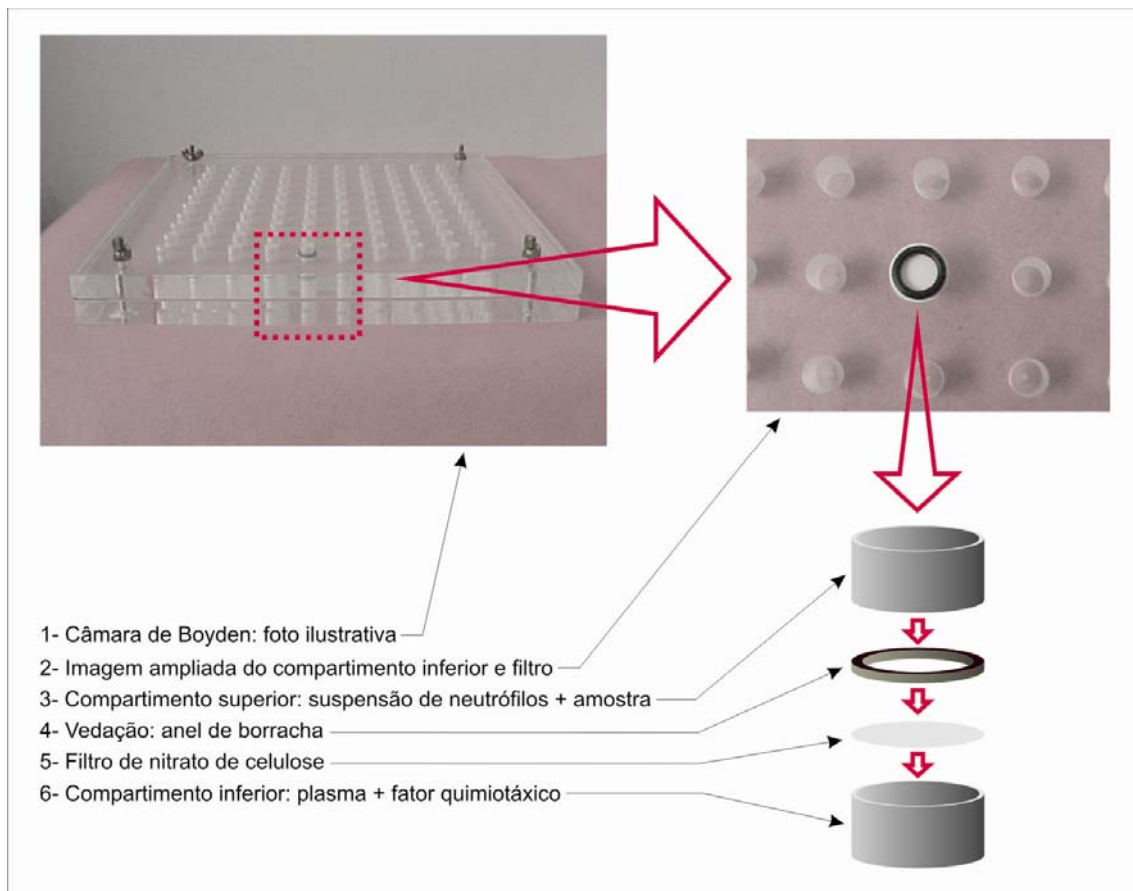


Figura II.2.1.: Esquema de montagem da câmara de Boyden.

II. 3. 1. 2. 1. Obtenção do fator quimiotático

O fator quimiotático foi obtido através da incubação de lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli* com plasma de ratos na concentração de 65 µg/ml, por 30 minutos a 37°C. A presença de antígenos como o LPS no plasma ativa a formação de mediadores que sinalizam e desencadeiam os eventos envolvidos no processo inflamatório responsáveis pela atração dos leucócitos até o local da lesão. Após a incubação, o plasma foi diluído (v:v) em solução tampão de Hanks a 4%.

II. 3. 1. 2. 2. Coleta e preparo da suspensão de neutrófilos

Os neutrófilos foram obtidos da cavidade intraperitoneal de ratos após 4h da indução da inflamação com 20 ml de glicogênio a 1%. Para a coleta das células, os animais foram sacrificados e em seguida injetados na cavidade peritoneal 60 ml

solução de Hanks contendo 1 UI/ml de heparina. As células obtidas foram lavadas com solução de Hanks. A quantidade adicionada ao compartimento superior correspondeu a contagem de $1,5 \times 10^6$ células, em câmara de Neubauer.

II. 3. 1. 2. 3. Determinação da atividade migratória dos leucócitos

As câmaras foram preparadas em duplicata para cada amostra e incubadas em atmosfera úmida por 1 hora a 37 °C. Em seguida, os filtros foram removidos, fixados, corados e diafanizados por 12 horas em xilol. Posteriormente, os filtros foram montados entre lâmina e lamínula e levados, em seguida, para a realização da leitura sob microscopia óptica, com objetiva de 40 vezes de aumento. Com o foco no plano superior do filtro, o plano de observação do microscópio foi aprofundado até a visualização de apenas duas células em foco. Esta distância, medida em micrômetros, permitiu avaliar a capacidade migratória dos neutrófilos (ZIGMOND e HIRSH, 1973). A leitura foi realizada em cinco campos de cada filtro e o resultado expresso como Média da distância migrada em $\mu\text{m} \pm$ Desvio Padrão da Média. A análise estatística foi realizada pela análise de variação (ANOVA).

Foram analisados os extratos obtidos das polpas e os óleos obtidos das amêndoas de cada espécie. As técnicas de obtenção e preparação dos extratos estão descritas no item I.5.1.5. Os extratos foram diluídos em solução de Hanks e dessa diluição foram adicionadas alíquotas a suspensão de leucócitos a fim de se obter as concentrações especificadas em cada tabela. O mesmo procedimento foi adotado para os óleos, sendo que para melhor homogeneização da amostra, foi adicionado Tween 80 na proporção de 9:1 (v:v) volume de amostra: Tween 80. As amostras foram homogeneizadas em aparelho de ultra-som por 30 minutos.

II. 3. 2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da determinação da atividade antiinflamatória *in vitro* do extrato de *S. romanzoffiana*, *B. capitata*, *B. lalemantii* sobre a quimiotaxia dos leucócitos estão representados nas Tabelas II.2.1; II.2.2; II.2.3, respectivamente. O extrato de *S. romanzoffiana* apresentou inibição significativa ($p < 0,5$) nas concentrações de 80 e 160 $\mu\text{g/ml}$. Já os extratos de *B. lalemantii* e *B. capitata* foram ativos a partir de concentração de 20 $\mu\text{g/ml}$.

Tabela II.2.1.: Resultados do efeito exercido pelo extrato metanólico da polpa dos frutos de *Syagrus romanzoffiana* sobre a migração de leucócitos em ensaio em câmara de Boyden.

Concentrações (µg/ml)	Média ± DP (µm)	% Inibição
Controle	114 ± 3,3	-
40	112 ± 2,8	0
80	91,7 ± 2,8*	20
160	41,3 ± 1,0*	63,7

*p < 0,5;
DP = desvio padrão

Tabela II.2.2.: Resultados do efeito exercido pelo extrato metanólico da polpa dos frutos de *Butia capitata* sobre a migração de leucócitos em ensaio em câmara de Boyden.

Concentrações (µg/ml)	Média ± DP (µm)	% Inibição
Controle	114 ± 3,3	
10	112 ± 2,2	2,0
20	98,2 ± 5,4	13,8
40	87,6 ± 3*	23,2
80	65,0 ± 3,9*	43,0
160	5,0 ± 1,1*	95,6

*p < 0,5;
DP = desvio padrão

Tabela II.2.3.: Resultados do efeito exercido pelo extrato metanólico da polpa dos frutos de *Butia lallemantii* sobre a migração de leucócitos em ensaio em câmara de Boyden.

Concentrações (µg/ml)	Média ± DP (µm)	% Inibição
Controle	114,0 ± 3,3	
10	112,8 ± 2,2	0
20	109,0 ± 3,1	4,4
40	92,5 ± 2,8*	18,9
80	28,0 ± 2,8*	75,4
160	4,7 ± 1,0*	96,5

*p < 0,5;
DP = desvio padrão

Os resultados do ensaio com todas as amostras apresentaram relação dose-dependência, sendo a inibição da migração foi crescente com o aumento das concentrações de extrato.

A atividade dos extratos metanólicos aparentemente está relacionada com o conteúdo de polifenóis, uma vez que o menor teor de polifenóis foi observado para a

espécie *S. romanzoffiana* e o extrato desta espécie teve ação somente acima de 40 µg/ml.

A literatura reporta que misturas de compostos fenólicos diminuem a produção de fatores pró-inflamatórios (CARTRON *et al.*, 2001). Também, estudo realizado por Lee e colaboradores utilizando administrações orais 20, 40 e 200 mg/Kg (quantidade de extrato/massa do rato) de extrato aquoso de cacau, rico em polifenóis e flavonóides, demonstrou inibição, de maneira dose-dependente, do edema de pata de rato, evidenciando a ação anti-inflamatória dessa classe (LEE *et al.*, 2006).

Os resultados referentes ao óleo das espécies *S. romanzoffiana*, *B. capitata* e *B. lalemantii* estão representados nas Tabelas II.2.4.; II.2.5.; II.2.6, respectivamente. As amostras do óleo de *S. romanzoffiana* se mostraram ativas a partir da concentração de 10 µg/ml enquanto as espécies de *Butia* já apresentaram atividade inibitória na concentração de 5 µg/ml.

O resultados obtidos com o experimento realizado com os óleos também se mostrou dose-dependente e a atividade inibitória máxima foi atingida com a concentração de 160 µg/ml para a espécie *B. lalemantii*, a ação inibitória nas concentrações de 80 e 160 µg/ml não apresentaram diferença significativa entre si, sugerindo que a concentração de 80 µg/ml já tenha atingido inibição máxima.

Tabela II.2.4.: Resultados do efeito exercido pelo óleo fixo das amêndoas de *Syagrus romanzoffiana* sobre a migração de leucócitos em ensaio em câmara de Boyden.

Concentrações (µg/ml)	Média ± DP (µm)	% Inibição
Controle	114 ± 3,3	-
5	113 ± 3,1	0
10	83,8 ± 3,1*	26,5
20	58,3 ± 5,5*	38
40	37,3 ± 2,3*	48,8
80	22,2 ± 2*	80,4
160	11,6 ± 1,2*	92,5

*p < 0,5;

DP = desvio padrão

Tabela II.2.5.: Resultados do efeito exercido pelo óleo fixo das amêndoas dos frutos de *Butia capitata* sobre a migração de leucócitos em ensaio em câmara de Boyden

Concentrações (µg/ml)	Média ± DP (µm)	% Inibição
Controle	114 ± 3,3	
5	81,3 ± 1,6*	28,6
10	68,0 ± 3,2*	40,4
20	56,7 ± 4,1*	50,4
40	39,6 ± 1,6*	65,2
80	23,0 ± 1,2*	79,8
160	13,4 ± 2,4*	88,3

*p < 0,5;
DP = desvio padrão

Tabela II.2.6.: Resultados do efeito exercido pelo óleo fixo das amêndoas dos frutos de *Butia laevis* sobre a migração de leucócitos em ensaio em câmara de Boyden

Concentrações (µg/ml)	Média ± DP (µm)	% Inibição
Controle	114,0 ± 3,3	
5	58,7 ± 2,1*	48,5
10	33,7 ± 1,9*	70,5
20	25,0 ± 2,5*	78,0
40	17,7 ± 2,7*	84,4
80	5,4 ± 1,3*	95,0
160	5,7 ± 1,4*	95,0

*p < 0,5;
DP = desvio padrão

Na literatura não foram encontrados estudos que relacionassem os óleos das espécies trabalhadas ou óleos com composição química muito parecida com estudos *in vitro* ou *in vivo* de ação antiinflamatória. Com isso, face aos resultados de inibição da migração leucocitária induzida por LPS de modo dose-dependente, que sugerem atividade antiinflamatória, vemos como perspectivas a necessidade de teste em outros modelos experimentais que reconstituam de modo mais fidedigno as condições fisiológicas para a confirmação desta atividade bem como a avaliação dos componentes insaponificáveis do óleo.

Cada vez mais, dietas ricas em frutas e vegetais têm sido relacionadas com a proteção de diversas doenças, especialmente com distúrbios cardiovasculares e alguns tipos de câncer. Bock e colaboradores analisaram aproximadamente 200 estudos que relacionam a incidência de câncer e o consumo de frutas e vegetais e concluíram que existe correlação estatística significativa nos resultados obtidos (TSAI *et al.*, 2007).

Desta forma, é observado crescente interesse por frutas e vegetais que possam, além da nutrição, desempenhar funções benéficas à saúde. Além disso, devido ao grande potencial representado pela família Arecaceae, caracterizada pelo grande número de espécies com grande valor agregado como o açaí, coco, babaçu, dendê, este trabalho buscou contribuir com informações químicas e bioatividades de três espécies de palmeiras.

Os resultados obtidos com as análises quantitativas dos elementos minerais Ca, Zn, Mg, Fe, Cu e Mn indicam que a polpa das espécies trabalhadas podem ser consideradas fontes para a obtenção desses elementos, especialmente a espécie *S. romanzofiana* como fonte de cálcio (139,9 mg/100g). As variações observadas entre os teores de Mg, Fe, Zn e Cu para as três coletas da mesma espécie bem como as variações nos teores de polifenóis totais podem estar relacionadas com diversos fatores que vão desde variações climáticas ao estágio de maturação do fruto.

O óleo volátil presente nos mesocarpos de *B. capitata* apresentou constituintes como betacariofileno, alfa-humuleno, biciclogermacreno, que possuem importantes atividades biológicas e farmacológicas descritas na literatura (OSORIO *et al.*, 2006; da SILVA *et al.*, 2007). Desta forma a presença destes compostos pode agregar valor funcional aos frutos.

O valor nutricional dos alimentos está fortemente relacionado com o perfil de ácidos graxos que o compõe (CARVALHO *et al.*, 2005). Com isso, buscamos, através de três diferentes técnicas, identificar e quantificar os componentes do óleo das amêndoas e do mesocarpo dos frutos de *Syagrus romanzofiana*. Também se investigou a composição desses lipídios nos mesocarpos de *B. capitata* e *B. lalemantii*. O óleo de *Syagrus romanzofiana* se caracterizou basicamente pela presença de ácidos graxos saturados de cadeia média com valores superiores a 70 % do total de identificados.

O teor de 28 % de óleo encontrado nas amêndoas credita esta espécie à fonte produtora de óleo vegetal. Em relação à composição de ácidos graxos no óleo, observa-se que existem semelhanças entre os perfis do óleo de coco e o do óleo de *Syagrus*. Ambos apresentam predominância de ácidos graxos saturados, em especial, o ácido láurico. No entanto a espécie *S. romanzofiana* é nativa do Brasil e possui distribuição em grande parte do território nacional. No que se refere às possibilidades de aplicação industrial para o óleo desta espécie é observado potencial de aplicação na indústria de nutrição parenteral e enteral, pois estas necessitam conter em sua porção lipídica, triglicerídeos de cadeia média para a geração imediata de energia. Desta forma, fontes ricas desses compostos, como o óleo de coco, possuem demanda nesse segmento industrial.

Ainda na indústria alimentícia, esses óleos podem ser utilizados no preparo de margarinas e derivados, já que teor elevado de ácidos saturados favorece os processos de hidrogenação. Além disso, tendo em vista o crescente interesse das indústrias química e farmacêutica por novos produtos com componentes obtidos de fontes naturais há potencial de utilização destes óleos na fabricação de xampus, sabonetes, bases lipofílicas, cremes, loções e óleos hidratantes, emulsões, entre outros produtos farmacêuticos que utilizem componentes lipofílicos em sua formulação.

A literatura reporta que estudos realizados com triglicerídeos de cadeia média em animais e ensaios clínicos com humanos não demonstraram toxicidade ou sensibilização nas administrações oral, parenteral e cutânea desses componentes (TRAUL, *et al.*, 2000), o que se mostra vantajoso frente aos componentes lipofílicos sintéticos ou derivados do petróleo. Além disso, se observou a presença dos ácidos cáprico e caprílico com teores incomuns em vegetais. Estes ácidos graxos se caracterizam por grande poder de emoliência e hidratação.

As polpas não se mostraram fontes promissoras para a extração de óleo para fins de exploração e comercialização, devido o baixo rendimento apresentado. No entanto, a presença do óleo agrega valor energético aos mesocarpos. A polpa de *B. capitata*, além do valor energético, apresentou elevado teor de ácidos graxos insaturados como o oléico e linolênico, que possuem grande valor nutricional, sendo o último, considerado essencial e dotado de ações farmacológicas importantes como antiinflamatória e antioxidante (SIERRA *et al.*, 2006; HORIA *et al.*, 2007).

Os extratos metanólicos das três espécies apresentaram capacidade seqüestradora de radicais livres e, também, apresentaram inibição da migração de leucócitos em ensaio realizado em câmara de Boyden. Estes resultados sugerem que possa existir relação entre as duas ações, uma vez que a atividade antiinflamatória de muitos vegetais é relacionada com as propriedades antioxidantes de seus polifenóis (ARAUJO *et al.*, 2002).

Nas análises realizadas por CLAE, foi observada a presença de ácidos fenólicos derivados do ácido hidroxicinâmico bem como compostos com o espectro de ultravioleta característico de flavonóis nas três espécies. Para essas classes químicas são relatadas ações antioxidante (KWEON *et al.*, 2001) bem como a ação antiinflamatória (CLAVIN *et al.*, 2007).

Correlacionando as atividades antioxidante e antiinflamatória *in vitro* do extrato metanólico da espécie *S. romanzoffiana*, que se mostrou menos potente em relação às espécies de *Butia*, com os perfis cromatográficos obtidos por CLAE, percebe-se que a espécie *S. romanzoffiana* apresentou menor número de compostos com espectro de ultravioleta característicos de flavonóides. Além disso, esta espécie também apresentou menor teor de fenólicos totais determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, o que vem a corroborar com correlação aos resultados das atividades biológicas testadas e a presença de compostos fenólicos no extrato.

Os óleos extraídos das amêndoas das três espécies também apresentaram potente inibição da migração de leucócitos. Essa ação para o óleo dessas espécies em estudo é inédita na literatura. Com isso, diante do potencial de ação antiinflamatória desses óleos, ressaltamos a necessidade de testes complementares e que simulem de modo mais fidedigno os eventos fisiológicos envolvidos no processo inflamatório.

O perfil cromatográfico dos mesocarpos das três espécies se mostrou complexo devido à elevada quantidade de compostos com tempos de retenção muito próximos, o que dificultou a separação completa de alguns picos. Com isso, a identificação dos compostos foi dificultada devido ao grande número de estruturas com espectro no ultravioleta semelhantes, bem como pela ausência de padrões autênticos que apresentassem o mesmo tempo de retenção. Alguns estudos realizados com outras espécies de *Arecaceae* também encontraram dificuldades na obtenção de cromatogramas com boa resolução entre os picos bem como na identificação dos picos, já que são ricos em derivados dos mesmos núcleos (ácido

hidroxicinâmico e flavonol) com pequenas variações estruturais (GALLORI *et al.*, 2004; POZO-INSFRANS *et al.*, 2006; SEVERINATNE *et al.*, 2008).

De maneira geral, apesar de não ter sido possível identificar os constituintes do extrato metanólico das três espécies, o presente trabalho veio a contribuir com dados fitoquímicos e farmacológicos referentes aos mesocarpos e amêndoas das espécies *B. capitata*, *B. lalemantii*, *S. romanzofiiiana* que agregam valor nutritivo e funcional aos frutos destas espécies. Os resultados obtidos indicam novas perspectivas de continuidade do trabalho, com destaque para a identificação dos fenóis presentes nos mesocarpos bem como a maior investigação do potencial antiinflamatório de óleo das amêndoas das três espécies.

Além disso, no âmbito econômico, a valorização comercial desses óleos está relacionada com a possibilidade de aproveitamento de subprodutos do processamento de indústrias de doces, qualificando a cadeia produtiva, minimizando a geração de resíduos e aumentando os lucros no processo.

Conclusões

Quanto à avaliação química:

- Os mesocarpos das espécies *B. capitata*, *B. lalemantii* e *Syagrus romanzoffiana* se mostraram fontes de obtenção os nutrientes minerais como ferro, magnésio, manganês, cobre, cálcio e zinco.
- A espécie *B. capitata* apresentou óleo volátil com componentes sesquiterpênicos com estudos de ação biológicas e farmacológicas.
- O teor de compostos fenólicos totais nos mesocarpos de *B. capitata*, determinados utilizando-se Folin-Ciocalteu, foi mais elevado para a coleta de 2005 e mais baixo para a coleta de 2007.
- O teor de polifenóis totais presentes nos mesocarpos liofilizados foi maior para a espécie *B. capitata*, seguido da espécie *B. lalemantii* e *S. romanzoffiana*.
- As análises por CLAE evidenciaram a presença de compostos derivados de ácido caféico e clorogênico bem como de flavonóides, principalmente, com o núcleo flavonol.

Quanto à avaliação de bioatividades:

- Os extratos metanólicos das espécies *B. capitata*, *B. lalemantii* e *Syagrus romanzoffiana* apresentaram atividade sequestradora de radicais livres.
- Os extratos metanólicos bem como os óleos fixos das espécies *B. capitata*, *B. lalemantii* e *Syagrus romanzoffiana* apresentaram significativa atividade antiinflamatória *in vitro*;

Os resultados obtidos com o desenvolvimento deste trabalho demonstraram a presença de metabólitos especiais e bioativos nos mesocarpos de *Butia capitata*, *Butia lalemantii* e *Syagrus romanzoffiana* que agregam valor nutricional e nutracêutico aos frutos dessas espécies. A presença de óleo fixo com rendimento

elevado (próximo a 30%) e o perfil de ácidos graxos caracterizado para o óleo das amêndoas de *Syagrus romanzoffiana*, indicaram que esta espécie possui potencial de utilização industrial. Com isso, ressaltamos a importância de utilização dos frutos dessas palmeiras na alimentação bem como o estímulo ao cultivo e valorização econômica dessas espécies.

Referências Bibliográficas

ABREU, F.R.; LIMA, D.G.; HAMÚ, E.H.; WOLH, C.; SUAREZ, P.A.Z. Utilization of metal complexes as catalyst in the transesterification of brazilian vegetable oils with different alcohols. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v.209, p.29-33, 2004.

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Illinois: Carol Stream, 2001.

Agência Nacional de vigilância sanitária Disponível em: <[http:// www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). >, acesso: julho de 2008.

AL-AWADI, F.M.; SRIKUMAR, T.S. Trace-element status in milk and plasma of Kuwaiti and non-Kuwaiti lactating mothers. **Nutrition**, v.6, n.11-12, p.1069-1073, 2000.

ALMEIDA, L.F.R.; DELACHIAVE, M.E.A. MARQUES, M.O.M. Composição do óleo essencial de rubim (*Leonurus sibiricus* L. – Lamiaceae). **Revista Brasileira de plantas medicinais**, v.8, n.1, p.35-38, 2005.

ARAUJO, L.; BUITRAGO, D.; MARQUINA, M.A. MORALES, N. MÉNDEZ, G.; PERNIA, T.; SOSA, M. Comparation de la actividad anti-inflamatória de los polifenoles presentes em las frutas; Mora (*Rubus fruticosus* B.), Fres (*Fragaria vesca* L.) y grapefruit (*Citrus paradasi* M.), **Revista da facultad de Farmácia**, v.44, 2002.

AZEEZ, S. Fatty acid profile of coconut oil in relation to nut maturity and season in selected cultivars/hybrids. **British Food Journal**, v.109, n.4, p.272-279, 2007.

AZZI, A.; DAVIES, K.J.A.; KELLY, F. Free radical biology - terminology and critical thinking. **Febs Letters**, v.558, n.1-3, p.3-6, 2004.

BALDIOLI, M.; SERVILI, M.; PERRETTI, G.; MONTEDORO, G.F. Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil, **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.73, p.1589–1593, 1996.

BATES, D.M. **Utilizations pools: a framework for comparing and evaluating the economic importance of palms**. In: BALICK, M.J. The palm – tree of life: biology, utilization and conservation. New York: The New York Botanical Garden, p.56-64, 1988.

BERNACCI, L.C.; MARTINS, F.R.; DOS SANTOS, F.A.M. Estrutura de estádios ontogenéticos em população nativa da palmeira *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman (Arecaceae). **Acta Botânica Brasileira**, v.22, n.1, p.119-130, 2008.

BORA, P.S; ROCHA, R.V. M.; NARAIN, N.; MOREIRA-MONTEIRO, A.C.; MOREIRA, R.A. Characterization of principal nutritional components of Brazilian oil palm (*Eliaes guineensis*) fruits. **Bioresource Technology**, v.87, n.1, 2003.

BORDAJANDI, L.R.; GÓMEZ, G.; ABAD, E.; RIVERA, J.; FERNANDEZ-BASTÓN, M.; BLASCO, J.; GONZÁLEZ, M. J. Survey of persistent organochloride contaminants (PCBs, PCDD/Fs and PAHs), heavy metals (Cu, Cd, Pb, and Hg), and arsenic in food

samples from Huelva (Spain): levels and health implications. **Journal of Agriculture And Food Chemistry**, v.52, p.992-1001, 2004.

BOYDEN, S. The chemotatic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leukocytes. **Journal of Experimental Medicine**, v.15, p.453-466, 1962.

BOYER, J.; BROWN, D.; LIU, R.H. Uptake of quercetin and quercetin 3-glucoside from whole onion and apple peel extracts by Caco-2 cell monolayers. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.52, p.7172-7179, 2004.

BUENO, L. Effect of medium-chain triglycerides, fiber and calcium on the availability of magnesium and zinc by an in vitro method and response surface methodology. **Química Nova**, v.31, n.2, 2008.

CABALLERO, B. Interactions among the components of the diet. **Archives Latinoamerican Nutrition**, v.38, n.3, p.656-684, 1988.

CAISSARD, J.; MEEKIJJIRONENRO, J, A.; BAUDINO, S.; ANSTETT, M. Localization os production and emission of pollinator attractant on whole leaves of *Chamaerops humilis* (Arecaceae). **American Journal of Botany**, v.91, n.8, p.1190-1199, 2004.

CALDER, P.C. Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity. **Lipids** v.36, n.9, 2001.

CANE, D.E. Enzimatic formation of sesquiterpenes. **Chemical Reviews**, v.90, p. 1089-1103, 1990.

CARDOSO, C.L.; CASTRO-GAMBOA, I.; SILVA, D.H.S.; FURLAN, M.; EPIFANIO, R. A.; PINTO, A. C.; REZENDE, C.M.; LIMA, J.A.; BOLZANI, V.S. Indole Glucoalkaloids from *Chimarrhis turbinata* and their evaluation as antioxidant agents and Acetylcholinesterase Inhibitors. **Journal of Natural Products**, v.67, p.1882-1885, 2004.

CARTRON, E.; CARBONNEAU, M. A.; FOURET, G.; DESCOMPS, B.; LÉGER, C. L. Specific antioxidant activity of caffeoyl derivatives and other natural phenolic compounds: LDL protection against oxidation and decrease in the proinflammatory lysophosphatidylcholine production. **Journal of Natural Products**, v. 4, n. 64, p. 480-486, 2001.

CARVALHO, A. P.; MALCATA, F. X. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-chromatographic analysis of marine lipids: insight studies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** , v.53, p. 5049-5059, 2005.

CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P., 2000. Compostos fenólicos simples e heterosídeos. In: Simões, C. M. O., Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P. D.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.387-415.

CHEN, H.; ZUO, Y. Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatographia A**, v.913, p.387-395, 2001.

CLAVIN , S.; GORZALCZANY, A.; MACHO, E.; MUÑOZ, G.; FERRARO, C.; ACEVEDO; MARTINO, V. Anti-inflammatory activity of flavonoids from *Eupatorium arnottianum*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.112, p. 585-589, 2007.

CLAYE, S.S.; IDOURAINE, A.; WEBER, C.W. In-vitro mineral binding capacity of five fiber sources and their insoluble components for magnesium. **Food Chemistry**, v. 61, p. 333, 1998.

da SILVA, L.; ONIKI, G.H.; AGRIPINO, D.G.; MORENO, P.R.H.; YOUNG, M.C.M.; MAYWORM, M.A.S.; LADEIRA, A.M. Biciclogermacreno, resveratrol e atividade antifúngica em extratos de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis (Vitaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, 2007.

da SILVA, T.B.C.; ALVES, V.L.; MENDONÇA, L.V.H.; CONSERVA, L.M.; da ROCHA, E.M.M.; ANDRADE, E.H.A.; LEMOS, R.P.L. Chemical constituents and preliminary antimalarial activity of *Humiria balsamifera*. **Pharmaceutical Biology**, v. 42, n.2, p.94-97, 2004.

de CASTRO, H.F.; MENDES, A.A.; dos SANTOS, J.A.; de AGUIAR, C.L. Modificação de Óleos e Gorduras por Biotransformação. **Química Nova**, v.27, n.1, 2004.

DEBLE, L.P.; JOSÉ NEWTON CARDOSO MARCHIORI, J. N. C. *Butia lallemantii*, uma nova Arecaceae do Brasil. **Balduinia**, n.9, p.1-3, 2006.

DEL POZO-INSFRAN, D.; PERCIVAL, S. S.; TALCOTT, S.T. Açai (Euterpe oleracea Mart.) Polyphenolics in their Glycoside and Aglycone Forms Induce Apoptosis of HL-60 Leukemia Cells, **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.54, p.1222-1229, 2006.

Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academy Press: Washington, p.724, 2001.

DURÁN, R.; FRANCO, M. Estudio demográfico de *Pseudophoenix sargentii*. **Bulletin de l'Institute Français d'Études Andines**, v.21, p.609-621, 1992.

ECHEVERRÍA, G.; FUENTES, GRAEL, J. LARA, I.; LÓPEZ. Aroma volatile compounds of "Fuji" apples in relation to harvest date and cold storage technology. A comparison of two seasons, **Biology and Technology**, v.32, p.29-44, 2004.

EISENSTEIN, R. S. Iron regulatory proteins and the molecular control of mammalian iron metabolism. **Annual Reviews of Nutrition**, v.20, p.627-662, 1998.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 4. ed. Strasbourg: Council of Europe, 2002.

Farmacopéia Brasileira 4.ed.São Paulo: Atheneu, 1988.

FERNANDEZ-MOYA, V.; MARTINEZ-FORCE, E.; GARCES, F. Identification of Triaculglycerol Species from High-Saturated Sunflower (*Helianthus Annuus*) Mutants, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.764-769, 2000.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9.ed. p.307, 2007.

FRÖEHLICH, P. E.; PINTO, R. B.; WORTMANN, A. C.; MAGALHÃES, R. B.; SCHNEIDER, A. C. R.; FERREIRA, J. J.; SILVEIRA, T. R. Full validation of na eletrothermal atomic absortion assay for zinco in hepatic tissue using a fast sample preparation procedure. **Spectroscopy**, v.20, p.81-87, 2006.

GABRIELI, C.N.; KEFALAS, P.G.; KOKKALOU, E.L. Antioxidant activity of flavonoids from *Sideritis raeser*, **Journal of Ethnopharmacology**, v.96, n.3, p.423-428, 2005.

GALETTI, M.; PASCHOAL, M.; PEDRONI, F. Predation on Palm Nuts (*Syagrus romanzoffiana*) by Squirrels (*Sciurus ingrami*) in South-East Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v.8, n.1, p. 121-123, 1992.

GALLART, M.; FRANCIOLI, S.; VIU-MARCO, A.; LOPEZ-TAMAMES, E. BUXADERAS, S. Determination of free acids and their etil esters in must and wines, **Journal of Cromatography A**, v.776, p.283-291, 1997.

GALLORI, S.; BILIA, A.R.; BERGONZI, M.C.; BARBOSA, W.L.R.; VINCIERI, F.F. Polyphenolic constituents of fruit pulp of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí palm), **Chromatographia**, v.59, n.11-12, 2004.

GARCES, R.; MANCHA, M. One-step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissue. **Analitical Biochemistry**. v.211, p.139-143, 1993.

GEISSMAN, T. A. Y.; CROUT, D. H. G. **Organic chemistry of secondary plant metabolism**. Freeman Cooper: San Francisco, 1969.

GEREON, G.; QWN, S.; GUENTHER, A.; GREENBERG, J.; RESMUSSEN, R.; BAI, J. H.; LI, Q, BAKER, B. Volatile organic compounds from vegetation in southern Yunnan Province, China: Emission rates and some potential regional implications. **Atmospheric Environment**, v.40, p.1759-1773, 2006.

GILGUN-SHERKI, Y.; MELAMED, E.; OFFEN, D. Oxidative stress induced-neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. **Neuropharmacology**, v.40, n.8, p. 959-975, 2001.

GLASSMAN, S.F. Revision of the palm genus *Syagrus* Mart. and the other genera in the *Cocos* Alliance. **Illinois Biological Monographs**, v. 56, p.1-231, 1987.

GUIGNARD, J. L.; COSSON, L.; HENRY, M. **Abréngé de phytochimie**, Masson, Paris, 1985.

GUNSTONE, F.D. The chemistry of oils and fats. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.79, p. 535, 1999.

GURR, M.I.; HARWOOD, J.L. **Lipid Biochemistry: an Introduction**. 4. ed., London: Chapman & Hall, p.162-243, 1996.

GUTIERREZ, M.; SOLA, M.M.; VARGAS, A.M. Fatty acid composition of phospholipids in mesocar of cherimoya fruit during ripening. **Food Chemistry**, v.90, p.341-346, 2005.

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition**, v.16, p.33-50, 1996.

HANSEN, M.; BUTTERY, R.G.; STERN, D.J.; CANTAWELL, M.I. LING, L. Broccoli storage under low-oxygen atmosphere - identification of higher boiling volatiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.40, n.5, p. 850-852, 1992.

HARRIS, E. D.; COPPER. IN: O'DELL B.L., SUNDE R. A, **Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements**. New York: Marcel Dekker, p.231–273, 1997.

HASSIMOTTO, N.M.A.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables and commercial frozen fruit pulps. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.53, p.2928-2935, 2005.

HAVSTEEN, B.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmaceutical Therapy**, v.96, p.67-202, 2002.

HE, Z.L.; YANG, X.E.; STOFFELLA, P.J. Trace elements in agroecosystems and impact on the environment. **Journal of Trace Elements and Biology**, v.19, p.125-140, 2005.

HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. **Field guide to the palms of the Americas**. Princeton: Princeton University, 1995.

HENRY, G.E.; MOMIN, R.A.; NAIR, M.G. Antioxidant and cyclooxygenase activities of fatty acids found in food. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v.50, n.8 p.2231-2234, 2002.

HSU, P.C.; GUO, Y.L.; Antioxidant nutrients and lead toxicity. **Toxicology**, v.180, p.33-44, 2004.

HUJANEN, E.S.; SEPPÄ, S.T.; VIRTANEN, K. Polymorphonuclear leucocyte chemotaxis induced by zinc, copper and nickel in vitro. **Biochimica et Biophysica**, v.1245, p.145-152, 1995.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, v.1, 1985, 533p.

JIANG, W.G.; REDFERN, A.; EYNARD, A.; MANSEL, R.E. Polyunsaturated fatty acid and their role in cancer invasion and metastasis. **Cancer Metastasis Treatment**, v.1, p.225-250, 2000.

JIMENEZ-ALVAREZ, D.; GIUFFRIDA, F.; VANROBAEYS, F.; GOLAY, P.A.; COTTING, C.; LARDEAU, A.; KEELY, B.J. High-Throughput Methods To Assess Lipophilic and Hydrophilic Antioxidant Capacity of Food Extracts in Vitro. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.56, p.3470–3477, 2008.

KLASSEN, C.D.; WATKINS III, J.B. **Toxicologia, a Ciência Básica dos Tóxicos**. Portugal: editora McGraw-Hill, 2001.

KWEON, M.; HWANG, H.; SUNG, H. Identification and Antioxidant Activity of Novel Chlorogenic Acid Derivatives from Bamboo (*Phyllostachys edulis*). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.49, n.10, 2001.

LAU, F.C. SHUKITT-HALE, B.; JOSEPH, J.A. The beneficial effects of fruit polyphenols on brain aging. **Neurobiology of Aging**, v.26, p.28-132, 2005.

LEE, K.W.; KUNDU, J.K.; KIM, S.O.; CHUN, K.S.; LEE, H.J.; SURH, Y.J. Cocoa polyphenols inhibit phorbol ester-induced superoxide anion formation in cultured HL-60 cells and expression of cyclooxygenase-2 and activation of NF-kappaB and MAPKs in mouse skin in vivo. **Journal of Nutrition**, v.5, n.136, p.1150-1155, 2006.

LEY, K.; LAUDANNA, C.; CYBULSKY, M. I. NOURSHARG, S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. **Nature**, v.7, p.678-689, 2007.

LIM, Y.Y.; LIM, T.T.; TEE, J.J. Antioxidant proprieties of several tropical fruits: a comparative study. **Food Chemistry**, v.103, p.1003-1008, 2007.

LIMA, E.S.; FELFILI, J.M.; MARIMON, B.S.; SCARIOT, A. Diversidade, estrutura e distribuição espacial de palmeiras em um cerrado *sensu stricto* no Brasil Central – DF. **Revista Brasileira de Botânica**, v.26, n.3, p.361-370, 2003.

LIMA, E. S.; FELFILI, J. M.; MARIMON, B. S.; SCARIOT, A. Diversity, structure and spatial distribution of palms in a cerrado *sensu stricto* in Central Brazil – DF. **Revista Brasileira de Botânica**, v.26, n.3, p.361-370, 2003.

LORENZI, H. **Palmeiras no Brasil: exóticas e nativas**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1996, 303p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992, 352p.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; MADEIROS-COSTA, J. T.; CERQUEIRA, L. S. C.; FERREIRA, E. **Palmeiras Brasileiras e Exóticas Cultivadas**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2004, 432 p.

MAAG, H. Fatty Acid Derivatives: Important Surfactants for Household, Cosmetic and Industrial Purposes. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.61, n.2, 1984.

MAIGA, A.; DIALLO, D.; BYE, R.; PAULSEN, B. S. Determination of some toxic and essential metal ions in medicinal and edible plants from Mali. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.2316-2321, 2005.

MAMBRIM, M.C.T.; BARRERA-ARELLANO, D. Characterization of palm tree fruit oils from Brazilian Amazonia region. **GRASAS Y ACEITES**, v.48, n.3, p.154-158, 1997.

MANSOURI, A; EMBAREK, G; KOKKALOU, E.; KEFALAS, P. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). **Food Chemistry**, v.89, n.3, p.411-420, 2005.

MARCHIORI, J.N.C. **Fitogeografia do Rio Grande do Sul: campos sulinos**. Porto Alegre, 2004, 110p.

MARCHIORI, J.N.C.; ELESBÃO, L.E.G.; ALVAREZ FILHO, A. O. Palmar do Coatepe. **Ciência & Ambiente**, v.5, n.11, p.93-104, 1995.

MARTINS, A.G. **Influência de fatores tecnológicos na avaliação analítica e farmacológica dos extratos secos de *Maytenus ilicifolia* Martius x reis**, Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1998.

MATTOS, J. R. Palmeiras do Rio Grande do Sul. **Roessleria**, v.1, n.1, p.5-94, 1977.

MELLO, S.B.V.; FARSKY, S.H.P.; SANNOMIYA, P.; GARCIA-LEME, J. Inhibition of neutrophil chemotaxis and chemokinesis associated with plasma protein in aging rats: selective depression of cell responses mediated by complement-derived chemoattractants. **Journal of Leukocyte Biology**, v.51, p.46-52, 1992.

MENDONÇA-FILHO, R.R.; RODRIGUES, I.A.; ALVIANO, D.S.A.; SANTOS, A.L.S.; SOARES A.R.M.A.; ALVIANO, C.S.; LOPES, A.H.C.S.; ROSA, S.A.M. Leishmanicidal activity of polyphenolic-rich extract from husk fiber of *Cocos nucifera* Linn. (Palmae). **Research in Microbiology**, v.155, p.136-143, 2004.

MERTENS-TALCOTT, S.U.; PERCIVAL, S.S. Ellagic acid and quercetin interact synergistically with resveratrol in the induction of apoptosis and cause transient cell cycle arrest in human leukemia cells, **Cancer Letters**, v.218, p.141-151, 2005.

Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE**. Produção da Extração Vegetal e Silvicultura, Rio de Janeiro, v.21, p.1-45, 2006.

MIRDEHGHAN, S.H., RAHEMI, M. Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. **Scientia Horticulturae**, v.111, p.120-127, 2007.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v.26, n.2, p. 211-219, 2004.

MONTEIRO, S. C. M.; MOREIRA, H. W.; DE SOUZA, A. M. Metabolismo do ferro. **Ciência e Cultura**, v.1, n.1, 2006.

MORENO, D.A. ; VILLORA, G.; ROMERO, L. Variations in fruit micronutrient contents associated with fertilization of cucumber with macronutrients. **SCIENTIA HORTICULTURAE**, v.97, n.2, p.121-127, 2003.

MORGANO, M.A.; SOUZA, L.A.; JÚLIO, M.; NETO, J.M. Mineral composition of human bank milk. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.8-9, 1999.

MOTAUNG, E.; PRINSLOO, S. E.; VAN ASWEGEN, C. DU TOIT, P.; BECKER, P.J.; DU PLESSIS, D. J. Cytotoxicity of combined essential fatty acids on human prostate cancer cell line. **Prostaglandins, Leucotrienes and essential fatty acids**, v.61, p. 331-337, 1999.

NOBLICK, L.R. *Syagrus*. **The Palm Journal**, v. 126, p.12-46, 1996.

OKONOJI, S.; DUANGRAT, C.; ANUCHPREEDA, S.; TACHAKITTIRUNGROD, S.; CHOWWANAPHOONPOHN, S. Comparasion of antioxidant capacities and citotoxicities of certain fruit peels. **Food Chemisty**, v.103, p.839-846, 2007.

OLMOS, F.; GLAND, S. Tapirs as seed disperses and predators. in: Brooks, BODMER, R. E.; MATOLA, S. Tapirs: status survey and conservation action plan. gland: iucn/ss. **Tapir Specialist Group**, p.3-9, 1997.

OSORIO, C.; ALARCON, M.; MORENO, C.; BONILLA, A.; BARRIOS, J.; GARZON, C.; DUQUE, C. Characterization of odor-active in Champa (*Campomanesis lineatifolia* R. & P.), **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.509-516, 2006.

PAAL, M.L. NMDA sensibilization and stimulation by peroxynitrite, nitric oxide and organic solvents as the mechanism of chemical sensivity in multiple chemical sensivity. **The FASEB Journal**, v.16, p.1407-1417, 2002.

PAYET, B.; SING, A. S. C.; SMADJA, J. Comparation of the concentrations of phenolic constituents in cane sugar manufacturing products with their antioxidant activity. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.54, n.19, p.7270-7276, 2006.

PEREIRA, B.A.S. Flora nativa. In: **Alternativas de desenvolvimento dos cerrados: conservação dos recursos naturais renováveis**. Fundação Pró-Natureza, p.53-57, 1996.

PINO, J A.; MARBOT, R.; VÁZQUEZ, C. Characterization os volatiles in strawberry guava (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.49, p.5883-5887, 2001.

PRASANNA, V.; PRABHA, T. N.; THARANATHAN, R. N. Fruit Ripening Phenomena-An Overview. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.47, n.1, p.1- 19, 2007.

REIS, M. S.; FANTINI, A. C.; NODARI, R. O.; REIS, A.; GUERRA, M. P.; MANTOVANI, A. Management and conservation of natural populations in atlantic rain forest. The case study of palm heart (*Euterpe edulis* Martius). **Biotropica**, v.32, p.894-902, 2000.

REITZ, R. Palmeiras. In: Flora ilustrada catarinense. **Herbário Barbosa Rodrigues**, Itajaí, 1974.

REITZ, R.; ROSÁRIO, L. A.; SCHMITZ, J.R. Restauração da fauna da baixada do Maciambu, **Sellowia, Série Zoológica**, v.2, p.124, 1982.

REITZ, R.; KLEIN, R.M.; REIS, A. Projeto madeira de Santa Catarina, **Sellowia**, v.28, p.58-59, 1978.

RICE-EVANS, C. S.; MILLERN, J. Antioxidant activities os flavonoids as bioactive components os foods. **Biochemistry Society Transactions**. v.24, p.790-794, 1996.

ROCHE, M.; DUFOUR, C.; MORA, N.; DANGLES, O. Antioxidant activity of olive phenols mechanistic investigation and characterization of oxidation products by mass spectrometry. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v.3, p.423-430, 2005.

ROSA, L.; CASTELLANI, T.T.; REIS, A.; Biologia reprodutiva de *Butia capitata* var. *odorata* (Palmae) na restinga do município de Laguna, SC. **Revista brasileira de Botânica**, v.21, n.3, 1998.

RUIZ-LÓPES, N.; MARTÍNEZ-FORCE, GARCÉS, R. Sequential one-step extraction and analysis of triacylglycerols and fatty acids in plant tissue. **Analytical Biochemistry**, v.317, p.247-254, 2003.

SANCHEZ-MORITO, N.; PLANELLS, E.; ARANDA, P.; LLOPIS, J. Magnesium-manganese interactions caused by magnesium deficiency in rats. **Journal of the American College of Nutrition**, v.18, n.5, p.475-480, 1999.

Santa Vitória do Palmar. Disponível em: <<http://www.santavitoriadopalmar.rs.gov.br>>. acesso: dezembro de 2007.

SANTELLI, P.; CALBO, M. E. R.; CALBO, A. G. Fisiologia pós-colheita de frutos da palmeira *Syagrus oleracea* (Mart.) Becc. (Arecaceae). **Acta Botanica Brasílica**, v.20, n.3, 2006.

SANTELLI, P.; CALBO, M.E.R.; CALBO, A.G. Fisiologia pós-colheita de frutos da palmeira *Syagrus oleracea* (Mart.) Becc. (Arecaceae). **Acta Botanica Brasílica**, v. 20, n. 3, 2006.

SCHAUSS, A.G.; WU, X.; PRIOR, R.L.; PATEL, D.; HUANG, D.; KABABICK, J.P. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried Amazonian Palm Berry,

Euterpe oleraceae Mart. (Açaí). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.54, p.8598-8603, 2006.

SENEVIRATNE, K.N.; DISSANAYAKE, D.M.S.; Variation of phenolic content in coconut oil extracted by two conventional methods. **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p.597-602, 2008.

SIERRA, S; LARA-VILLOSLADA, F; COMALADA, M. Dietary fish oil n-3 fatty acids increase regulatory cytokine production and exert anti-inflammatory effects in two murine models of inflammation. **Lipids**, v.41, n.12, p.1115-1125, 2006.

HORIA, E.; WATKINS, B.A. Complementary actions of docosahexaenoic acid and genistein on COX-2, PGE(2) and invasiveness in MDA-MB-231 breast cancer cells. **Carcinogenesis**, v. 28, n. 4, p. 809-815, 2007.

SIQUEIRA, J.C. Considerações sobre a biologia da polinização em palmeira gerivá (*Arecastrum romanzoffianum* - Palmae). **Acta Biologica Leopoldensia**, v.11, p.203-212, 1989.

SOUZA, C.M.; SILVA, H. R.; VIEIRA, G. M.; AYRES, M.C.C.; da COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v.30, n.2, 2007.

SOUZA, V. C. ; CORTOPASSI-LAURINO, M. ; SIMÃO-BIANCHINI, R. ; PIRANI, J. R. ; AZOUBEL, M. L. ; GUIBU, L. S. ; GIANNINI, T. C. Plantas apícolas de São Paulo e arredores. In: José Rubens Pirani; Marilda Cortopassi-Laurino. (Org.). **Flores e Abelhas em São Paulo**. ed. 1. São Paulo: EDUSP - Editora da Universidade de São Paulo/ FAPESP, p. 43-192, 1993.

STOREY, R.; TREEBY, M.T. Seasonal changes in nutrient concentrations of novel orange fruit. **Scientia horticulturae**, v.84, p.67-82, 2000.

SUYENAGA, E. S. **Investigação química e avaliação da atividade antiinflamatória de espécies de Mikania (Compositae)**. Dissertação de Mestrado. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1997.

SUYENAGA, E. S.; RECHE, E. M.; FARIAS, F. M.; SCHAPOVAL, E. E. S.; CHAVES, C. M. G.; HENRIQUES, A. T. Antiinflammatory investigation of some species of *Mikania*. **Phytotherapy Research**, v. 16, p. 519-523, 2002.

TAHVONEN, R. Contents of selected elements in some fruits, berries and vegetables on the Finnish marketing. **Food Composition and Analysis**, v.6, p. 75-86, 1993.

TEPE, B.; SOKMEN, M.; SOKMEN, A.; DAFERERA, D.; POLISSIOU, M. Antimicrobial and antioxidative activity of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium organifolium* (Labill.) Manden. & Scheng. **Journal of Food Engineering**, v.69, p.335-342, 2005.

TEPE, B.; SIHOGLU-TEPE, A.; DAFERERA, D.; POLISSIOU, M.; SOKMEN, A. Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Clinopodium vulgare* L. **Food Chemistry**, v.103, p.766–770, 2007.

TOKALOV, S.V.; KIND, B.; WOLLENWEBER, E.; GUTZEIT, H.O. Biological effects of epicuticular flavonoids from *Primula denticulata* on human leukemia cells. **Journal of Agriculture and Food Chemistry** v.52, p.239-245, 2004.

TRAUL, K.A.; DRIEDGER, A.; INGLE, D.L.; NAKHASI, D. Review of the toxicologic properties of medium-chain triglycerides. **Food and chemical toxicology**, v. 38, p. 79-98, 2000.

TSAI, H.L.; CHANG, S.K.C.; CHANG, S.J.; Antioxidant content and free radical scavenging ability of fresh red pummelo [*Citrus grandis* (L.) Osbeck] juice and freeze-dried products. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.55, p.2867-2872, 2007.

WANG, I.K.; LIN-SHIAU, S.Y.; LIN, J.K. Induction of apoptosis by apigenin and related flavonoids through cytochrome c release and activation of caspase-9 and caspase-3 in leukaemia HL-60 cells. **European Journal of Cancer**, v.35, p.1517-1525, 1999.

WHO (World Health Organization). Copper. In: Trace Elements in Human Nutrition and Health. Geneva: Who.123–143, 1996.

WILDMAN, W.C.; FALES, H.M.; BATTERSBY, A.R. Biosynthesis in the Amaryllidaceae. The incorporation of 3-C¹⁴-tyrosine in *Sprekelia formosissima*. **Journal of the American Chemical Society**, v.20, n.4, p.681-682, 1962.

ZIGMOND, S.H.; HIRSCH, J.G. Leukocyte locomotion and chemotaxis. New methods for evaluation and demonstration of a cell-derived chemotactic factor. **Journal of Experimental Medicine**, v.137, p.387-410, 1973.