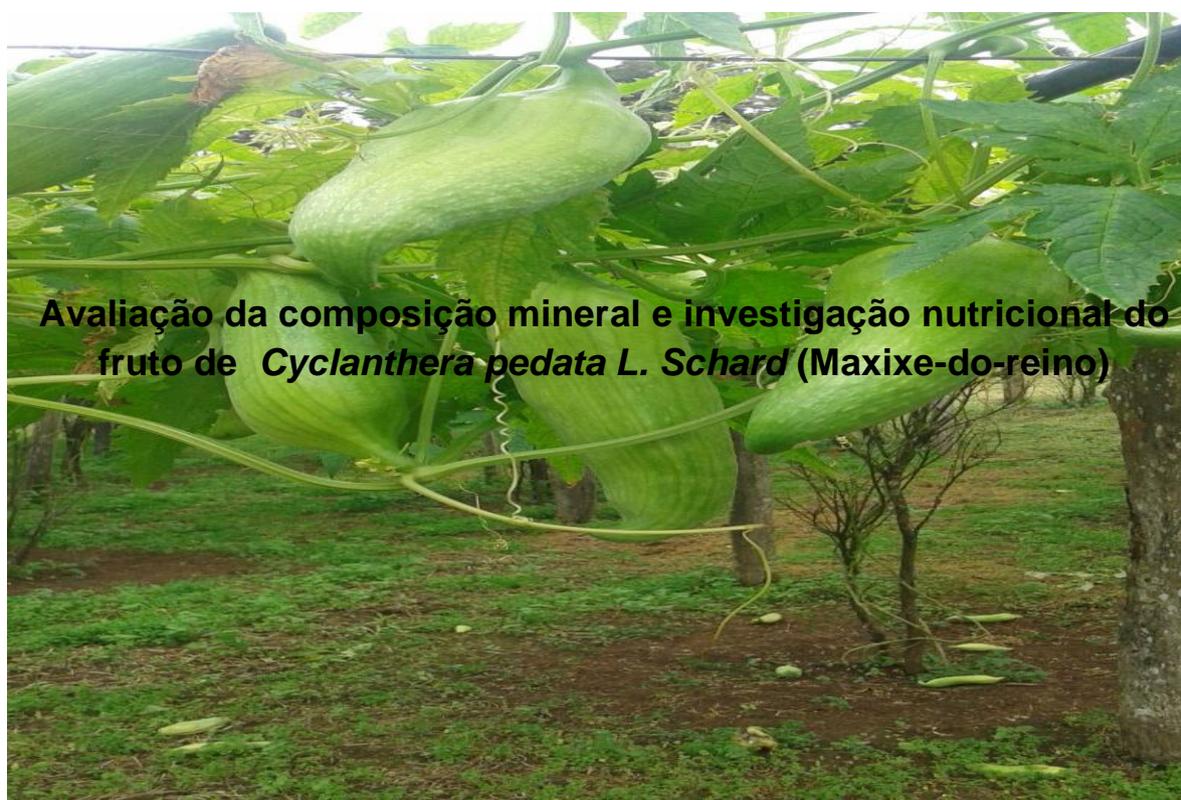




UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



ADRIANA CAIRES OLIVEIRA



**Avaliação da composição mineral e investigação nutricional do
fruto de *Cyclanthera pedata* L. Schard (Maxixe-do-reino)**

SALVADOR – BAHIA
Setembro / 2015

ADRIANA CAIRES OLIVEIRA

**Avaliação da composição mineral e investigação nutricional do fruto de
Cyclanthera pedata L. Schard (Maxixe-do-reino)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química para a obtenção do título de Doutor em Química da Universidade Federal da Bahia.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira

**SALVADOR – BAHIA
Setembro / 2015**

Dedico este trabalho a DEUS, aquele que me fortalece todos os dias e me faz acreditar que posso todas as coisas.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira, que com paciência, muita determinação e com seu carisma, motiva a todos que estão em seu redor.

Ao meu amigo Vitor Silva, por ter sugerido o fruto maxixe-do-reino como objeto de pesquisa, viabilizando o estudo de hortaliças cultivadas em minha terra natal, Jequié.

A professora Dra. Mariângela Lopes que me recebeu com muito carinho em seu laboratório.

Aos colegas de jornada do GRPPQ ,Geraldo Mattos, Robson Mota, Lindomar, Geovani (Jow), Douglas, Danilo Leão, Mário Marques, Débora Correia, Ivanice, Uenderson, Laiana, Fernanda, Arlene, Isabela, Tiago, Daniel, Jeane, Augusto,

Aos colegas de jornada do núcleo de nutrição da UNEB, Márcio, Juliana, Juliane e Adriana.

A minha família, especialmente meus pais Paulo e Aurenita, alicerce do que sou e coluna forte que sustenta minhas frustrações e vitórias.

E a uma criatura maravilhosa que limpa nossos laboratórios e nos alegra todos os dias, mesmo quando está de mau humor, D. Margarida.

Aos professores deste programa que dedicam seu tempo a árdua tarefa da docência e orientação.

Aos funcionários da secretaria do PPG, Michel, Luciana e Cristiane pela presteza e atenção.

As instituições de fomento a pesquisa, principalmente a CAPES e a FAPESB.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a construção deste trabalho.

RESUMO

Esta tese foi desenvolvida no âmbito de um grande projeto institucional "NÚCLEO DE PESQUISAS EM QUÍMICA ANALÍTICA DA BAHIA: QUÍMICA E QUALIDADE EM ALIMENTOS E BEBIDAS" realizado pela FAPESB. Caiguá (no Brasil "maxixe-do-reino") é uma fruta que é geralmente consumida como alimento na forma cozida ou crua em saladas, tem sido utilizado também na medicina popular principalmente no combate a hipertensão e hiperglicemia. Neste trabalho, a composição mineral de caiguá foi determinada pela primeira vez. Vinte e nove amostras foram adquiridas de fazendas situadas na região sudoeste da Bahia e analisadas empregando a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado. Os elementos determinados foram: cálcio, magnésio, sódio, potássio, fósforo, manganês, ferro, zinco, cobre e vanádio. As concentrações médias encontradas expressas como mg do elemento por 100 gramas de amostra, foram: 0,91 para sódio, 19,4 para fósforo, 11,9 para cálcio, 8,4 para magnésio, 0,074 para manganês, 0,21 de ferro, 0,013 para cobre, 0,13 para o zinco, 0,015 para vanádio e 152 para potássio. A exatidão do método empregado foi comprovada pela análise do material de referência certificado de folhas de espinafre fornecido pelo NIST. Análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamentos hierárquicos (HCA) foram aplicadas para avaliar os resultados obtidos, sendo que esta avaliação indicou a separação de um grupo de amostras em relação às demais. Estas amostras apresentaram as mais elevadas concentrações para fósforo, cobre, ferro, zinco e manganês em relação às demais. Os resultados do HCA corroboraram as do PCA. A determinação da composição do caiguá apresentou, em média, 96,5% de umidade, 3,0% Brix, baixo teor de gordura 0,02 g / 100 g, proteínas 0,059 g / 100g e 2,25% de hidratos de carbono. O caiguá também apresentou uma considerável concentração de polifenóis, investigado em extrato aquoso (17,67mg EAG) e metanólico (201,44 ± 0,82mg EAG). Os resultados deste trabalho evidenciam este fruto como uma boa alternativa para a manutenção de uma dieta saudável.

Palavras-chave: *Cyclanthera pedata*, caiguá; composição mineral; PCA; HCA; composição nutricional.

ABSTRACT

This thesis was established under a major institutional project " NÚCLEO DE PESQUISAS EM QUÍMICA ANALÍTICA DA BAHIA: QUÍMICA E QUALIDADE EM ALIMENTOS E BEBIDAS" realized to FAPESB. Caigua (in Brazil "*maxixe-do-reino*") is a fruit, which is usually consumed as a food in cooked or raw form in salads, has also been used in folk medicine mainly in hypertension and hyperglycemia. In it, the mineral composition of caigua was determined by first time. Twenty-nine samples were acquired from farms located in the southwestern region of Bahia and analyzed employing the inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). The elements determined were: calcium, magnesium, sodium, potassium, phosphorus, manganese, iron, zinc, copper and vanadium. The mean concentrations found element expressed as mg per 100 grams of sample were: 0.91 for sodium, phosphorous to 19.4, 11.9 to calcium, 8.4 to magnesium, manganese 0.074 to 0.21 iron, 0.013 copper, zinc and 0.13 to 0.015 to 152 to vanadium and potassium. The accuracy of the method was confirmed by the analysis of certified reference material of spinach leaves provided by NIST. Principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) were applied to evaluate the results, and this evaluation indicated the separation of a group of samples relative to the other. These samples showed higher concentrations for phosphorus, copper, iron, zinc and manganese in relation to others. The results obtained by the PCA are corroborated with the HCA results. The determination of the composition of caigua presented the average values of: 96.5% moisture, 3.0% Brix, low fat 0.02 g / 100 g protein 0.059g / 100g and 2.25% of hydrates of carbon. The caigua also showed a considerable concentration of polyphenols, investigated in aqueous extract (17,67mg EAG) and methanol (201.44 ± 0,82mg EAG). These numbers confirm this fruit as a good alternative to maintaining a healthy diet.

Keywords: *Cyclanthera pedata*, caiguá; mineral composition; PCA; HCA; nutritional composition.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Etapas de preparação dos dados para a realização de análise exploratória.

Figura 2 Gráficos ilustrando o efeito de centrar na média em uma distribuição de dados bivariados.

Figura 3 Decomposição da matriz de dados originais.

Figura 4 Gráfico de variância acumulada em cada PC.

Figura 5 Representação gráfica tridimensional e bidimensional da PCA.

Figura 6 Exemplo de dendograma.

Figura 7 Plantação de caiguá.

Figura 8 Frutos de *Cyclanthera pedata* L. Schard.

Figura 9 Frutos de *Cyclanthera pedata* L., visualização das sementes.

Figura 10 Fitoquímicos que possuem efeito anti-obesidade.

Figura 11 Gráfico de variância acumulada em cada componente principal.

Figura 12 Gráfico de escores PC1 x PC2.

Figura 13 Gráfico de escores PC1 x PC3.

Figura 14 Gráfico de escores PC2 x PC3.

Figura 15 Dendograma das amostras de Caiguá de cinco fazendas da região de Jequié.

Figura 16 Gráfico da variância acumulada em amostras de Caiguá cru e cozido.

Figura 17 Gráfico de PC1 x PC2, de pesos (à esquerda) e de escores (à direita) das amostras de Caiguá cruas e cozidas.

Figura 18 Gráfico de Análise de agrupamentos por Métodos hierárquicos de amostras de Caiguá cru e cozido.

Figura 19 Localização da cidade de Jequié, região sudoeste da Bahia.

Figura 20 Liofilização das amostras de Caiguá.

Figura 21 Destilador de nitrogênio.

Figura 22 Determinação de lipídeos, extração por Soxlet.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Avaliação da exatidão do método empregado usando material de referência certificado CRM de elementos traço em folhas de espinafre.

Tabela 2 Determinação da composição mineral de caiguá (mg. Kg⁻¹).

Tabela 3 Pesos das variáveis para as três primeiras componentes principais.

Tabela 4 Determinação da composição mineral das amostras de caiguá cruas e cozidas (mg. Kg⁻¹).

Tabela 5 Caracterização físico-química do caiguá.

Tabela 6 Composição centesimal do caiguá.

Tabela 7 Compostos fenólicos totais (Folin-Ciocalteu)

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado
ICP MS	Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado
F AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Chama
TACO	Tabela Brasileira de Composição de alimentos
ETAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica
NEPA	Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação
PCA	Análise de Componentes Principais, do inglês “ <i>Principal Component Analysis</i> ”
HCA	Análise de Componentes Hierárquicos, do inglês “ <i>Hierarchical Component Analysis</i> ”
NMR	Ressonância Magnética Nuclear
CG	Cromatografia Gasosa
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Performance
MS	Espectrometria de Massa
CZE	Eletroforese de Zona Capilar
MEKC	Cromatografia Eletrocínética Micelar
IC	Cromatografia de Íons
LDL	Proteínas de Baixa densidade, do inglês “ <i>Low Density Lipoproteins</i> ”
NIST	Do inglês “ <i>National Institute of Standards and Technology</i> ”

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 HORTALIÇAS	16
2.2 CAIGUÁ	17
2.3 ANÁLISE MULTIVARIADA DE DADOS	20
2.3.1 Análise de Componentes principais (PCA)	24
2.3.2 Análise de Agrupamentos hierárquicos (HCA)	28
2.4 FLAVONÓIDES (COMPOSTOS FENÓLICOS)	34
3 OBJETIVOS	37
3.1 OBJETIVO GERAL	37
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
4 PARTE EXPERIMENTAL	38
I) COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO QUIMIOMÉTRICA	38
4.1 REAGENTES	39
4.2 INSTRUMENTAÇÃO	39
4.3 COLETA E ESTOCAGEM DAS AMOSTRAS	39
4.4 MINERALIZAÇÃO DAS AMOSTRAS	40
4.5 VALIDAÇÃO DOS DADOS	40
II) AVALIAÇÃO NUTRICIONAL	50
4.1 AMOSTRAGEM	51
4.1.1 Preparo das amostras	52
4.2 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	52
4.2.1 Determinação da umidade	52
4.2.2 Determinação de cinzas	53
4.2.3 Determinação de proteínas	53

4.2.4 Determinação de lipídeos	54
4.2.5 Determinação de fibras totais	55
4.2.5 Determinação de carboidratos	56
4.2.6 Sólidos solúveis totais	56
4.2.7 Acidez titulável	57
4.2.8 Potencial hidrogeniônico	57
4.2.9 Açúcares redutores	58
4.2.10 Açúcares totais	58
4.2.11 Compostos fenólicos totais	59
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	
I) COMPOSIÇÃO MINERAL E AVALIAÇÃO QUIMIOMÉTRICA	
5.1 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MINERAL DO CAIGUÁ	41
5.2 ANÁLISE MULTIVARIADA DOS RESULTADOS	43
5.3 INVESTIGAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MINERAL DO CAIGUÁ CRU E COZIDO	47
5.4 ANÁLISE MULTIVARIADA DOS DADOS DE CAIGUÁ CRU E COZIDO	48
II) AVALIAÇÃO NUTRICIONAL	60
6 CONCLUSÕES	64
7 PERSPECTIVAS FUTURAS	65
8 REFERÊNCIAS	66

1 INTRODUÇÃO

Os alimentos constituem a principal fonte primária de energia para os seres humanos. De acordo com o reverendo e economista britânico Thomas Robert Malthus (séc. XVIII) - no enunciado referente à lei populacional: "... a subsistência cresce apenas de forma aritmética enquanto a população aumenta, de forma desgovernada, segundo uma taxa geométrica...". Demonstrando que sempre houve uma preocupação com a limitação e principalmente com a distribuição dos alimentos.

Nas últimas décadas, o alvo de constantes pesquisas tem sido o controle da qualidade dos alimentos, fator que interfere diretamente nos padrões de dietas nutricionais principalmente quando aplicadas a grupos de indivíduos acometidos por doenças como diabetes (Tipo2) e obesidade mórbida. A investigação da composição mineral e nutricional dos alimentos é essencial para a determinação quantitativa à níveis de restrições calóricas.

Por meio de técnicas instrumentais cada vez mais sofisticadas, a química tem contribuído no sentido de avaliar a qualidade dos alimentos, seja determinando a composição de micro e macronutrientes (elementos traço) ou avaliando a bioacessibilidade destes [1, 2].

A partir de 1990, a introdução de instrumentos com base na técnica de plasma indutivamente acoplado (ICP OES e ICP MS) associado ao desenvolvimento de outros métodos foi fundamental para a determinação da composição elementar de amostras, sobretudo de alimentos. Tais instrumentos permitem obter a concentração total dos elementos, mas não conseguem aferir a fração bioacessível ao corpo humano. A bioacessibilidade depende da especiação dos elementos, do comportamento de espécies e de complexos organometálicos no trato intestinal e nas interações com a matriz do alimento [1, 2].

As técnicas mais comumente empregadas na determinação de elementos traço são: Espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS) ou Espectrometria de

fluorescência atômica e técnicas com plasma indutivamente acoplado (ICP OES, ICP MS) [1].

No Brasil, autoridades de saúde pública desenvolveram o projeto TACO (Tabela Brasileira de Composição Nutricional dos alimentos), coordenado pelo NEPA/ UNICAMP, que fornece subsídios aos profissionais que trabalham nas áreas relacionadas à nutrição e ao controle de qualidade dos alimentos. Este projeto tem por base auxiliar o desenvolvimento local e a diversificação alimentar, evitando o estabelecimento de uma dieta desequilibrada e a possibilidade de geração de doenças [3].

O projeto TACO consiste na formulação de tabelas regionais cujas análises originais são realizadas por meio de métodos validados de acordo com um plano de amostragem representativo. Estas análises são realizadas em laboratórios de competência analítica comprovada por estudos interlaboratoriais de acordo com os critérios internacionais [3].

A importância do estudo em termos regionais se aplica às diferenças no clima, fertilidade do solo, tipo de cultivo dentre outros fatores que serão refletidos na qualidade dos horti-fruti produzidos e posteriormente avaliados em termos sensoriais e no teor dos nutrientes disponíveis.

As políticas públicas de combate à fome e à miséria têm motivado pesquisadores a identificar novas fontes nutricionais e especificar seu emprego adequado. Pesquisas apontam frutas e hortaliças como alternativa mais barata e saudável para se manter uma dieta extremamente rica e nutritiva, pois constituem uma boa fonte de energia, lipídeos, carboidratos, incluindo fibras, minerais e vitaminas [4].

Contudo, apesar do volume de informação disponível, a população ainda protagoniza o desperdício, em termos nutricionais, principalmente em relação ao pré-processamento de alimentos de origem vegetal. Pesquisas apontam que cerca de 30% do teor nutricional destes alimentos são eliminados através das cascas, folhas, sementes e talos [4].

Além do pré-processamento, os alimentos podem ser tratados através de processos físico-químicos a fim de melhorar a suas qualidades sensoriais (cor,

textura, odor, sabor, etc). Um dos processos mais aplicados é a cocção, que apesar de melhorar a ingestão de alguns alimentos, quase sempre implica na perda de boa parte do teor de micro e macro nutrientes [5].

Os micronutrientes, F, V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Se, Mo e I são elementos necessários ao corpo humano em pequenas quantidades (geralmente menos que 100mg/dia). Já os macronutrientes (exemplo: Na, Ca, Mg, K, Cl, P, ...) são requisitados em grandes quantidades [1].

A análise destes teores de micro e macronutrientes, bem como as suas correlações, têm sido cada vez mais complexas devido ao emprego de técnicas analíticas sofisticadas. Dentre as décadas de 1970 a 80, principalmente com o grande desenvolvimento das áreas de alimentos e farmacologia houve um grande avanço com relação ao volume e a qualidade das informações geradas. As primeiras ferramentas quimiométricas são empregadas com a finalidade de analisar dados multivariados de forma simultânea [6].

Este trabalho tem por objetivo a determinação da composição nutricional e mineral do fruto caiguá (*Cyclanthera pedata* L.) *in natura* e submetido à coção, além da avaliação deste fruto, por meio de ferramentas quimiométricas (PCA e HCA).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 HORTALIÇAS

Segundo ORNELLAS, hortaliças são as partes comestíveis das plantas como raízes, tubérculos, caules, folhas, flores, frutos e sementes. Estas são subdivididas em **verduras** – parte comestível de coloração verde; **legumes** – frutas e sementes das leguminosas; **tubérculos e raízes** – porção subterrânea das espécies; além de bulbos e talos [22].

De acordo com o interesse comercial, as hortaliças podem ser classificadas em **convencionais** aquelas sobre as quais existe o interesse comercial de empresas sementeiras (batata, tomate, repolho, alface, etc.) e as **não convencionais**, estas possuem produção limitada à determinada região, exercendo grande influência na alimentação e cultura local (agricultura cabocla ou crioula- não industrial) [23].

As hortaliças são extremamente importantes para a alimentação humana, pois constituem boa fonte de energia, lipídeos, carboidratos incluindo fibras, minerais e vitaminas sendo que algumas delas também servem como fontes de proteínas [4, 23].

Pesquisas apontam que o consumo regular de frutas e hortaliças contribui para a redução do risco de doenças cardiovasculares, isto se deve à presença de antioxidantes como vitaminas C e E, fibras, carotenóides e polifenóis em sua constituição [24].

Nas últimas décadas, a dieta do Mediterrâneo (que tem por base o consumo de cereais não refinados e produtos como pão de grãos, legumes, pasta e arroz) tem sido alvo de pesquisas por promover a redução da mortalidade e melhoras em níveis de risco de doenças cardiovasculares. Estas propriedades são atribuídas a presença de uma complexa mistura de fitoquímicos antioxidantes nestes alimentos [25,26]

Os legumes são uma excelente fonte de nutrientes essenciais, incluindo vitaminas, minerais, fibras, antioxidantes e outros compostos bioativos que funcionam como metabólicos em humanos ou animais que consomem frequentemente estes alimentos [25].

Os legumes constituem fonte de proteínas, pois contém precursores de peptídeos biologicamente ativos com várias funções e fontes de aminoácidos essenciais. Como fonte de lipídeos estes apresentam de 2-21% de gorduras benéficas (exemplo: ácido linoleico) [25].

Uma dieta rica em fibras sugere que o estado de saciedade pode ser rapidamente alcançado devido ao grande volume que ela ocupa no bolo alimentar e a uma longa digestão. As fibras dos legumes apresentam gomas resistentes, não digeríveis, como oligossacarídeos e lignina. O alto consumo de fibras solúveis está associado com a redução do colesterol [25,26].

Os efeitos benéficos à saúde oriundos do consumo de legumes está associado a prevenção e ou tratamento de doenças por ação dos compostos bioativos como antioxidantes, anti-inflamatórios, hepatoprotetores, hipotensivo, anti-diabetes entre outras [25].

2.2 CAIGUÁ (*Cyclanthera pedata* L. Schard)

Pertencente a família das *curcubitáceas*, *C. pedata* é uma planta trepadeira, conforme ilustrado na Figura 7. Este fruto é de agricultura cabocla, destinado ao consumo à mesa aqui no Brasil. Em outros países da América Latina o fruto também é empregado na medicina popular devido as suas propriedades hipo glicêmicas e antioxidantes. Estas propriedades associadas à carência de informações sobre o maxixe do reino na literatura, o tornaram objeto de estudo deste trabalho.

Cyclanthera pedata é classificada como uma hortaliça não convencional – aquela que não produz interesse em produção comercial nem em agências sementeiras, fertilizantes ou agroquímicos [23].

De origem peruana, *C. pedata* também pode ser encontrada na Argentina, Chile, Itália, Brasil. Esta hortaliça se desenvolve em regiões de clima tropical e subtropical (20 à 30°C). Seu fruto também é conhecido como maxixe-do-reino, chuchu-de-vento, boga-boga, caiguá, maxixe-fofo, taiuá-de-comer, pepino-de-italia, dentre outros [23,27].



Figura 1: Plantação de caiguá.

Sua semeadura é feita em recipientes individuais e quando a “plântula” possuir 2 a 3 folhas, deverá ser transplantada para recipientes maiores com o apoio adequado para o desenvolvimento da planta. Seus frutos podem ser colhidos em média em 120 dias [28]. Possuem formato abaulado, coloração verde (brilhante), lisos, ocos por dentro, conforme ilustrado nas Figuras 8 e 9.



Figura 2: Frutos de *Cyclanthera pedata* L.



Figura 3: Caiguá, visualização das sementes (*Curcubitácea*)

O sabor deste fruto é amargo, semelhante ao aspargo, o que indica a presença de compostos fenólicos. Estudos anteriores demonstraram que este fruto possui propriedades hipoglicêmicas, redutoras do nível de colesterol e antiinflamatória [29], [30], [31].

Segundo Collazos et al. 1975, citados por Klein et al 1991, a composição nutricional do caiguá indica a presença de água (95%), proteínas (0,5g), carboidratos (3,3g), cálcio (34mg), fósforo (43mg), caroteno (0,06mg), riboflavina (0,02mg) e niacina (0,17mg) [33]. Estes resultados sugerem que este fruto consiste em uma boa alternativa a ser usada em dietas devido ao seu baixo teor calórico e ao seu potencial medicinal.

Existem relatos na literatura que registram a versatilidade da aplicação desta planta. Por exemplo, estudos sobre a patogênese do fungo *cucurbitacearum* *Acremonium*, em 31 curcubitáceas, demonstrou que *C. pedata* foi classificada como **resistente** (comparada a melão, melancia classificadas como **não resistentes**) indicando que esta espécie é menos sensível ao cultivo contínuo e intensivo, o que pode aumentar a gravidade de doenças comuns ao solo [34].

Pesquisas recentes indicam o uso da *C. pedata* na formulação de cosméticos – produtos para a pele e cabelo [35]. Mas, sem dúvida o destaque da aplicação desta planta está na indústria farmacêutica devido à exibição de uma série de atividades biológicas que seus extratos possuem.

Vários glicosídeos têm sido isolados em *C. pedata*, mas os glicosídeos do tipo flavona são os principais constituintes destes frutos. Os flavonóides são compostos polifenólicos com propriedades antioxidantes na maioria das vezes associados à atividade redutora de colesterol [27].

Popularmente, o caiguá (*C. pedata*)- nome cujo fruto é mais conhecido- é utilizado na culinária em pratos onde ele é servido cozido, refogado, recheado com carne e cozido no vapor.

2.3 ANÁLISE MULTIVARIADA DE DADOS

Catalogar, monitorar, tratar e aferir faz parte de um conjunto de ações inerentes ao pesquisador, de modo a estabelecer relações entre um grande número de variáveis presentes em seu objeto de estudo. A interpretação destas variáveis é fator imprescindível para transformar a massa de dados obtidos em conhecimento aplicável. O avanço tecnológico tem cada vez mais apoiado o desenvolvimento científico, principalmente na elucidação de problemas e na elaboração de leis que expliquem fenômenos relevantes. Nos últimos anos, métodos estatísticos têm sido empregados a fim de tornar as respostas a estas questões cada vez mais confiáveis e precisas.

No final da década de 60, com o advento da introdução de sistemas computacionais na investigação de dados analíticos, houve um aumento exponencial no volume e na complexidade dos dados gerados a partir da introdução do interfaceamento entre instrumentos analíticos e computadores. A análise univariada dos dados, outrora empregada na elucidação dos problemas, não permitia vislumbrar as relações existentes entre as variáveis de modo simultâneo [7]. Já na década de 70 a análise multivariada ganha força através da união entre os conhecimentos de química, matemática e estatística, gerando ferramentas mais eficazes para a exploração de dados e geração de modelos; nascia a quimiometria e os primeiros quimiometricistas [6].

Com a aplicação cada vez crescente da análise multivariada, as variáveis passaram a ser contempladas em conjunto e seu aprimoramento possibilitou a visualização destas relações em até mais de três dimensões. A análise multivariada consiste num conjunto de técnicas e métodos com diferentes aplicações. Portanto, cada método deve ser escolhido de acordo os objetivos do trabalho, por exemplo, exploração e classificação de dados, etc [6].

Quimiometria é a utilização de métodos matemáticos e estatísticos para o tratamento de dados químicos de forma a extrair a maior quantidade de informação e melhores resultados [6].

A quimiometria associada a análise de dados de natureza multivariada, pode ser aplicada com fins **qualitativos** (análise exploratória dos dados e reconhecimento de padrões) e **quantitativos** (calibração).

A análise exploratória dos dados requer um conjunto de etapas descritas a seguir (Figura 1).

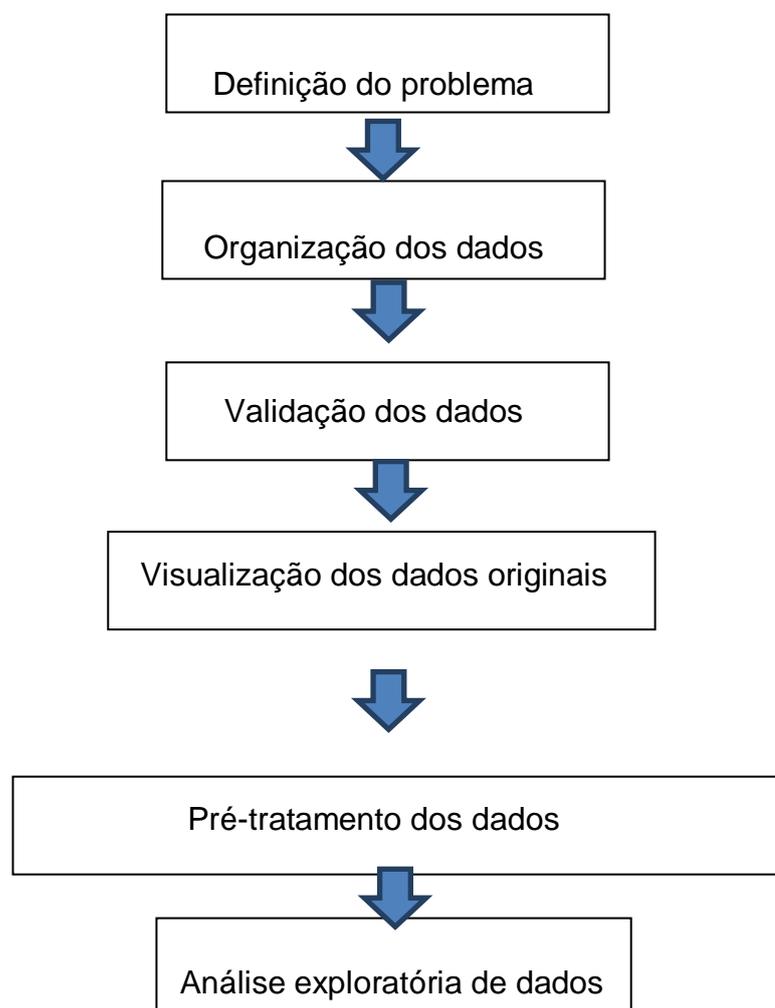


Figura 4: Etapas de preparação dos dados para a realização da Análise exploratória dos dados.

A primeira etapa da análise exploratória dos dados se destina a delimitação do problema (a finalidade do trabalho proposto) e a escolha do método adequado, de modo que os dados coletados tragam as informações que se deseja [8].

A organização dos dados em tabelas e posteriormente em uma matriz; facilita a visualização de possíveis erros de determinação e possibilita o preenchimento de possíveis lacunas na matriz de dados, devido a eventuais perdas amostrais com valores que não altere a natureza dos dados (geralmente usa-se a média ou moda destes valores), além de permitir identificar se existe ou não uma correlação entre eles [8].

Os dados experimentais podem apresentar diferentes variâncias, ou até mesmo possuir magnitudes diferentes, portanto é imprescindível que se faça o pré-processamento dos dados para se adequar as amostras da matriz, de modo a minimizar (ou maximizar) o efeito das variáveis. Geralmente duas técnicas são mais empregadas: centrar os dados na média e o autoescalamamento [6].

Para **centrar os dados na média** (Figura 02), deve-se calcular a média dos valores de cada variável e subtrair os valores de cada amostra pelo respectivo valor médio, deste modo cada variável passará a ter valor médio igual a zero, ou seja, as coordenadas são movidas para o centro dos dados, permitindo que as diferenças entre as variáveis sejam perceptíveis e no **autoescalamamento** deve-se centrar os dados na média e dividi-los pelo desvio padrão, com este procedimento os dados passam a ser adimensionais e a influência de uma variável dominante é minimizada [7].

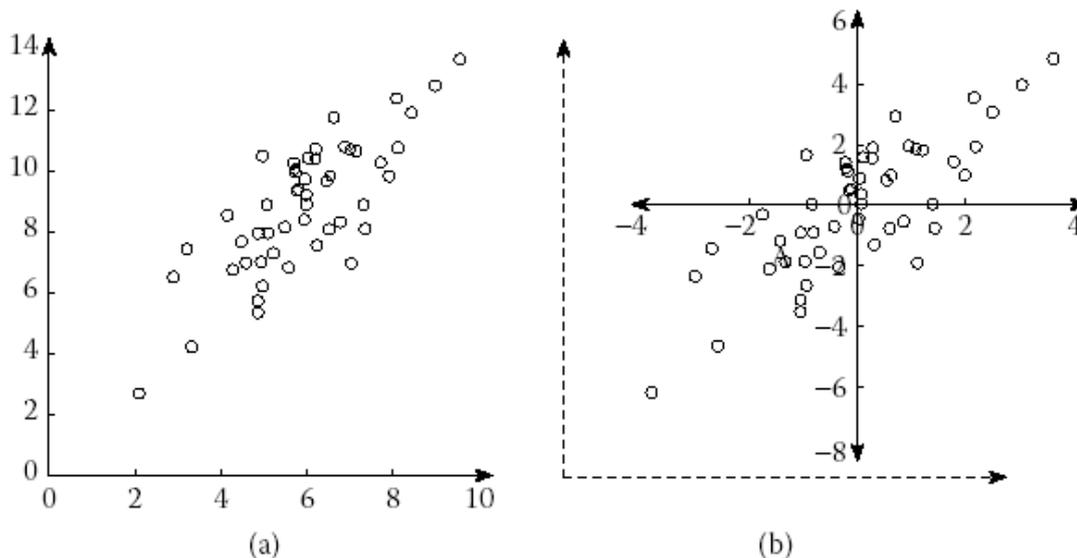


Figura 5: Gráficos ilustrando o efeito de centrar na média em uma distribuição de dados bivariados. (a) Dados originais, (b) Dados centrados na média.

O pré-tratamento pode ser realizado também nas variáveis, recorrendo a técnicas como: obtenção da primeira e segunda derivadas, alisamento e normalização. O uso destas técnicas dependerá da necessidade do conjunto de dados em estudo (exemplo: espectros, cromatogramas) [8].

Na etapa de análise exploratória, os dados originais são correlacionados em uma matriz de dados ortogonais (Figura 3), expressa por escores (coordenadas das amostras na nova componente principal) e pesos (cosseno do ângulo formado entre a componente principal e o eixo original). Este indica quanto cada variável influencia na componente principal [9].

$$\begin{bmatrix} \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \end{bmatrix}$$

Figura 6: Decomposição da matriz de dados originais. A= Matriz de dados originais, C= Matriz de escores e P^t = Matriz de Pesos.

Em se trabalhando com o reconhecimento de padrões, as ferramentas quimiométricas usadas para avaliar as diferenças e semelhanças em diferentes tipos de amostras estão divididas em dois grupos: Métodos supervisionados e Métodos não supervisionados.

Os **métodos supervisionados** desenvolvem procedimentos de classificação de amostras desconhecidas com base em um grupo de amostras de categoria conhecida. Neste método, cada amostra pertence a uma classe pré-estabelecida e esta informação é utilizada na construção de modelos [10]. Por exemplo: amostras de sangue de pacientes de um hospital. As amostras pertencentes a pacientes alcoólatras estarão inseridas na classe 1. Já amostras de pacientes que não são alcoólatras estarão inseridas na classe 2.

Os **métodos não supervisionados** não necessitam de qualquer conhecimento prévio sobre a identidade da amostra, apenas trabalhando com estas em termos de grupos de objetos, observando tão somente a separação entre as classes [10]. Estes métodos são empregados na identificação de tendências, sugestão da classificação ou origem das amostras através de suas semelhanças e diferenças. São aplicados dois métodos: PCA (do inglês "*Principal Component Analysis*"), Análise de Componentes Principais e HCA (do inglês "*Hierarchical Cluster Analysis*"), Análise por Agrupamentos Hierárquicos.

2.3.1 Análise de Componentes Principais (PCA)

A PCA consiste em um método matemático (fatorial) de redução da dimensão de um conjunto de dados, onde a redução do número de variáveis não é feita através de uma simples seleção, mas pela criação de novas variáveis sintéticas. Estas novas variáveis são obtidas através da combinação linear das variáveis originais por meio dos fatores [10].

A redução do conjunto de dados, segundo a PCA, só será possível se as variáveis não forem independentes e possuírem coeficientes de correlação não nulos. Contudo, as componentes principais deverão ser ortogonais entre si (a informação contida em uma não deverá existir na outra), além de selecionar o número de componentes principais para descrever o sistema [8]

Fundamentação Matemática da PCA:

Na combinação linear das variáveis, algumas contribuem mais do que outras, logo a matriz de dados original será decomposta em matriz de escores (coordenadas das amostras) e matriz de pesos (contribuição de cada variável na nova componente principal)

Conjunto de dados = Matriz de escores + Matriz de pesos

Ou...

$$\mathbf{X} = \mathbf{T} \cdot \mathbf{L}^t = \mathbf{T}_A \cdot \mathbf{L}_A^t + \mathbf{E} \quad \text{sendo, (01)}$$

X= Matriz de dados processados

T= Matriz de amostras escores

L= Matriz de variáveis pesos

A= Dimensão do conjunto de dados (quantidade de informação que se deseja manter)

E= Matriz residual (informação irrelevante para o conjunto de dados)

Na decomposição de uma matriz é necessário questionar: Quantos componentes são necessários para se descrever o conjunto de dados?[8]

$$\mathbf{X} = \mathbf{T}_1 \cdot \mathbf{L}_1^t + \mathbf{T}_2 \cdot \mathbf{L}_2^t + \mathbf{T}_3 \cdot \mathbf{L}_3^t + \dots + \mathbf{E} \quad (02)$$

A resposta a esta questão está em quanto da informação será necessária para a descrição completa do conjunto de dados, pois a variância consiste na quantidade de informação acumulada em cada PC (Figura 4) [8].

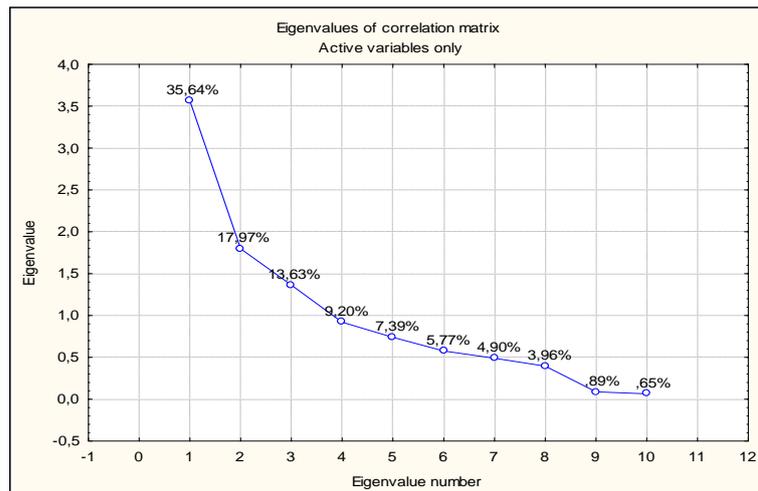


Figura 7: Gráfico de variância acumulada (em termos percentuais) em cada PC.

PC1= 36,64%, PC2= 17,97%, PC3= 13,63%, PC4= 9,20%, PC5=7,39%.

Considerando a redução do conjunto de dados de 10 para 5 variáveis, a variância acumulada será igual a 84,83% da informação total. Programa: *Statístic 6.0*.

A nova matriz de dados é organizada de modo a concentrar as informações mais relevantes nas primeiras PC's, enquanto as últimas (informação irrelevante) terão parte na matriz residual.

A PCA facilita a análise de dados devido ao uso de projeções bi e tridimensionais dos novos vetores ortogonais (Figura 04). Sua interpretação é feita através da comparação com o gráfico de pesos, o qual possibilita verificar os elementos que mais contribuirão para a classificação das amostras [8].

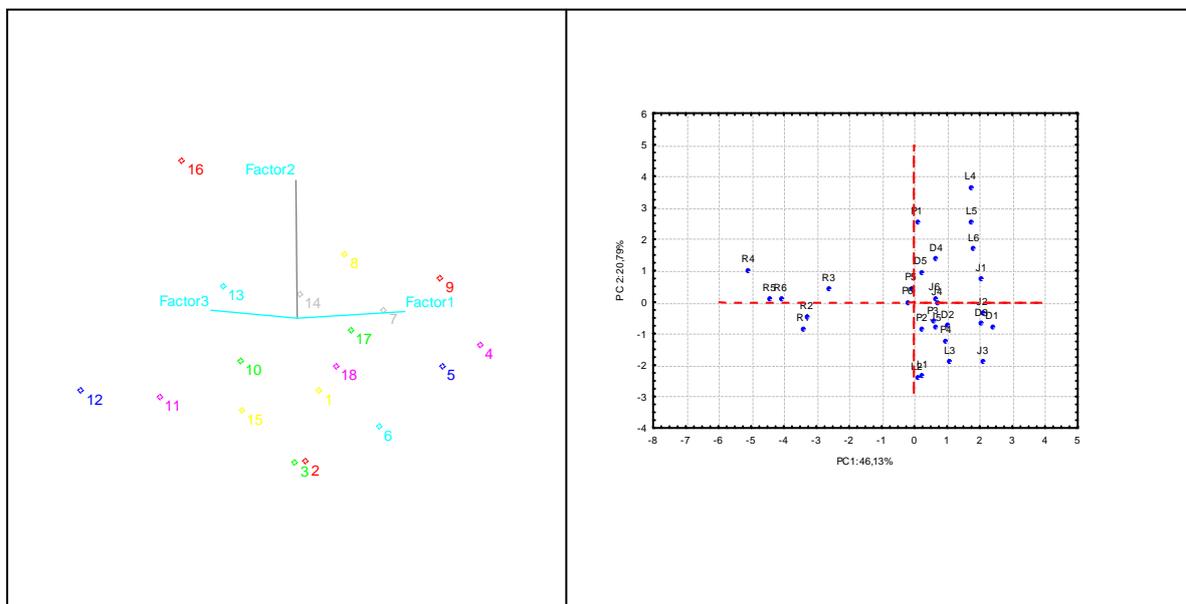


Figura 8: Gráficos de escores tridimensional e bidimensional de escores da PCA

Devido as suas várias vantagens, a PCA é amplamente empregada em diversas áreas do conhecimento, principalmente com fins de autenticação e classificação de amostras [10].

Atualmente existem cerca de 51.881 trabalhos na literatura envolvendo a análise de dados através do PCA (Base de dados: *Web of Knowledge* - 26.08.2015- 22:04h). Nestes as técnicas analíticas mais empregadas para a aquisição de dados são: ressonância magnética nuclear (NMR), cromatografia gasosa (GC), cromatografia líquida de alta performance (HPLC), por vezes associada com a espectrometria de massa (MS), electroforese de zona capilar (CZE), cromatografia eletrocinética micelar (MEKC), cromatografia de íons (IC, um tipo de HPLC dedicado a separação iónica), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS), polarografia, voltametria, dentre outras [10].

2.3.2 Análise de Agrupamentos Hierárquicos (HCA)

As técnicas de agrupamento têm por objetivo a proposta de formação de estruturas classificatórias que podem ser de dois tipos: **aglomerativas** e **divisivas**. Na primeira, deve-se considerar cada amostra como sendo um grupo isolado que será associado a outras amostras por meio das semelhanças formando subgrupos até que todas estejam reunidas em um único grupo. Na segunda todas as amostras estão reunidas em um único grupo que será dividido em subgrupos segundo suas semelhanças até que cada amostra forme um grupo [11].

Indiferente às informações prévias inerentes a amostra, a análise de agrupamento estuda as relações interdependentes destas, sem fazer distinção entre variáveis dependentes e independentes (de causa e efeito). Logo a análise de agrupamentos consiste em uma técnica preliminar quando se utiliza métodos não supervisionados de análise multivariada.

A HCA, análise de agrupamentos hierárquicos avalia as distâncias entre os pontos de todas as amostras em um conjunto de dados e as representa na forma de um gráfico bidimensional chamado de dendograma. Pela simples observação de um dendograma é possível identificar o grau de semelhança das amostras ou de correlação entre variáveis [12].

Na construção de um dendograma o primeiro passo é determinar a similaridade entre as amostras (ou objetos), através da determinação de um índice que indique o quão semelhantes (ou próximas) estas são. Este índice capaz de mensurar o grau de similaridade (ou proximidade) pode ser determinado através das distâncias entre pares de amostras e pode ser calculado por coeficiente de correlação, distância Euclidiana, distância de Manhattan e distância de Mahalanobis [13]. Dentre eles o método mais simples e o mais comum é a distância Euclidiana. De acordo com a equação 03 esta medida consiste no produto escalar da distância entre as amostras **k** e **l** definida por:

$$d_{kl} = \sqrt{\sum_{j=1}^J (x_{kj} - x_{lj})^2} \quad (03)$$

A fórmula representa um conjunto de dados onde existem **j** medições, e x_{ij} é a

medição da j-ésima medida da amostra i. Por exemplo, x_{23} é a terceira medida da segunda amostra [6].

A seguir, deve-se agrupar as amostras mais próximas e calcular o índice de similaridade (ilustrado na equação 04). Para dois grupos de amostras K e L temos:

$$S_{K-L} = 1 - d/d_{\text{máx}} \quad (04)$$

Onde d é a distância entre os grupos K e L, e $d_{\text{máx}}$ é a distância máxima entre dois grupos do conjunto de dados que funciona como um fator de normalização da medida que fica centrada entre 0 e 1. Portanto quando $d = d_{\text{máx}}$ não haverá similaridade entre as amostras ($S_{K-L}=0$), mas quando $d=0$, as amostras serão idênticas ($S_{K-L}=1$) [6].

Medidas de distância que levam dados de incerteza em consideração têm sido empregados para evitar o erro de medição através do cálculo da distância. As medidas (que consideram a incerteza) assumem que a variância devido a um erro analítico é pequena em comparação com a variação das amostras [13].

O terceiro passo diz respeito a construção do dendograma. O dendograma pode ser ilustrado de duas formas: vertical e horizontal (Figura 05). Em um dendograma os ramos discriminam as classes de agrupamentos das amostras – distribuídos no eixo das abcissas na Figura 6, o eixo das ordenadas mostra os valores de similaridade para cada agrupamento.

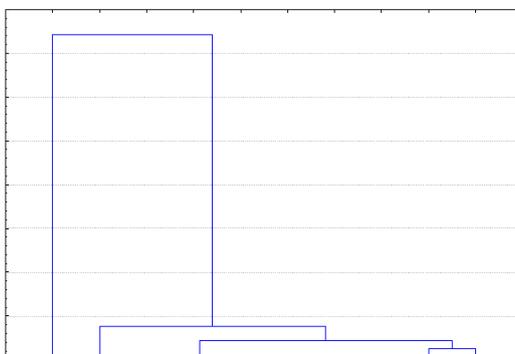


Figura 9: Exemplo de dendograma.

Em geral a HCA é empregada como técnica auxiliar na confirmação das informações contidas na PCA devido ao seu caráter classificatório é também possível a visualização da qualidade da reprodução das replicatas de uma amostra indicando a presença de possíveis erros analíticos em uma determinação [8].

A literatura registra uma ampla faixa de aplicações dos métodos não supervisionados nas mais diversas áreas do conhecimento, indicando a versatilidade das atribuições desta ferramenta empregada desde o campo da medicina até a astrologia.

Na área de alimentos os métodos de reconhecimento de padrões são empregados com o objetivo de classificar e discriminar, através do estudo de semelhanças e diferenças, os mais diversos tipos de amostras.

A determinação da composição mineral dos alimentos constitui tópico frequente em relação ao controle da qualidade e a estudos associados à criação de dietas mais efetivas.

No Brasil, bebidas como vinho tiveram sua produção e consumo aumentado nas últimas décadas, o que levou nossos pesquisadores a investigar os fatores que influenciam na qualidade do produto. Boschetti e coautores [14], empregaram as técnicas de HR-CS AAS e ICP OES no desenvolvimento de um método mais eficiente para a identificação geográfica das amostras de vinho *Cabernet sauvignon* (brasileiro) através da determinação das concentrações de seus elementos. Os resultados obtiveram concordância de 99% (teste-t) com os de ICP OES. Dez elementos foram determinados sendo que apenas quatro K, Rb, Mn e Sr contribuíram para a identificação das amostras. A análise estatística foi feita com base nos três primeiros componentes principais que caracterizou 85,5% da variância acumulada. Os três componentes principais mostraram a separação de sete grupos – das oito amostras de vinho analisadas de acordo com as diferenças e semelhanças do perfil mineral destas. A informação foi confirmada por HCA através da observação do dendograma que classificou as amostras em sete grupos. O gráfico de escores PC1 x PC2 destacou cinco grupos diferentes sendo três mais relevantes: BA + PE, grupo de amostras com maiores teores de rubídio, RS, menores teores de rubídio e as amostras do oeste do Paraná com os maiores teores de K e Mn. No gráfico de escores PC1 x PC3, as concentrações de rubídio

foram novamente determinantes separando as amostras do Rio Grande do Sul em: baixos teores- região de Campanha Gaúcha, valores intermediários – região da Serra Gaúcha e elevados teores para o mesmo metal – região de Pinto Bandeira [14].

Amostras de *orujo* envelhecidas, bebida destilada de uva originada da Galícia, foram estudadas por Solana-Rodríguez e coautores [15] eles determinaram a composição mineral das amostras e avaliaram a influência das espécies de madeira usadas no processo de envelhecimento da bebida. As determinações foram feitas usando as técnicas: FAAS para os elementos Cu, Mn, Zn, Fe, Ca e Mg; FAES para Na e K e ICP-MS para Al, Cd e Pb. Os três primeiros componentes principais explicaram 75.05% da variabilidade das amostras. O gráfico de escores PC1 x PC2 evidenciou a separação dos destilados envelhecidos com base na espécie botânica usada no processo de armazenamento. As amostras envelhecidas em *Quercus Alba* possuíram os mais altos valores para a maioria dos metais enquanto aquelas envelhecidas em *Quercus patraea* mostraram os mais baixos valores para os mesmos, sendo esta a variedade de carvalho mais indicada para a manufatura dos barris. A análise das amostras de modo geral, demonstrou que K, Na e Ca são os elementos mais abundantes. Através da análise dos componentes principais, os autores verificaram a separação das amostras de acordo com a espécie botânica usada no processo de envelhecimento do destilado. Entretanto, o tempo de envelhecimento não influenciou no teor mineral das amostras [15].

Rizelio e coautores [16] desenvolveram e validaram, com sucesso, um método para a determinação de cátions usando CE UV em amostras de mel e realizaram a classificação das amostras conforme a origem geográfica usando PCA. Os dois primeiros componentes principais apresentaram uma variância acumulada de 85%. Em PC1 as variáveis mais importantes foram K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} e Mn^{2+} ; para PC2 a variável mais importante foi Mn^{2+} . O gráfico de escores ilustrou a separação dos grupos conforme a origem geográfica das amostras. As amostras da região B (ilha em Florianópolis) tiveram a mais alta concentração de todos os elementos. O mel da região costal sofre influência do aerossol marinho como fonte de sais minerais. O gráfico de escores PC1 x PC2 indica que estas

amostras apresentam elevados teores dos cátions descritos em PC1 e os menores teores para Mn^{2+} que caracteriza a PC2 [16].

Amostras de óleo comestíveis (oliva, milho, girassol, e soja) foram usadas por Martínez e colaboradores [17] para determinar o teor de elementos traço empregando a técnica de ICP-MS. A validação do método foi realizada pela determinação destes elementos em um óleo de referência (selecionados para conter a maioria dos elementos em estudo) e através de estudos adicionais de recuperação em diferentes óleos. Em todos os casos não foram observadas diferenças significativas. Dezoito elementos foram determinados, mas apenas quatro elementos (Cr, Cu, Fe e Mn) foram empregados na avaliação devido a presença constante em todas as amostras. Os dois primeiros componentes principais acumularam 75,3% da informação relevante. O gráfico de escores PC1 x PC2 permitiu a separação das amostras em cinco grupos: girassol, milho + soja, bagaço de oliva, oliva e oliva virgem – para a separação efetiva dos dois últimos grupos seria necessária a utilização de um maior número de amostras. A PC1 indicou que as amostras de milho, soja e girassol possuem elevados teores de Cr e Fe e baixos teores de Mn. Na PC2, observa-se claramente a separação das amostras de bagaço de oliva das demais, devido ao elevado teor de Cu e Mn. De modo geral a avaliação dos componentes principais destas amostras indicou que as concentrações dos metais estão associadas ao tipo, categoria, origem e o procedimento empregado na sua produção [17].

Amostras de frutos do mar foram usadas por Piñero–Moreda e coautores [18], para verificar diferenças observadas entre valores determinados e certificados em análises de materiais biológicos. Foram investigados cinco fatores que afetam a análise de elementos traço nestas amostras. Os fatores estudados foram: Pré-tratamento da amostra, número de vezes que o processo é repetido, número de medidas, técnica de calibração usada e efeito de matriz. As determinações dos elementos foram feitas por ET AAS e FAAS. O estudo das componentes principais foi empregado a todos os dados usando ambas técnicas instrumentais a fim de verificar as fontes de erros. Foram determinadas as concentrações dos elementos Cd, Cu, Cr, Mn e Pb por ETAAS e Cu, Fe, Mn e Zn por FAAS. A extração das duas primeiras componentes principais foi maior que 90% nos dois casos. No gráfico de escores PC1 x PC2 para os dados totais foi observado que os erros sistemáticos

por ETAAS foram menos relevantes quando da determinação de Cr, Mn e Pb do que quando da determinação de Cd e Cu (elevada sensibilidade desta técnica para Cd). Já a determinação de Zn por FAAS indicou que esta técnica instrumental obteve a melhor precisão. A matriz amostral foi considerada significativa. Observou-se também que a maior concentração dos elementos diminuiu a precisão do método. Este efeito tornou-se mais pronunciado comparando o ETAAS, devido a sua elevada sensibilidade, ao FAAS. A avaliação dos componentes principais também demonstrou que, usando o método de amostragem por suspensão, a precisão pode ser melhorada usando-se um número 'maior de replicatas [18].

A análise de componentes principais é empregada principalmente no desenvolvimento e avaliação de drogas, propriedades tóxicas, controle da concentração dos elementos ativos (ação farmacológica). Tokalioglu e coautores [19] determinaram as concentrações de elementos traço (Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr e Pb) usando ICP-MS em trinta amostras de ervas originárias da Turquia comumente consumidas com fins medicinais. Além de tentar elucidar o caráter curativo das amostras, este estudo também avaliou a relação deste com a concentração dos metais. A sequência dos principais elementos traço contidos nas amostras medicinais foram: Fe>Sr>Mn>Zn>Rb>Cu>Ni>Cr>Co>Pb. Em todas as amostras a concentração de chumbo não ultrapassou 10 µg.g⁻¹ (recomendada para plantas medicinais). A extração dos quatro primeiros componentes principais reteve 80.6% da variância total, sendo as concentrações de Co, Ni, Cr e Fe dominantes em PC1, as de Rb e Sr em PC2, as de Cu e Zn e as de Mn e Pb em PC4 confirmando a elevada correlação positiva de Fe, Co e Ni, sugerindo que a origem das amostras pode ser similar. Os resultados da análise dos componentes hierárquicos confirmou os resultados da PCA e da análise de correlação dos metais [19].

Machana e coautores [20] usaram FTIR e microscopia para estudar o efeito do extrato de *Pinus kesiyi*; *Cratoxylum formosum* ssp . *pruniflorum* e melphalan sob a ação antiancerígena em células leucêmicas humanas. Os testes indicaram que as três espécies induziram a apoptose através do último estágio, sendo mais efetivo o extrato de melphalan. A análise por PCA indicou que as alterações bioquímicas das células apoptóticas estavam associadas com lipídeos, proteínas e

ácidos nucleicos. As diferenças nas intensidades das bandas de FTIR foram responsáveis pela discriminação anticâncer de cada um destes três componentes. O dendograma obtido por HCA ilustrou quatro grupos de espectro (incluindo células não tratadas). Este indicou que cada grupo de células tratadas exibem diferentes modos de ação anticâncer (via processo apoptótico) com base nas mudanças dos espectros de infravermelho [20].

A modelagem de misturas estatísticas permite a determinação de propriedades de misturas lineares de cada solução além dos efeitos de segunda e terceira ordem de interações antagônicas entre os componentes da mistura para cada um dos metais em estudo. Nano e coautores [21] determinaram as proporções dos componentes de uma mistura digestora que resultaram no máximo percentual de recuperação de doze metais de amostras orgânicas (tecido de ostra) por ICP OES através da modelagem. A análise por PCA foi empregado para verificar as correlações existentes entre os grupos de íons e os resultados analíticos. As duas primeiras componentes principais representaram 80% da variância total. O gráfico de pesos PC1 x PC2 ilustrou os íons recuperados formando um grupo com pontos muito próximos, de pesos quase idênticos (Ca, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn) indicando que os íons recuperados para experimentos de modelagem de mistura estão altamente correlacionados. Verificou-se também que os íons Al e Ba recuperados com modelagem não possuem nenhuma dependência com o tipo de mistura usada para digestão [21].

2.4 FLAVONÓIDES (COMPOSTOS FENÓLICOS)

Segundo Havsteen, 2002, citado por Prasath G. S. et al (2011), os flavonóides são um grupo diversificado de fitoquímicos polifenólicos que são produzidos como metabólicos secundários por diversas plantas em quantidades apreciáveis. Eles exibem uma multiplicidade de atividades biológicas como antioxidante, antibacteriana, antiinflamatória, antialérgica, vasodilatador e farmacológica [29].

Estudos epidemiológicos indicam que a hiperglicemia tem sido a causa de complicações a longo prazo, como doença arterial coronária, vascular cerebral, insuficiência renal, cegueira, amputação de membros, complicação neurológica e

morte prematura. Tais complicações são resultantes da regulação anormal da glicose no sangue causando a diabetes mellitus [29].

O mercado farmacêutico atual disponibiliza drogas com efeito hipoglicemiante oral, usado no tratamento da diabetes. Estes porém, podem levar a efeitos secundários prejudiciais [29]. Na busca por alternativas que conduzam a resultados mais efetivos, estudos fitoquímicos apontaram os flavonóides como uma possível solução para este problema.

Estruturalmente, polifenóis (e derivados funcionais ésteres e glicosídeos) possuem um ou mais grupos fenol. O grupo fenol se caracteriza por possuir uma ou mais hidroxilas ligadas a um anel aromático. Estas substâncias são classificadas de acordo com o tipo, número de elementos estruturais ligados aos anéis, conforme Figura 10 [26].

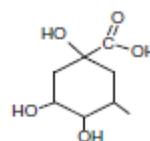
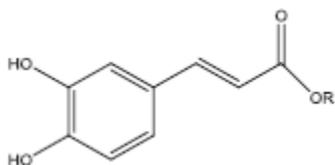
Dentre os compostos fenólicos os de maior concentração presentes no caiguá (*C. pedata*) são as flavonas. Estes compostos são considerados padrão no processo de avaliação de seus frutos e seus produtos comerciais [36].

A) Ácidos Fenólicos

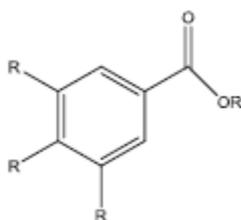
Ácido hidroxicinâmico

Ácido caféico R=H

Ácido clorogênico R= Ácido Quínico



Ácido hidroxibenzóico



B) Flavonóides

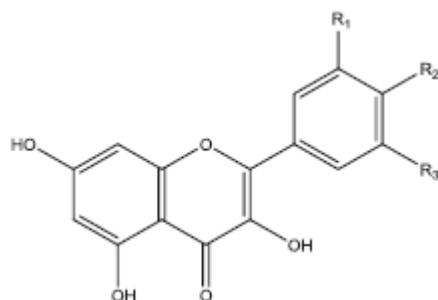
Flavonóis

Quercitina R₁= H, R₂= R₃=OH

Kaempferol R₁= R₃=H, R₂=OH

Mirietina R₁=R₂= R₃=OH

Isoramnetina R₁= H, R₂=OCH₃ R₃=OH



Flavonas

Luteolina $R_1=R_2=OH$

Apigenina $R_1=OH, R_2=H$

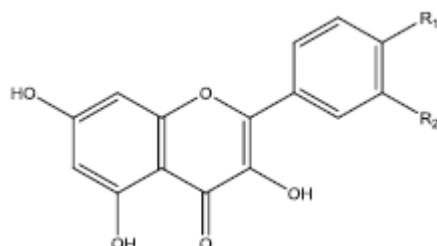


Figura 10: Exemplos de polifenóis que possuem efeito anti-obesidade

FONTES: WILLIAMS, J. D.; et al. (2013) [26].

Os flavonóides, polifenóis amplamente distribuídos em vegetais são divididos em: flavonols, flavonas e antocianinas. Estes apresentam em comum um esqueleto formado por di-fenil-propanos ($C_6-C_3-C_6$). Em uma de suas principais classes, por exemplo: flavonóis, suas diferenças são determinadas pela presença de um grupo hidroxila no C_3 [26].

Os antioxidantes naturais são reponsáveis por proteger o organismo contra o risco de processos fisiológicos e patológicos como o cancro, envelhecimento e doenças cardiovasculares. Flavonóides e outros compostos polifenólicos pertencem a classe destes antioxidantes naturais podendo possuir uma ou mais funções tais como: varredores de radicais livres, agentes redutores, proteger lipídeos contra a peroxidação e supressores de espécies de oxigênio reativo (ROS) [27].

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo a avaliação da composição mineral e a investigação do potencial nutritivo do fruto *Cyclanthera pedata* L. Schard, coletadas em municípios do sudoeste da Bahia.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição mineral do fruto de *Cyclanthera pedata* L. Schard (caiguá), utilizando a técnica de ICP OES;
- Investigar o efeito do cozimento no conteúdo mineral do caiguá
- Avaliar os resultados da composição mineral do caiguá empregando técnicas de análise multivariada (PCA e HCA)
- Determinar a composição centesimal do caiguá
- Analisar as características físico-químicas do caiguá
- Determinar o conteúdo de compostos fenólicos totais do caiguá

**PARTE EXPERIMENTAL I: COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO
QUIMIOMÉTRICA**

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 REAGENTES

Todos os reagentes utilizados no experimento foram de grau analítico tipo Merck (Darmstadt, Germany). Foi utilizada água ultra pura com especificação de resistividade de 18 MΩ cm, obtida através de um sistema de purificação (Millipore, Bedford, MA, USA). Todos os recipientes e vidrarias foram mantidos em uma solução a 10% (v/v) de ácido nítrico, antes do uso, por pelo menos 12h para fins de descontaminação. Soluções estoque de padrões com concentração de 1000 mg L⁻¹ (para todos os elementos) foram diluídas usando 1% (v/v) de solução de ácido nítrico para preparar as soluções padrão de trabalho. Ácido nítrico concentrado e peróxido de hidrogênio foram usados no processo de mineralização das amostras.

4.2 INSTRUMENTAÇÃO

A determinação dos elementos foi realizada através do equipamento Varian, Vista PRO Espectrômetro de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (*Mulgrave*, Austrália) com visão axial acoplado a um detector de carga (CCD). Uma câmara de *Sturman Master* e um nebulizador *V-Groove* também foram utilizados. As condições instrumentais empregadas foram: potência (1,3 kW), fluxo do gás do plasma (15,0 L min⁻¹), fluxo do gás auxiliar (1,5 L min⁻¹) e fluxo do gás do nebulizador (0,8 L min⁻¹). Os elementos e as linhas de emissão usadas para a quantificação foram: Ca II (317.933 nm), Cu I (324.754 nm), Fe II (283.204 nm), K II (766.491 nm), Mg II (285.213 nm), Mn II (259.372 nm), Na I (589.592 nm), P I (213.613 nm), V II (292.401 nm) e Zn II (202.548 nm).

4.3 COLETA E ESTOCAGEM DAS AMOSTRAS

Amostras de frutos de *Cyclanthera Pedata* (L) Schard foram obtidas de cinco fazendas de cultivo convencional, localizadas na região sudoeste da Bahia, Brasil. No laboratório estes frutos foram mantidos sob refrigeração até a realização das análises para prevenir a proliferação de fungos e bactérias. Cada amostra

analisada era composta por três frutos, que foram escolhidos aleatoriamente. Estes frutos foram previamente lavados com água desionizada e então suas sementes separadas da polpa usando uma faca plástica. A polpa foi selecionada e as sementes foram descartadas.

A polpa foi particionada, através de uma faca plástica, submetida à homogeneização mecânica (manual) e embalada em pequenos potes de plástico.

4.4 MINERALIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

As Amostras foram mineralizadas usando um bloco digestor assistido por um sistema de refluxo equipado com dedo frio (Ferreira , Silva, de Santana, Junior, Matos & dos Santos, 2013). Aproximadamente 2g de cada amostra foram colocadas em tubos de digestão. Ácido nítrico concentrado (4 mL) e peróxido de hidrogênio (3,0mL) 30% (v/v) foram acrescentados a cada recipiente - experimento realizado em triplicata para cada amostra. A digestão foi realizada em triplicata para cada amostra. As amostras foram digeridas por 2h a 110°C. Após a digestão as amostras foram transferidas para um frasco volumétrico de 25mL e água ultra pura foi usada para completar o volume.

4.5 VALIDAÇÃO DOS DADOS

Durante a etapa de validação o teste de exatidão foi realizado usando um material de referência certificado (Elementos traço em folhas de espinafre (NIST1570a) fornecido pelo *National Institute of Standards and Technology* (Gaithersburg, MD, USA)). A mineralização deste material foi realizada usando o mesmo procedimento aplicado às amostras de Caiguá.

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO DA EXATIDÃO DOS DADOS

Os resultados analíticos do experimento estão em concordância com os valores certificados (expressos como massa fresca), de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1: Avaliação da exatidão do método empregado usando material certificado CRM de Elementos Traço em Folhas de Espinafre.

Elementos	Valores Certificados	Valores encontrados
Calcio (%)	1,527 ± 0,041	1,456 ± 0,093
Sódio (%)	1,818 ± 0,043	1,912 ± 0,107
Fósforo (%)	0,518 ± 0,011	0,467 ± 0,085
Potássio (%)	2,903 ± 0,052	2,856 ± 0,126
Magnésio (%)	0,89 ^a	0,86 ± 0,09
Manganês (mg kg ⁻¹)	75,9 ± 1,9	70,1 ± 6,5
Cobre (mg kg ⁻¹)	12,2 ± 0,6	12,9 ± 0,7
Vanádio (mg kg ⁻¹)	0,57 ± 0,03	0,52 ± 0,08
Zinco (mg kg ⁻¹)	82 ± 3	90 ± 11

^a valor informado

5.2 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MINERAL DO CAIGUA

Vinte e nove amostras de cinco fazendas localizadas na região sudoeste da Bahia, Brasil foram preparadas e analisadas. Espectrômetro de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado foi empregado para a determinação de cálcio, magnésio, sódio, potássio, fósforo, manganês, ferro, zinco, cobre e vanádio. Os

resultados obtidos foram ilustrados na Tabela 2 sendo todas as concentrações expressas como mg de analito por Kg de amostra.

Tabela 2: Determinação da composição mineral de caiguá (mg kg⁻¹)

Amostras	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	V	Zn
L1	50,4	0.186	2.04	1755	71.7	0.429	15.00	228	0.169	1.22
L2	40.9	0.186	2.17	1683	69.4	0.456	15.50	229	0.164	1.43
L3	40.6	0.138	1.63	1601	62.0	0.351	13.89	184	0.152	1.12
L4	230.2	0.059	1.46	808	153.6	0.729	11.69	90	0.130	0.91
L5	204.3	0.109	1.33	738	149.4	0.647	12.78	90	0.150	0.81
L6	141.6	0.066	1.67	745	104.6	0.540	10.98	84	0.129	0.97
J1	107.9	0.059	1.78	1431	111.6	0.216	14.55	46	0.130	1.13
J2	101.3	0.026	1.23	1470	77.7	0.178	12.06	45	0.144	1.42
J3	67.6	0.015	1.43	1338	53.7	0.178	12.22	48	0.168	1.33
J4	143.2	0.074	1.67	1104	58.3	0.547	12.29	200	0.142	1.68
J5	136.0	0.093	1.60	1127	50.1	0.552	12.38	205	0.159	1.56
J6	128.0	0.077	2.09	1108	48.7	0.545	11.38	207	0.129	1.47
D1	94.3	0.022	1.38	1321	49.4	0.589	13.78	115	0.148	0.60
D2	93.1	0.083	1.65	1452	52.7	1.011	11.46	175	0.147	0.81
D3	73.0	0.033	1.30	1265	42.2	0.713	11.44	134	0.136	0.72
D4	197.7	0.047	1.75	2162	129.2	0.565	8.44	159	0.154	0.82
D5	144.5	0.096	1.84	1975	121.1	0.512	6.20	199	0.144	0.96
P1	215.8	0.097	1.96	1974	143.2	0.634	6.11	191	0.138	0.84
P2	71.6	0.132	2.29	2037	70.2	0.316	8.06	168	0.137	1.12
P3	90.9	0.066	2.43	2183	72.7	0.251	5.91	135	0.144	0.84
P4	83.6	0.062	1.51	2067	69.5	0.272	6.24	146	0.158	0.94
P5	106.2	0.115	2.73	1196	57.4	0.558	2.98	138	0.127	1.24
P6	117.2	0.089	3.01	1146	60.0	0.547	3.32	132	0.147	1.23
R1	118.6	0.315	2.68	2146	94.0	1.262	5.54	395	0.162	1.82
R2	110.9	0.351	2.80	1699	95.1	1.174	4.71	347	0.155	1.92
R3	111.2	0.314	2.53	1643	94.4	1.118	3.36	311	0.133	1.74
R4	132.3	0.296	3.92	1617	102.8	2.302	1.75	444	0.133	2.01
R5	140.4	0.232	3.81	1591	95.5	2.260	3.08	402	0.162	1.85
R6	151.4	0.238	3.57	1669	85.7	2.042	6.48	378	0.152	2.23

Foram investigados também os elementos chumbo, arsênio, cádmio, níquel e selênio mas os valores de concentração para estes elementos estavam abaixo do limite de detecção do equipamento.

5.3 ANÁLISE MULTIVARIADA DOS RESULTADOS

Os resultados das concentrações dos 10 analitos nas 29 amostras analisadas foram avaliados por meio das ferramentas quimiométricas PCA e HCA, com auxílio do software *Statística 6.0*.

Uma matriz de dados (10 x 29) foi construída para a realização do pré-processamento dos dados. Nesta matriz os 10 elementos foram representados em colunas e as 29 amostras dispostas em linhas (Tabela 2). Os dados foram previamente tratados segundo a técnica do autoescalamento, devido a diferença entre as unidades de concentração dos analitos (micro e macro escalas). Após o autoescalamento, todas as variáveis passam a possuir o mesmo grau de importância.

Os dados foram modelados considerando as três primeiras componentes principais, juntos eles descrevem 78,42% da variância total. Os pesos das variáveis originais nos três primeiros componentes principais e a variância acumulada em cada componente principal, foram ilustradas na Tabela 3.

Tabela 3: Pesos das variáveis para as três primeiras componentes principais

Elemento	PC1	PC2	PC3
Ca	-0.0954	0.9117	-0.1187
Cu	-0.8929	-0.1002	-0.0165
Fe	-0.9110	0.0070	0.1202
K	-0.3595	-0.3324	-0.7738
Mg	-0.1374	0.7955	-0.4461
Mn	-0.8680	0.1852	0.1821
Na	0.7150	-0.2463	0.1169
P	-0.9483	-0.1117	-0.0112
V	-0.1396	-0.5965	-0.4228
Zn	-0.8031	-0.1760	0.3127
Variância total (%)	46.13	20.79	11.50
Variância acumulada (%)	46.13	66.92	78.42

A Tabela 3 indica que, em termos absolutos, a PC1 é modelada pelos teores de cobre, ferro, manganês, fósforo, zinco e sódio que representam 46,13% da variância total. Todos seis elementos contribuíram para a variabilidade nas amostras e estes encontram-se positivamente correlacionados, exceto o sódio. A segunda componente principal (PC2) é responsável por 20,79% da variância total e as variáveis dominantes desta são cálcio e magnésio. Já a terceira componente principal (PC3) é modelada pelo potássio que apresenta o maior valor significativo em termos absolutos, responsável por 11,50% da variância total. As demais componentes foram consideradas parte integrante da matriz residual, uma vez que PC1, PC2 e PC3 somam 78,42% da informação total. O gráfico da variância total acumulada está ilustrado na Figura 11.

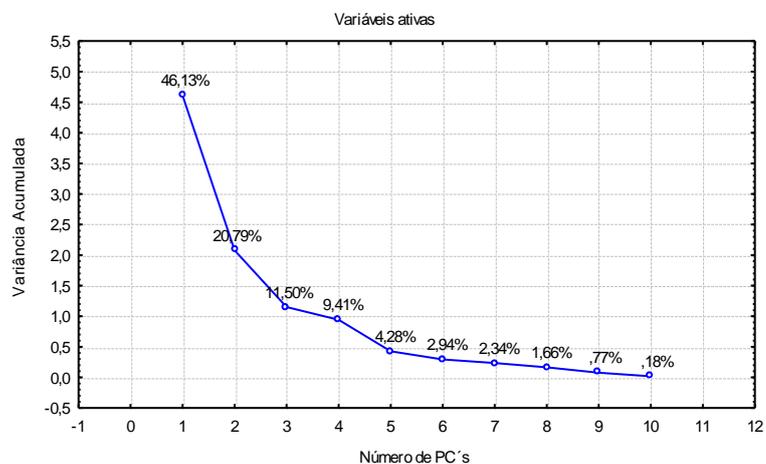


Figura 11: Gráfico da variância acumulada em cada Componente Principal.

O gráfico de escores na Figura 12 (PC1 x PC2) ilustra em PC1 uma separação sistemática entre as amostras da fazenda **R** e as outras amostras analisadas. As amostras R apresentaram baixos escores para PC1, mas de acordo com o gráfico de pesos da Figura 12, apresentaram a mais alta concentração para os elementos: fósforo, cobre, ferro, sódio, zinco e manganês e os menores teores para sódio. Não houve formação de grupos nas amostras das outras fazendas nesta PC e as concentrações dos elementos variaram de forma randômica.

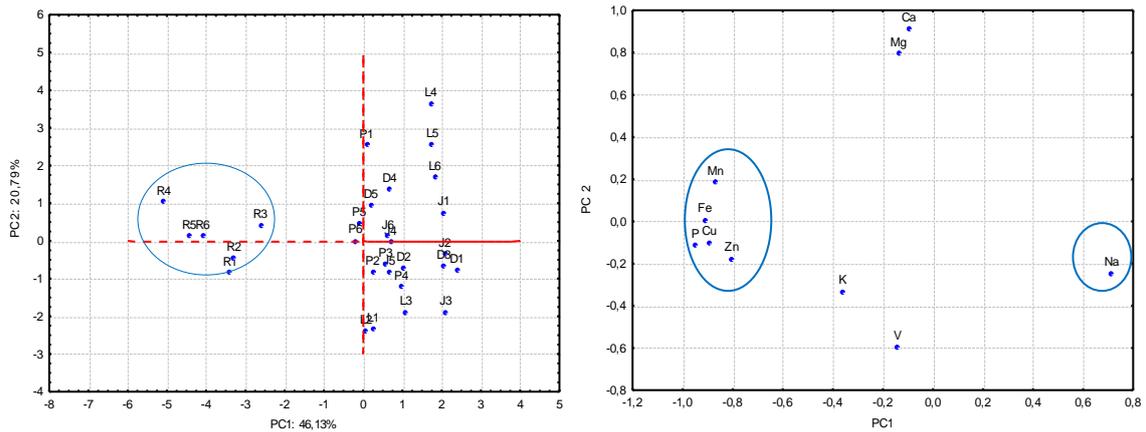


Figura 12: Gráfico de escores PC1 x PC2 (esq.), gráfico de pesos (dir.)

Já na PC2, Figura 12, as variáveis dominantes foram cálcio e magnésio (gráfico de pesos), as amostras com os maiores teores destes macronutrientes são L4, L5, L6, D4 e D5, além de P1 que demonstrou comportamento totalmente diferente das demais amostras de seu grupo (P2 e P3) sendo considerada anômala (dispostas na região mais positiva do gráfico de escores em PC2 Figura 12).

Em PC3 a variável dominante é o potássio. De acordo com o gráfico de pesos (Figura 13, PC1 x PC3) as amostras que possuem os mais elevados teores de K deverão estar deslocadas para a região negativa no gráfico de escores em PC3. O mesmo também é verificado para a PC3 quando observamos o gráfico de pesos e escores da Figura 14. Indicando que as amostras D4, D5, P2, P3, P4 e R1 possuem os maiores teores deste mineral.

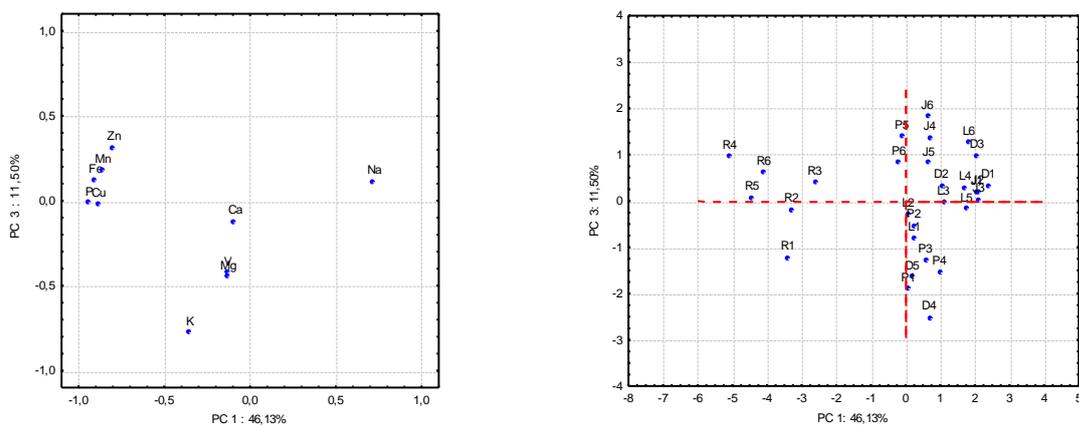


Figura 13: Gráfico de escores PC1 x PC3 (esq.), gráfico de pesos (dir.)

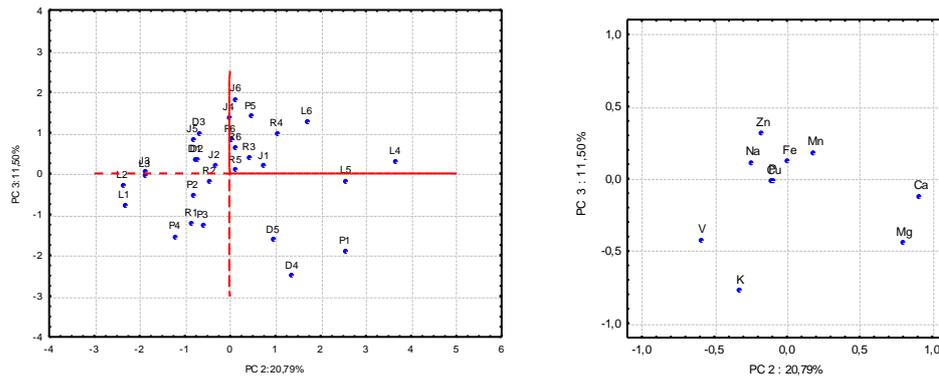


Figura 14: Gráfico de escores PC2 x PC3 (esq.), gráfico de pesos (dir.)

Os dados da composição mineral das amostras de caiguá, Tabela 4, foram também avaliados por HCA. O método da distância Euclidiana foi usada para calcular as distâncias inter pontos (amostras) e grupos similares. O dendograma obtido encontra-se ilustrado na Figura 15.

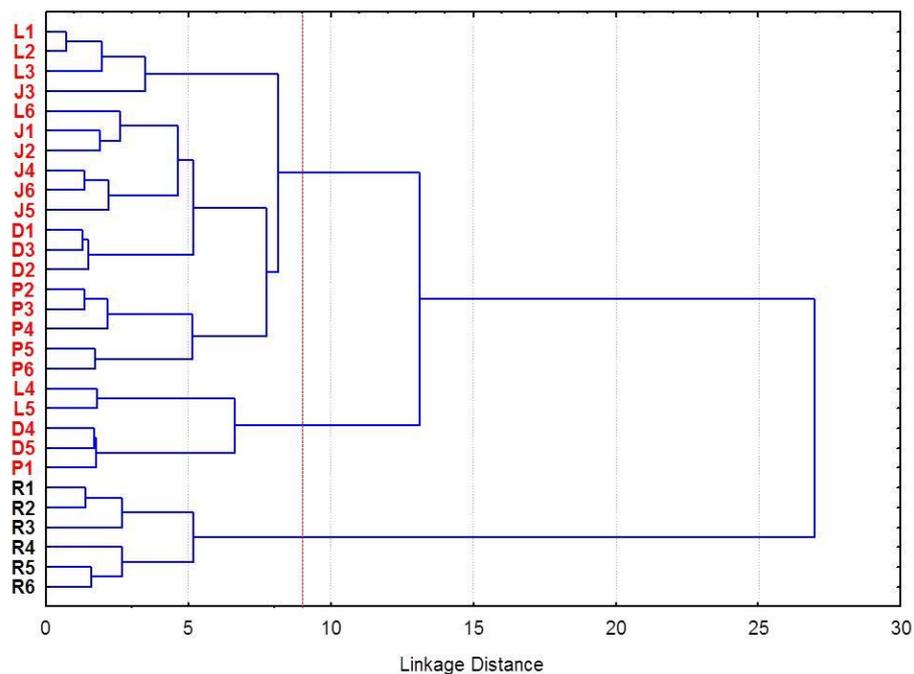


Figura 15: Dendograma das amostras de caiguá de 5 fazendas da região de Jequié.

Os resultados observados na avaliação do dendograma estão correlacionados com aqueles obtidos na avaliação por PCA: As amostras R possuem uma composição mineral diferente das demais.

5.4 INVESTIGAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MINERAL DO CAIGUÁ CRÚ E COZIDO

Na avaliação do efeito de cocção sobre o teor dos minerais estudados, foram empregados três frutos coletados numa feira livre de Jequié- Bahia. A digestão dos frutos foi efetuada conforme tratamento descrito no item 4.3.

Antes da mineralização, parte das amostras foram submetidas ao processo de cozimento, realizado em triplicata. Foram pesadas aproximadamente 2g de amostras e cozidas em 10mL de água ultra pura em forno de microondas (Potência de 1000W) por cerca de 2 min. Os resultados foram apresentados na Tabela 6.

Tabela 4: Determinação da composição mineral das amostras de caiguá cruas e cozidas (g. Kg⁻¹)

		Ca	Mg	K	P	Fe	Zn	Mn
Fruto A	1C	0,068	0,0725	1,8718	0,2359	0,0017	0,0007	0,0004
	2C	0,0632	0,0725	1,911	0,2125	0,0016	0,0004	0,0003
	3C	0,0615	0,0731	1,8506	0,2243	0,0015	0,0004	0,0003
	4CZ	0,0461	0,0345	0,7061	0,0982	0,0015	0,0002	0,0002
	5CZ	0,0315	0,0277	0,6877	0,0856	0,0012	0,0001	0,0002
	6CZ	0,0193	0,0236	0,7385	0,0784	0,0011	0,0002	0,0001
Fruto B	7C	0,0963	0,0718	1,637	0,2024	0,0021	0,0006	0,0004
	8C	0,0927	0,0713	1,6652	0,1945	0,002	0,0005	0,0003
	9C	0,0842	0,0676	1,7257	0,1678	0,0015	0,0004	0,0003
	10CZ	0,0583	0,0255	0,5795	0,0664	0,0012	0,0005	0,0002
	11CZ	0,0672	0,0306	0,6455	0,0806	0,0014	0,0004	0,0002
	12CZ	0,055	0,0227	0,5868	0,0617	0,001	0	0,0002
Fruto C	13C	0,0842	0,0989	1,6205	0,1936	0,0018	0,0008	0,0003
	14C	0,0709	0,0869	1,4704	0,1986	0,0022	0,0009	0,0004
	15C	0,0899	0,0942	1,5158	0,1939	0,0021	0,0008	0,0004
	16CZ	0,0447	0,0433	0,5175	0,065	0,0016	0,0009	0,0002
	17CZ	0,0665	0,0519	0,5562	0,0682	0,0015	0,0002	0,0003
	18CZ	0,066	0,0537	0,5443	0,0668	0,0013	0,0001	0,0002

As replicatas das amostras foram referenciadas como:

Fruto A. Massa crua (C), replicatas 1,2, 3. Massa cozida (CZ), replicatas 4,5,6.

Fruto B. Massa crua (C), replicatas 7, 8, 9. Massa cozida (CZ), replicatas 10, 11, 12.

Fruto C. Massa crua (C), replicatas 13, 14, 15. Massa cozida (CZ), replicatas 16, 17, 18.

5.5 ANÁLISE MULTIVARIADA DOS DADOS CAIGUÁ CRÚ E COZIDO

A Figura R ilustra o gráfico de escores das amostras de caiguá cru e cozido. Nesta avaliação apenas uma variável(PC1) é suficiente para descrever o processo de acordo com o gráfico da variância acumulada (Figura 16).

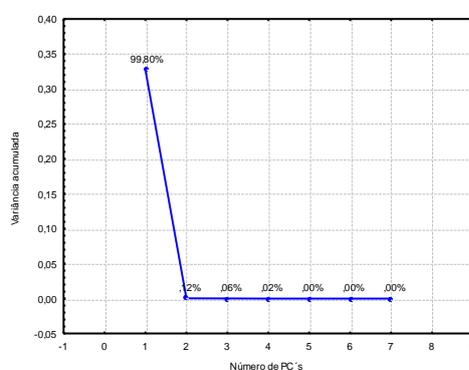


Figura 16: Gráfico da variância acumulada em amostras de caiguá cru e cozido.

As amostras cruas (à esquerda do ponto central) encontram-se perfeitamente separadas das cozidas (à direita do ponto central).

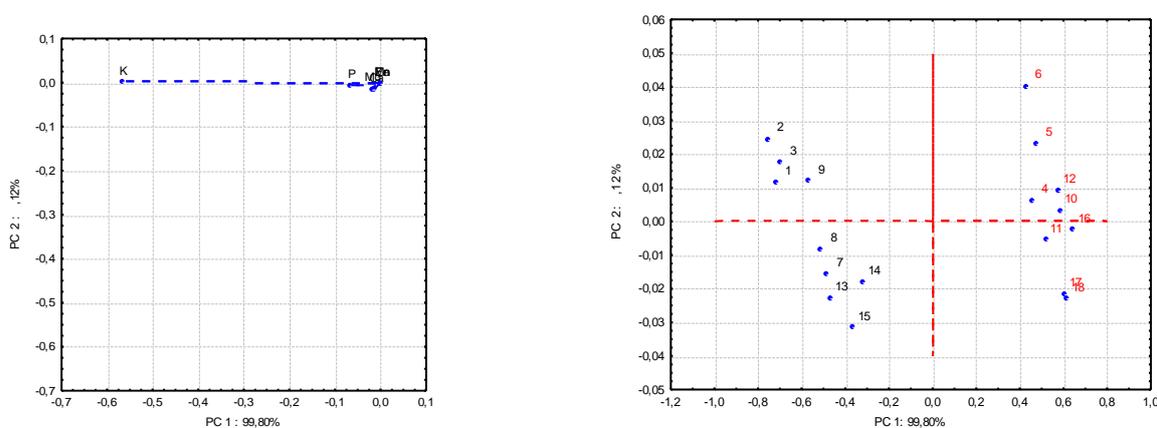


Figura 17: Gráficos de PC1 x PC2 , de pesos (à esquerda) e de escores (à direita) das amostras de caiguá cruas e cozidas.

Conforme o gráfico de pesos ilustrado na Figura 17, as amostras cruas possuem as mais altas concentrações dos elementos em estudo. Já as amostras cozidas, apresentam uma diminuição destes nutrientes, sendo mais evidente a perda de potássio, informação relevante principalmente para pacientes acometidos por doenças renais.

O resultado da avaliação por HCA encontra-se ilustrado no dendograma da Figura 18. Neste, as amostras estão classificadas em dois grupos de acordo com a concentração dos nutrientes.

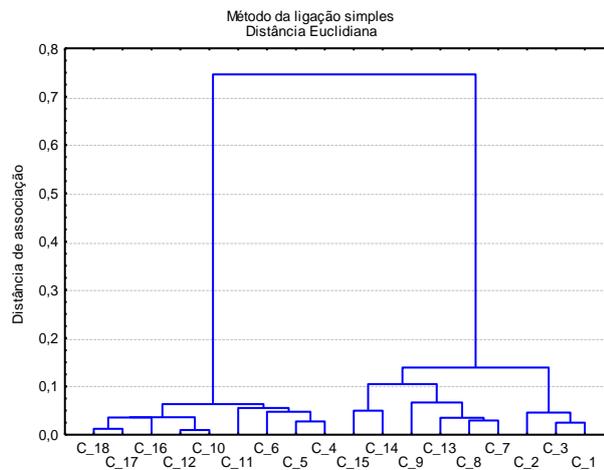


Figura 18: Gráfico de Análise de Agrupamento por Métodos Hierárquicos das amostras de caiguá cru e cozido.

PARTE EXPERIMENTAL II: AVALIAÇÃO NUTRICIONAL

PARTE EXPERIMENTAL

Os experimentos foram realizados no laboratório de Bromatologia da Faculdade de Nutrição da UNEB e no laboratório de Bromatologia, Faculdade de Farmácia da UFBA, na cidade de Salvador-Ba.

4.1 AMOSTRAGEM

Os frutos foram adquiridos na feira livre de Jequié, município localizado no sudoeste da Bahia, na região nordeste do Brasil (Figura 19). Este possui altitude de 215m, latitude $13^{\circ} 51' 27'' \text{S}$ e longitude $40^{\circ} 05' 01'' \text{W}$. Os frutos foram comprados na feira - livre do bairro do jequezinho diretamente de um dos produtores da cidade. A coloração, odor e tamanho dos frutos indicaram que estes se encontravam aptos ao consumo *in natura*. Cerca de 5 kg de caiguá foram usados nas análises.

As amostras foram embaladas em jornais, de forma unitária, acondicionadas em sacolas plásticas para transporte.



Figura 19: Localização da cidade de Jequié, região sudoeste da Bahia

Fonte: Google maps.

4.1.1 Preparo das amostras

Aproximadamente 2 Kg do fruto foram lavados em água corrente, cortados ao meio e separadas as sementes (que foram descartadas). Depois os frutos foram processados em liquidificador e sua polpa foi dividida em três porções. Uma delas conduzida a estocagem em potes de vidro, acondicionadas em refrigerador comum. A outra foi dividida em potes plásticos para posterior liofilização com vácuo (conforme ilustrado na Figura 20) na faixa de 60-100 μ Hg e estocagem em ultra refrigerador à temperatura de - 41 °C, para liofilização (a polpa liofilizada foi acondicionada em embalagens plásticas, armazenadas até a realização da análise). E uma parte da polpa, amostra fresca, foi utilizada imediatamente para a caracterização físico-química do fruto.



Figura 20: Liofilização das amostras de caiguá

Fonte: Arquivo de fotos dos autores

4.2 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Os frutos de *Cylanthra pedata* (caiguá) foram analisados segundo suas características físico-químicas, composição centesimal, determinação de fenólicos e atividade antioxidante.

4.2.1 Determinação da Umidade

A umidade foi determinada por gravimetria, segundo o método recomendado pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1ª Edição Digital, 2005). [37]

Três cápsulas de porcelana foram taradas e numeradas. Cerca de 5g de amostra fresca foram colocadas em cada cápsula. Estas foram conduzidas ao

aquecimento em estufa a 105°C por 3h. Em seguida foram resfriadas em dessecador por 30 min. Após resfriamento as cápsulas foram pesadas. O procedimento de aquecimento e resfriamento foi repetido até obtenção de peso constante.

O teor de umidade (%) foi obtido pela fórmula:

$$100 \times N / P \quad (05)$$

Em que:

N = nº de gramas de umidade

P = nº de gramas de amostra

4.2.2 Determinação de Cinzas

O resíduo mineral fixo foi determinado por gravimetria em mufla a 550°C até peso constante, segundo Instituto Adolfo Lutz (2005) [37].

Foi pesado 5g da amostra fresca, em triplicata, em cadinhos previamente tarados. As amostras carbonizadas na mufla a 250°C por 4h e após este período a temperatura da mufla foi elevada para 550°C, até incineração completa da amostra. As amostras incineradas foram resfriadas em dessecador, por 40 min e pesadas em seguida.

O teor de cinzas (%) foi obtido pela fórmula:

$$100 \times N/P \quad (06)$$

Em que:

N = nº de gramas de cinzas

P = nº de gramas de amostra

4.2.3 Determinação de Proteínas

Determinada segundo o método de Kjeldahl (modificado), o qual é baseado na digestão ácida da matéria orgânica contida na amostra, seguido de destilação,

sendo o nitrogênio posteriormente dosado por titulação. Foi utilizado o fator de 6,25 para a conversão nitrogênio em proteína total (g/100g).

Foi pesado cerca de 0,4g de amostra em papel manteiga. Estas foram transferidas para tubos de digestão contendo 8mL de solução de ácido sulfúrico concentrado e cerca de 1g de mistura catalítica (mistura de dióxido de titânio anidro, sulfato de cobre anidro e sulfato de potássio, na proporção de 0,3;0,3:6). O sistema foi submetido à aquecimento em bloco digestor até a solução adquirir a coloração azul-esverdeada e possuir aspecto livre de material não digerido. A seguir, permaneceu em aquecimento por mais uma hora e posteriormente resfriado. A destilação foi realizada em sistema automático através do destilador de nitrogênio marca MARCONI, modelo MA-036, com recipiente interno para depósito de solução de hidróxido de sódio a 40% (Figura 21).



Figura 21: Destilador de nitrogênio.

Um frasco erlenmeyer de 500mL contendo 5mL de solução de ácido bórico (0,033mol/L), indicador misto (verde de bromo cresol e vermelho de metila) e água (suficiente para mergulhar a mangueira) foi usado para recolher o destilado – de coloração verde. A solução de hidróxido de amônio recolhida foi posteriormente titulada com solução de ácido clorídrico 0,1mol. L⁻¹ usando fenolftaleína como indicador. Os resultados foram obtidos através dos cálculos: [37]

$$\%N = (V \times 0,014 \times 100) / P \quad (07)$$

$$\%Proteínas = \%N \times 6,25 \quad (08)$$

Em que:

V= volume de HCl gasto na titulação em mL

P= massa da amostra (g)

4.2.4 Determinação de Lipídeos

Os lipídeos foram determinados, em extrator de Soxhlet. O solvente empregado foi o éter de petróleo. Foi pesado cerca de 7g da amostra fresca em papel manteiga, embaladas como pacotes, colocadas em cápsulas cilíndricas (confeccionadas com papel de filtro) e estas foram transferidas para o extrator de Soxhlet. Os balões acoplados ao extrator foram pesados e tarados a 105° C e a cada um destes foram adicionados 200mL de éter de petróleo. O sistema foi mantido sob aquecimento conforme ilustrado na Figura 22, em chapa elétrica à temperatura de 60° C, por cerca de 6h. Ao final da extração o solvente foi recuperado e o balão com resíduo foi transferido para estufa a 105° C, durante 1h e resfriado em dessecador até atingir a temperatura ambiente. O balão foi pesado a seguir.[37]

O teor de lipídeos (%) foi obtido pela fórmula:

$$100 \times \frac{N}{P} \quad (09)$$

Em que:

N= número de gramas de lipídeos (balão com gordura- balão) (g)

P= massa de amostra (g)



Figura 22: Sistema utilizado para a determinação de lipídeos, extração por Soxlet

4.2.5 Determinação de Fibras totais

Em erlenmeyer com boca esmerilhada foram colocados cerca de 100mL de solução ácida (solução ácida para 1L: 500mL de ácido acético glacial, 450mL de água, 50mL de ácido nítrico e 20g de ácido tricloroacético) e aproximadamente 0,25g da amostra seca e desengordurada. O sistema foi submetido a refluxo e mantido em aquecimento, através de uma chapa aquecedora, por quarenta minutos contados após o preparo da solução. A solução foi filtrada em cadinho de Gooch previamente preparado com areia diatomácea e com o auxílio de vácuo. O filtrado foi lavado com água fervente até conduzir o pH da solução de lavagem a valores entre 5 e 6. A seguir, o filtrado foi lavado com 20mL de álcool etílico e éter de petróleo. O filtrado foi seco em estufa a 105°C, por 2h. Resfriado em dessecador até a temperatura ambiente. Incinerado em mufla a 550°C por 6h. Resfriado em dessecador e pesado até a obtenção de massa constante. Os resultados foram obtidos através do cálculo:[37]

$$\frac{[(\text{Papel de filtro} + \text{Fibras}) - \text{Papel de filtro}] \times 100}{\text{Massa da amostra em gramas}} = \text{Fibras totais \% , m/m} \quad (10)$$

Massa da amostra em gramas

4.2.6 Determinação de Carboidratos

O teor de carboidratos foi determinado segundo o método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2005), subtraindo de 100% do valor de proteínas, lipídios, cinzas e umidade [37].

4.2.7 Sólidos solúveis totais (SST)

A determinação de Sólidos solúveis totais foi realizada através da leitura em Refratômetro SST ATAGO a temperatura de 20°C, modelo N-1, homogeneizando-se a amostra e transferindo 1 ou 2 gotas para o prisma do refratômetro, desprezando-se partículas grandes de polpa. Os resultados foram expressos em °Brix

4.2.8 Acidez titulável (AT)

A acidez total titulável foi obtida por titulação de 4g da amostra fresca, polpa triturada (diluída para 50mL de solução aquosa acrescida de 3 gotas de fenolftaleína) com solução de Hidróxido de sódio (NaOH) 0,01 mol/L sob agitação constante, até obtenção da coloração rósea persistente por 30 segundos [37].

O grau de acidez foi obtido através da fórmula:

$$(V \cdot f \cdot 100) / P \cdot c = \text{Acidez em solução molar por cento v/m} \quad (11)$$

Onde:

V= volume da solução NaOH 0,1 ou 0,01mol/L gasto na titulação

f = fator da solução NaOH 0,1 ou 0,01mol/L

P= massa da amostra, em gramas, usado na titulação

C= correção para solução de NaOH 1mol/L . 10 para solução 0,1mol/L e 100 para solução 0,01mol/L.

4.2.9 Potencial hidrogeniônico (pH)

Para a medida do potencial hidrogeniônico preparou-se uma solução concentrada da amostra fresca (em água destilada) de modo que as partículas

ficassem uniformemente suspensas. A aferição foi realizada à temperatura de 20° C utilizando um potenciômetro modelo HI 221, HANNA, calibrado com soluções tampão pH 4 e 7.

4.2.10 Açúcares redutores

Cerca de 20g da amostra fresca triturada foi transferida para um balão volumétrico e seu volume foi completado para 100mL usando água destilada. A seguir, a solução foi agitada e filtrada em papel de filtro seco e recolhida em frasco de Erlenmeyer de 250mL. O filtrado foi transferido para uma bureta e usado para a titulação de uma solução em ebulição contendo 10mL de soluções de Fehling A e B mais 40mL de água, mantida sob constante agitação. A transferência da solução da bureta continuou até a mudança de coloração da solução titulada de azul para incolor (com a presença de um resíduo vermelho de Cu_2O) [37]. Cálculo:

$$\frac{100 \times A \times a}{P \times V} = \text{glicídios redutores em glicose\%, m/m} \quad (12)$$

$$P \times V$$

A= volume em mL de solução da amostra

a = massa, em gramas, de glicose usada para reduzir 10mL das soluções de Fehling A e B.

P = massa da amostra em g

V= volume em mL da amostra gasto na titulação

4.2.11 Açúcares totais

Para a determinação dos açúcares totais foram utilizadas as soluções da amostra fresca- preparadas para a determinação de açúcares redutores- foram tomadas alíquotas de 20mL das soluções filtradas, transferidas para frascos Erlenmeyer de 100mL e acrescentadas 3 gotas de ácido clorídrico P.A.(QUIMIS) em cada recipiente. Estas soluções foram submetidas ao aquecimento em banho-maria (já previamente aquecido e mantido à temperatura de 100°C) por cerca de 15 minutos. Após o aquecimento foi acrescentado carbonato de sódio (ponta da espátula) a solução e o controle do pH foi feito através de papel indicador, cujo valor oscilava entre 8 e 9. A solução foi transferida para balões de 100 mL e acrescentou-se água até completar o volume. A solução foi transferida para uma bureta e usada na titulação de uma solução (em ebulição e sob constante agitação) contendo 10mL de cada uma das soluções de Fehling A e B e 40mL de água. A

titulação foi realizada até a observação da mudança da coloração da solução de azul a incolor (com a presença de um resíduo vermelho de Cu_2O) [37]. Cálculo:

$$\frac{100 \times A \times a}{P \times V} = \text{glicídios totais em glicose\%, m/m} \quad (13)$$

$$P \times V$$

A= volume em mL da solução da amostra

a = massa, em gramas, de glicose correspondente a 10mL das soluções de Fehling

P = massa da amostra em g

V= volume em mL da amostra gasto na titulação

4.2.12 Compostos Fenólicos totais

Para determinação de compostos fenólicos totais foram preparados dois extratos da amostra – extrato alcoólico e aquoso, feitos em duplicata- contendo 0,15g da amostra liofilizada e 30mL de metanol (ou água) em um balão de 50mL, submetido a centrifugação durante 20 minutos a 10rpm. Em seguida os extratos foram filtrados e o volume do balão completado. Uma alíquota de 0,5mL do extrato foi transferido para um balão de 25mL. Foram acrescentados 2,5mL de solução aquosa do reagente Folin Dennis-Ciocalteu a 10% e 2,0mL de solução de carbonato de sódio a 7,5%. A solução resultante foi mantida em banho-maria durante 5 minutos a temperatura de 50°C para desenvolvimento da coloração azul (resultante da redução dos ácidos fofomolibdico e fosfotúngstico em solução alcalina reagente Folin –Ciocalteu por fenólicos). A seguir, a mistura foi resfriada e sua absorbância foi aferida (a 760nm) por meio de um espectrofotômetro UV-vis (SP-220, BIOSPECTRO), previamente calibrado, usando solução de ácido gálico em diferentes concentrações (0 a 10mg/mL), partindo de uma solução de concentração 100ppm.

Os cálculos foram efetuados com base na equação da reta, obtida a partir da curva padrão de ácido gálico:

$$y = 0,114x + 0,036 \quad (14)$$

$$(R^2 = 0,993897)$$

Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100g da amostra [37].

Na equação $y =$ absorbância, $x =$ mg EAG de fenólicos em 0,5mL da amostra usada. Para obter-se o resultado deve-se fazer o cálculo para 100mL da amostra e a seguir para a quantidade de amostra usada.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da caracterização físico-química e da composição centesimal do fruto foram comparados com valores encontrados na literatura para abóbora, melão e pepino (também curcubitáceas), pois o maxixe do reino não possui uma norma específica que regularize o seu controle de qualidade (no Brasil) e apresenta características sensoriais (quando *in natura*) que se assemelham ao pepino.

De acordo com a Tabela 1, verifica-se que a média dos valores de pH do maxixe do reino 5,72 é muito próxima a média dos valores da melancia 5,08 [38]. A média dos valores de sólidos solúveis totais (°Brix) para o maxixe do reino, 3,0%, é inferior ao da melancia 5,8% e melão 7,2% [39] indicando que em relação a estas, as amostras de maxixe do reino apresentam um menor teor de glicídeos.

Tabela 5. Caracterização Físico-química do caiguá.

Determinações	Média dos valores*
Sólidos solúveis totais (°Brix)	3,0%
pH	5,72
Acidez total g/100g	$1,6 \cdot 10^{-3} \pm 0,38$
Açúcares reductores g/100g	$0,629 \pm 0,038$
Açúcares não reductores	n.d.

n. d.= não determinado

*Determinações feitas em triplicata

A acidez total titulável é determinada pela presença de ácidos orgânicos cuja composição varia de acordo com o tipo de fruta. Este é um dos parâmetros usados para caracterizar a fruta em relação ao sabor. A média dos valores de acidez total para o maxixe do reino foi de 0,0016g/100g de amostra, Tabela 1, quando comparado aos valores da melancia 0,076g ácido cítrico/100mL de suco [40].

Já os resultados apresentados na Tabela 2, indicam que o teor de umidade das amostras de caiguá, pepino e abóbora são muito próximos, respectivamente 96%; 96,8% e 95,7%. O controle da umidade está intrinsecamente relacionado com a estabilidade do fruto, fator determinante para o seu armazenamento [41]

As cinzas constituem o teor de minerais presentes nos alimentos [42] e a média dos valores de cinzas do maxixe do reino é maior do que a dos frutos aqui usados como parâmetro (pepino 0,3g; melão 0,4g; melancia 0,3g e abóbora 0,4g) [41].

Dentre as amostras citadas para comparação, o maxixe do reino possui o menor teor de fibras totais 0,04g/100g. O valor de carboidratos do maxixe do reino 2,25% é próximo ao do pepino 2,0% e abóbora 3,3% [41].

O valor calórico total (V.C.T.) do caiguá 11,5kcal (Tabela 2) é comparável ao do pepino 10kcal [41].

Tabela 6. Composição centesimal do caiguá.

Determinações (100g do fruto)	Média dos valores*
Umidade	96%
Cinzas*	0,64 ± 0,01
Proteínas*	0,59 ± 0,03
Lipídeos*	0,02 ± 0,00
Fibras totais*	0,04 ± 0,01
Carboidratos (por diferença)	2,25%
V.C.T.	11,5 kcal

Determinações feitas em triplicata.

*Unidade g/100g do fruto

Apesar das diferenças de climáticas e de cultivo, podemos também comparar os resultados da composição nutricional do caiguá com aqueles encontrados na Tabela Peruana de Composição de Alimentos, 2009 (Tabela 7) [46].

Tabela 7. Composição centesimal do caiguá peruano.

Determinações (100g do fruto)	Média dos valores*
Umidade	95%
Cinzas*	1,0g
Proteínas*	0,5g
Lipídeos*	0,2g
Fibras totais*	1,6g
Carboidratos	3,3g
V.C.T.	15kcal

Fonte: *Tablas Peruanas de Composición de Alimentos, 2009.*

Os valores da composição centesimal do fruto peruano possui resultados bem próximos ao do caiguá brasileiro. Com exceção dos lipídeos e fibras totais. Infere-se que estas diferenças estejam relacionadas a fatores como clima, adubação, cultivo por diferentes sistema de tutoramento e espaçamento, imprescindíveis a algumas curcubitáceas que necessitam da polinização feita por insetos[47].

As médias das concentrações de fenólicos totais como solventes (expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico) estão apresentados na Tabela 3. Os dois extratos apresentaram teores relevantes de polifenóis com destaque para o extrato metanólico que apresentou a maior média das concentrações de compostos fenólicos.

Os resultados sugerem uma mistura de compostos polifenólicos de polaridade diversificada, induzindo que a maior porção seja formada por compostos lipossolúveis. Como parte dos compostos fenólicos também atuam como antioxidantes, o método Folin-Ciocalteau não conduz a resultados exatos da concentração de fenólicos totais (por exemplo, ácido ascórbico também reage com o ácido fosfotúngstico-fosfomolibdico formando o complexo de molibdênio azul) [44].

Logo a extração de polifenóis deve ser efetuada por solventes aquosos-orgânicos de modo a considerar a presença de antioxidantes no resíduo [45].

Tabela 8. Concentração de fenólicos totais em extrato aquoso e metanólico determinado pelo método Folin-Ciocalteu

Solventes	Concentração média de fenólicos em mg EAG
Água	17,57
Metanol	101,42

6 CONCLUSÕES

A determinação da composição mineral em amostras de caiguá indicou que os teores de cálcio, cobre, ferro, potássio, magnésio, manganês, sódio, potássio, fósforo, vanádio e zinco são semelhantes aos teores de cinco frutos característicos da família das curcubitáceas, segundo o departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA).

O efeito da cocção foi observado através da redução do teor dos minerais, comparando os valores para o fruto cru e cozido, afetando de modo mais significativo às concentrações de potássio para amostras do fruto cozido.

A análise dos componentes principais demonstrou que os elementos fósforo, cobre, ferro, sódio, zinco e manganês contribuem para a maior variabilidade apresentada nas amostras de caiguá analisadas. Os resultados da HCA foram compatíveis com os da PCA.

A determinação da composição mineral do caiguá demonstrou um elevado teor de potássio, cálcio, fósforo e magnésio. As concentrações de sódio encontradas foram muito baixas. Foram investigados também os elementos chumbo, arsênio, cádmio, níquel, selênio e vanádio, mas os valores de concentração para estes elementos estavam abaixo dos limites de detecção do equipamento.

A investigação da composição nutricional do caiguá colhido em solo brasileiro foram próximos áqueles comparados com resultados encontrados na Tabela peruana de alimentos, 2009.

De acordo com os resultados obtidos, o caiguá consiste em uma boa alternativa para ser usado em dietas devido ao seu baixo teor calórico e pode também ser usado como suplemento alimentar antioxidante devido a elevada concentração de fenólicos encontrados neste fruto.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

- Estudar a atividade antioxidante do caiguá;
- Desenvolver um método analítico *in vitro* (baseado na diálise) para a avaliação da bioacessibilidade e biodisponibilidade de ferro, zinco, cobre e manganês em amostras de caiguá.
- Estudar as interações das espécies de ferro, zinco, cobre e manganês com as flavonas presentes no caiguá e sua influência na bioatividade destes compostos.
- Aplicar os métodos clássicos de avaliação *in vivo* de amostras de alimentos para a análise da redução de calorias, pelo consumo regular de caiguá, através do monitoramento do plasma sanguíneo de ratos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] GONZÁLVES, A.; ARMENTA, S.; CERVERA, M.L.; LA GUARDIA, M. Elemental composition of seasoning products. **Talanta**, 74, p. 1085-1095, 2008.
- [2] KHOUZAM, R.B.; POHL, P.; LOBINSKI, R. Bioaccessibility of essential elements from White cheese, bread, fruit and vegetables. **Talanta**, 86, p.425-428, 2011.
- [3] TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS/ NEPA –UNICAMP, 4^a ed. , Campinas, 2011.
- [4] LIMA, G.P.P.; LOPES, T.V.C.; ROSSETTO, M.R.M.; VIANELLO, F. Nutritional composition, phenolic compounds, nitrate content in eatable vegetables obtained by conventional and certified organic grown culture subject to thermal treatment.
- [5] MAIA, G.E.G.; PASQUI, S.C.; LIMA, A. da S.; CAMPOS, F.M. Determinação dos teores de vitamina C em hortaliças minimamente processadas. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, 19, n.3, p. 329-335, 2008.
- [6] BRERETON, R.G. Pattern Recognition. In: **Applied Chemometrics for Scientists**, John Wiley & Sons Ltd, 2007, cap. 5.
- [7] FERREIRA, M.M.C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P.L.O. “ Quimiometria I: Calibração Multivariada, um Tutorial”. **Química Nova**, vol. 22, 1999, p.724-731.
- [8] FERREIRA, D.F. **Análise Multivariada**. Lavras, 1996.
- [9] GEMPERLINE, P. **Practical guide to chemometrics**, second edition, Taylor & Francis Group, 2006.
- [10] GONZÁLES, A.G. Use and misuse of supervised pattern recognition methods for interpreting compositional data. **Journal of Chromatography A**. 1158, p. 215-225, 2007.
- [11] SMEYERS-VERBEKE, J.; DEN HARTOG, J.C.; DEKKER, W. H.; MASSART, D.L. Clustering applied to an organic air pollutants data set. **Analisis ISSN 0365-4877**, vol. 12, nº 10, p. 486-489, 1984.
- [12] BRUNS, R.E.; FAIGLE, J.F.G. Quimiometria, **Química Nova**, vol. 8, p. 84-99, 1985.
- [13] KRYGER, L. Interpretation of analytical chemical information by pattern recognition methods- a survey. **Talanta**, 28, 1981, p. 871-887.
- [14] BOSCHETTI, W. et al. Detection of the origin of Brazilian wines based on the determination of only four elements using high-resolution continuum source flame AAS. **Talanta**, 111, p. 147-155, 2013.

- [15] RODRÍGUEZ-SOLANA, R.; SALGADO, J.M.; DOMÍNGUEZ, J.M.; CORTÉS, S. Assessment of minerals in aged grape marc distillates by FAAS/FAES and ICP-MS. Characterization and safety evaluation. **Food Control**, 35, p. 49-55, 2014.
- [16] RIZELIO, V.M. et al. Fast determination of cations in honey by capillary electrophoresis: A possible method for geographic origin discrimination. **Talanta**, 99, p. 450-456, 2012.
- [17] MARTÍNEZ-LLORENT, E.J.; BARRALES-ORTEGA, P.; CÓRDOVA DE – FERNÁNDEZ, M.L.; VIDAL-DOMÍNGUEZ, A.; MEDINA-RUIZ, A. Investigation by ICP-MS of trace element levels in vegetable edible oils produced in Spain. **Food Chemistry**, 127, p. 1257-1262, 2011.
- [18] PIÑERO-MOREDA, A.; BARRERA-BERMEJO, P.; BARRERA-BERMEJO, A. Chemometric investigation of systematic error in the analysis of biological materials by flame and electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 560, p. 143-152, 2006.
- [19] TOKALIOGLU, S. Determination of trace elements in commonly consumed medicinal herbs by ICP-MS and multivariate analysis. **Food Chemistry**, 134, p. 2504-2508, 2012.
- [20] MACHANA, S. et al. FTIR microspectroscopy discriminates anticancer action on human leukemic cells by extracts of *Pinus kesiya*: *Cratogeomys formosum* ssp. *Pruniflorum* and melphalan. **Talanta**, 93, p.371-382, 2012.
- [21] NANO, R.M.W., et al. Statistical mixture design development of digestion methods for Oyster tissue using inductively coupled plasma optical emission spectrometry for the determination of metallic ions. **Talanta**, 80, p. 559-564, 2009.
- [22] ORNELAS, L.H. Seleção e preparo de alimentos, 8^a ed., S. Paulo, Atheneu, 2007.
- [23] MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Manual de Hortaliças Não Convencionais**, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 1^a ed., Brasília, 2010.
- [24] SERRA, A. T. et al., Evaluation of cardiovascular protective effect of different apple varieties correlation of response with composition, **Food Chemistry**, 135, p. 2378-2386, 2012.
- [25] MALIKA, B.; LAMRI-SENHADJI, M. Nutritional Quality of Legumes, and Their Role in Cardiometabolic Risk Prevention: A Review. **Journal of Medicinal Food**, 16 (3), p. 185-198, 2013.
- [26] WILLIAMS, D. J. et al., Vegetables containing phytochemicals with potential anti-obesity properties: A review. **Food Research International**, 52, p. 323-333, 2013.

- [27] MONTORO, P.; CARBONE, V.; PIZZA, C. Flavonoids from the leaves of *Cyclanthera pedata*: two new malonyl derivatives, **Phytochemical Analysis**, 16, p. 210-216, 2005.
- [28] FERNANDES, L. A., et al. Nutrição mineral de plantas de maxixe-do-reino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 40 (7), p. 719-722, 2005.
- [29] PRASATH, G. S.; SUBRAMANIAN, S. P., Modulatory effects of fisetin, a bioflavonoid, on hyperglycemia by attenuating the key enzymes of carbohydrate metabolism in hepatic and renal tissues in streptozotocin-induced diabetic rat. **European Journal of Pharmacology**, 668 (3), p. 492-496, 2011.
- [30] MACCHIA, M. et al. Agronomic and phytochemical characterization of *Cyclanthera pedata* Schard. Cultivated in central Italy. **Journal of Microbiology Research**, 3, p. 434-438, 2009.
- [31] MONTORO, P. et al. Studies on the Constituents of *Cyclanthera pedata* Fruits. **Journal Agriculture Food Chemistry**, 49, p. 5156-5160, 2001.
- [32] KLEIN, B. P. Nutritional consequences of minimal processing of fruits and vegetables. **Journal of Food Quality**, n. 10, p. 179-193, 1987
- [33] COSTA, C.A. et al. Produção de maxixe-do-reino em função do sistema de tutoramento e de espaçamento. **Horticultura Brasileira**, 23, p. 28-31, 2005.
- [34] ARMENGOL, J. et al. Host range of *Acremonium curcubitacearum* cause of *Acremonium* collapse of muskmelon. **Plant Pathology**, 47, p. 29-35, 1998.
- [35] GUREVICH, S. D.; SHATKINA, R. Substance, e. g. cosmetic skin care product for human skin or hair, comprises *Adansonia digitata*, *Borojoa patinoi*, *Cyclanthera pedata* and *Aframomum melegueta*. US2010136064-A1; US8142823-B2.
- [36] MONTORO, P.; CARBONE, V.; PIZZA, C. Flavonoids from the leaves of *Cyclanthera pedata*: Two New Malonyl Derivates. **Phytochemical Analysis**, 16, p. 210-216, 2005.
- [37] Análise Físico-química de Alimentos, **Instituto Adolfo Lutz - IAL**, São Paulo, 1ª Edição Digital, 2008. Disponível em: <www.ial.sp.gov.br>
- [38] CARLOS, A. L. X.; MENEZES, ROCHA, J. B.; R. H. C.; NUNES, G. H. S.; SILVA, G. G. Vida Útil Pós-Colheita de Melancia Submetida a Diferentes Temperaturas De Armazenamento. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande, v.4, n.1, p.29-35, 2002.
- [39] MORITA, A. S.; GOIS, V. A.; PRAÇA, E. F.; TAVARES, J. C.; ANDRADE, J. C.; BARROS JÚNIOR, A. P.; COSTA, F. B.; SOUSA, A. H. Cristalização de melão pelo

processo lento de açucaramento. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v. 35, n. 03, 2005.

[40] ALMEIDA, D. P. F.. Cultura da Melancia. Porto: Universidade do Porto, p.09, 2003.

[41] TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS/ NEPA – UNICAMP, 4^a ed. , Campinas, 2012.

[42] CHAVES, M.C.V; GOUVEIA, J.P.G; ALMEIDA, F.A.C.; LEITE, J.C.A.; SILVA, F.L.H. Caracterização físico-química do suco de acerola. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v.4, n.2, 2004.

[43] NIELSEN. S. S. ,Food-Analysis. 2nd ed . **Aspen Publishers**, Gaithersburg, Maryland:, 1998.

[44] HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidante capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

[45] PÉREZ-JIMENEZ, J.et al. Updated methodology to determine antioxidante capacity in plant, food, oils and beverages: extraction, measurement and expression of results. **Food Res. Int.**, v. 41, p. 274-285, 2008.

[46] TABLAS PERUANAS DE COMPOSICIÓN DE ALIMENTOS/ CENTRO NACIONAL DE ALIMENTACIÓN Y NUTRICIÓN - INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, 8^aed., Lima, 2009.

[47] COSTA, C.A.; RAMOS, J.; ALVES, D.S.; MARTINS, E.R.; FERNANDES, L.A.; LEITE, G.L.D.; NAPOLEÃO, R.L. Produção do maxixe-do-reino em função do sistema de tutoramento e do espaçamento. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.1, p.28-31, jan.-mar. 2005.