



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

KELLY LOPES HERCULANO

CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE FARINHAS ALIMENTÍCIAS

Maceió - AL

2014

KELLY LOPES HERCULANO

Capacidade Antioxidante de Farinhas Alimentícias

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química e Biotecnologia.

Orientadora: Marília Oliveira Fonseca Goulart

Co-orientadora: Iara Barros Valentim

Maceió - AL

2014

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Maria Auxiliadora G. da Cunha

H539c Herculano, Kelly Lopes.
Capacidade antioxidante de farinhas alimentícias / Kelly Lopes
Herculano. - 2014.
108 f. : il., tabs., gráfs.

Orientadora: Marília Oliveira Fonseca Goulart.
Co-orientadora: Iara Barros Valentim.
Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade
Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2014.

Bibliografia. f. 92-108.

1. Capacidade antioxidante. 2. Peroxidação lipídica. 3. Farinhas
alimentícias. 4. Açafrão. 5. Girassol. I. Título.

CDU: 546.215



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA




BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1144
Email: ppgqb.ufal@gmail.com

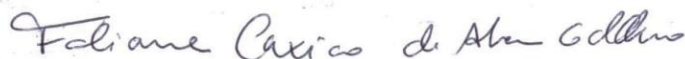
FOLHA DE APROVAÇÃO


Membros da Comissão Julgadora da defesa de Dissertação da Mestranda **Kelly Lopes Herculano**, intitulada: “**Capacidade Antioxidante de Farinhas Alimentícias**”, realizada no dia 24 de abril de 2014, às 09:00 horas, na Sala de Reuniões do IQB/UFAL.


COMISSÃO JULGADORA


Prof. Dr.^a Marília Oliveira Fonseca Goulart
Orientadora, presidente, IQB/UFAL.


Prof. Dr.^a Iara Barros Valentim
Coorientadora, IFAL/Maceió.


Prof.^a Dr.^a Fabiane Caxico de Abreu Galdino
PPGQB/UFAL


Prof.^a Dr.^a Alane Cabral de Oliveira
FANUT/UFAL


Prof. Dr.^a Fabricia da Rocha Ferreira
CAPES/PNPD

Dedico este trabalho a todos os familiares,
em especial, a meus pai Joséas e à minha mãe Marta,
que fizeram de tudo para que esse sonho se tornasse realidade.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois, sem Ele, não poderia de forma alguma chegar até aqui.

À Prof^a. Dr^a. Marília O. F. Goulart, que confiou em mim e me deu a chance de ser, além de sua aluna de iniciação científica (há anos atrás), a oportunidade de ser sua aluna de mestrado e participar desta equipe maravilhosa de pesquisa. Obrigada prof^a Marília te agradeço desde o primeiro momento, pela sua orientação e tudo que tens feito por mim ao longo destes anos. Serei eternamente agradecida, não tem dinheiro no mundo que pague esta satisfação que existe dentro de mim.

À Prof^a. Dr^a. Iara B. Valentim por ter confiado em mim ao longo destes anos na execução dos trabalhos de pesquisa. Agradeço também pela sua co-orientação e por guiar meus passos no laboratório de pesquisa desde meu trabalho de conclusão de curso na graduação, também não sei como te agradecer por tudo que tens feito.

Enfim, quero agradecer também pelas exortações que vocês duas em alguns momentos da minha jornada fizeram a mim, quero dizer que reconheço que vocês sempre procuraram me direcionar ao caminho certo e é por meio destas exortações que eu também pude crescer e é por este motivo que estou realizando mais um sonho na minha vida. Quero deixar registrado aqui que os incentivos, os ensinamentos, o apoio, a amizade, a paciência, a compreensão e carinho de vocês foram fundamentais e me motivaram bastante na luta contra minhas dificuldades e falhas. Agradeço a vocês, pois venci o bom combate e todos os obstáculos caíram por terra e por isto cheguei até aqui com a ajuda de vocês.

Ao Prof. Dr. João Gomes pelas análises estatísticas, ao Dr. Cícero Alexandre Silva, ao técnico Aldy dos Santos e à Doutoranda Fabiana Santos que me auxiliaram bastante ao longo deste trabalho. Agradeço muito a todos vocês!!!

À CAPES pela bolsa de mestrado, à UFAL pela oportunidade de participar deste programa de pós-graduação nesta Universidade e por todos financiadores (CNPq, FAPEAL, CAPES e RENORBIO) deste projeto de pesquisa.

A todos os professores que fazem parte do PPGQB da UFAL e a todos os colegas e amigos do laboratório de Eletroquímica que me ajudaram direta e indiretamente, não quero citá-los para não cometer o erro de esquecer o nome de alguém. Mas, agradeço a todos que usaram seu tempo precioso para me ajudar tanto nas disciplinas como no laboratório, nos trabalhos, nos experimentos, nas discussões, enfim, agradeço a todos, sem exceção.

A minha família pelo tempo que deixamos de estar juntos, pelo apoio, palavras encorajadoras, força, pelo carinho e pela torcida de todos vocês.

Aos meus pais, pelo tempo que deixamos de estar juntos em família, pela compreensão, amor, força, carinho, apoio, ensinamentos, palavras encorajadoras, pelas preocupações, conselhos, incentivos, exortações, acima de tudo amizade e respeito. Agradeço também pela compreensão em não poder estar colaborando de frente com os nossos projetos sociais, que fazem parte da nossa missão, enfim, por tudo que vocês fizeram para eu poder chegar até aqui, agradeço a vocês eternamente, espero poder saber agradecer tudo que vocês fizeram, fazem e farão por mim. Amo vocês!!

A todos que cooperaram de alguma forma para a conclusão deste trabalho, em especial as que se lembraram de mim em suas orações, meu muito obrigado!!

“Não se glorie o sábio na sua sabedoria, nem se glorie o forte na sua força;
Não se glorie o rico nas suas riquezas, mas o que se gloriar glorie-se nisto:
em me entender e me conhecer, que eu sou o Senhor,
que faço misericórdia, juízo e justiça na terra;
porque destas coisas me agrado,
assim diz o Senhor.”

Jeremias 9.23-24.

RESUMO

É cada vez mais intensa a busca por alimentos que apresentem, além do valor nutritivo básico, aspectos funcionais, como os antioxidantes, que possam auxiliar na proteção e tratamento de doenças. O presente trabalho avaliou a capacidade antioxidante de farinhas alimentícias: gergelim (*Sesamum indicum*), linhaça (*Linum usitatissimum*), aveia (*Avena sativa*), trigo (*Triticum aestivum*), soja (*Glycine max*), milho (*Zea mays* *viçosence*), girassol (*Helianthus annuus*) e açafrão (*Curcuma longa*), visando sua utilização para fins funcionais, como nutracêuticos e/ou em indústrias alimentícias. Para isto, extratos metanólicos foram obtidos por meio de extração contínua em Soxhlet. Para a capacidade antioxidante, foram utilizados o método de Folin-Ciocalteu, para a determinação do conteúdo total de fenóis, a atividade sequestradora frente ao radical DPPH[•] e redutora frente aos íons de ferro (FRAP) e íons de cobre (CUPRAC). O poder de inibição da peroxidação lipídica *in vitro* foi também avaliado. Foram realizados estudos de correlação entre os métodos de Folin-Ciocalteu *versus* capacidade antioxidante frente ao radical DPPH[•], FRAP e CUPRAC, em forma binária. Na sequência, todos os resultados de cada método foram normalizados e por fim foi feito estudo de correlação de Pearson para todos os métodos. De acordo com os resultados encontrados para o conteúdo total de fenóis observou-se que o maior conteúdo foi encontrado no extrato da farinha de açafrão (119 ± 3 mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/ g de extrato seco). O extrato da farinha de girassol apresentou o maior potencial sequestrador frente ao radical DPPH[•] (44%), para um tempo de 30 min e os dados foram confirmados pelo menor valor de IC₅₀ ($21 \mu\text{g mL}^{-1}$). Os extratos das farinhas de girassol e de açafrão se destacaram, novamente, frente a FRAP e CUPRAC, com destaque para a farinha de girassol (FRAP = $1242 \pm 34 \mu\text{mol}$ de equivalentes de trolox (ET)/ g de extrato seco) e para a farinha de açafrão (CUPRAC = $1738 \pm 51 \mu\text{mol ET/ g}$ de extrato seco). Para os resultados de peroxidação lipídica, os extratos de açafrão e girassol foram os que forneceram os melhores resultados (68 a 70%) de proteção à membrana em 30 min de reação. De acordo com os resultados do estudo de comparação entre todos os métodos, observou-se que o extrato da farinha de girassol foi o que obteve o melhor e mais significativo resultado. Por meio da análise de correlação de Pearson, observou-se que houve correlação positiva ($p < 0,01$), com magnitudes forte e fortíssima, entre todos os métodos estudados, sugerindo que todos os ensaios são recomendáveis para avaliar a capacidade antioxidante das farinhas estudadas. Em resumo, evidenciou-se que as farinhas de girassol e açafrão mostraram alto conteúdo em antioxidantes, sendo, portanto, fontes relevantes de nutracêuticos, podendo, ainda, ser aplicadas como preservativos em formulações de alimentos.

Palavras-Chaves: Capacidade antioxidante, peroxidação lipídica, farinhas alimentícias, açafrão, girassol.

ABSTRACT

The search for food, which presents, besides the nutritional value, functional characteristics, like antioxidant capacity, auxiliary in the protection and treatment of diseases, is each time, more intense. The present work had evaluated the antioxidant capacity of alimentious flours: sesame (*Sesamum indicum*), sunflower (*Helianthus annuus*), linseed (*Linum usitatissimum*), oatmeal (*Avena sativa*), wheat (*Triticum aestivum*), soybean (*Glycine max*), corn (*Zea mays viçose*) and saffron (*Curcuma longa*), aiming their possible utilization as nutraceuticals and/or in the food industry. Methanolic extracts were obtained by continuous extraction through Soxhlet. For obtaining the antioxidant capacity, several assays were used: Folin-Ciocalteu, for the determination of the total phenol content (TPC), the radical DPPH[•] sequestrating activity (RSA), and reducing ability towards iron ions (FRAP) and copper ions (CUPRAC). The *in vitro* lipid peroxidation inhibition was also evaluated. Correlation studies among Folin-Ciocalteu *versus* DPPH[•] RSA, FRAP and CUPRAC, two by two were performed. In a sequence, all the results were normalized and Pearson correlation toward all methods was obtained. The higher TPC was found in saffron flour extract (119 ± 3 mg of gallic acid equivalents (GAE)/ g of dry extract), The sunflower flour extract presented the higher DPPH[•] RSA (44%), for 30 min and data were confirmed by the lower value of IC₅₀ ($21 \mu\text{g mL}^{-1}$). The extracts from sunflower and saffron had a higher performance toward FRAP and CUPRAC, with emphasis on sunflower flour (FRAP = 1242 ± 34 μmol of trolox equivalents (TE)/ g of dry extract) and for saffron flour extract (CUPRAC = 1738 ± 51 μmol TE/ g of dry extract). Toward the inhibition of lipid peroxidation, the flour extracts of sunflower and saffron (68 a 70%) had, again, the best performance, in 30 min of reaction. The all methods-comparison analysis had shown the sunflower flour extract as the best-performance one. The Pearson correlation among all methods had indicated positive correlation ($p < 0,01$), with strong and very strong magnitudes, suggesting that all assays were recommended for evaluating the antioxidant capacity. As a summary, sunflower and saffron flours had been shown to possess a high content of antioxidants, offering an alternative source of nutraceuticals as well as preservatives in food formulations.

Key-words: Antioxidant capacity, lipidic peroxidation, nutritional flours, saffron, sunflower.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cadeia transportadora de elétrons.	19
Figura 2 - Formação das EROs e sua relação com os sistemas biológicos.	22
Figura 3 - Fontes e respostas celulares às EROs, nitrogênio, derivados de enxofre, ERCl, de carbono e metais de transição [M ⁽ⁿ⁺⁾]. Os sistemas de defesa antioxidante enzimático e não enzimático, quando eficientes, mantêm a homeostase fisiológica e quando estão ineficientes, permitem a instalação do estresse oxidativo, representado pelo dano celular em macromoléculas como o DNA, proteínas e lipídios, que se expressam clinicamente como envelhecimento ou doença.	24
Figura 4 - Respostas celulares a diferentes graus de estresse oxidativo.	25
Figura 5 - Participação do estresse oxidativo na proliferação e morte celular.	26
Figura 6 - Classificação dos antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos.	30
Figura 7 - Rota experimental simplificada utilizada neste trabalho.	40
Figura 8 - Açafrão <i>in natura</i>	42
Figura 9 - Amostras <i>in natura</i> antes do processo de moagem.	42
Figura 10 - Amostras após processo de moagem.	43
Figura 11 - Aparelho de Soxhlet usado antes e durante o processo de extração da amostra (açafrão).	46
Figura 12 - Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu.	48
Figura 13 - Curva de calibração de Folin-Ciocalteu, medida em absorvância a $\lambda = 760$ nm.	49
Figura 14 - Reação química entre o BHT e o radical DPPH [•]	50
Figura 15 - Curva de calibração do DPPH [•] , medida em absorvância a $\lambda = 516$ nm.	52
Figura 16 - Redução do complexo TPTZ com Fe ³⁺	53
Figura 17 - Curva de calibração do FRAP, medida em absorvância a $\lambda = 595$ nm.	54
Figura 18 - Redução do Cu (II) para Cu (I).	54
Figura 19 - Curva de calibração do CUPRAC, medida em absorvância a $\lambda = 450$ nm.	56

Figura 20 - Sonda fluorescente C11- Bodipy ancorada a um lipossoma.....	56
Figura 21 - Reação do gerador de radicais AAPH durante o método de peroxidação.	58
Figura 22 - Porcentagem da capacidade antioxidante obtido pelo método de DPPH [•] dos extratos metanólicos das farinhas de gergelim, açafão, linhaça, aveia, trigo, milho, girassol e soja.....	69
Figura 23 - Valores de IC ₅₀ para os extratos metanólicos de milho, soja, gergelim, trigo, aveia e linhaça (A) e de girassol e açafão (B).....	72
Figura 24 - Correlação entre conteúdo total de fenóis (Folin-Ciocalteu) expressos em EAG/ g extrato seco <i>versus</i> a atividade antioxidante (%) frente ao radical DPPH [•] para os extratos de gergelim, milho, açafão, trigo, aveia, linhaça, soja e girassol, nas concentrações de 15 mg L ⁻¹ (R ² = 0,85).....	74
Figura 25 - Correlação entre conteúdo total de fenóis (Folin-Ciocalteu) expressos em μmol ET/ g extrato seco <i>versus</i> capacidade redutora (%) frente aos íons de ferro para os extratos de gergelim, milho, açafão, trigo, aveia, linhaça, soja e girassol, nas concentrações de 15 mg L ⁻¹ (R ² = 0,89).....	80
Figura 26 - Correlação entre conteúdo total de fenóis (Folin-Ciocalteu) expressos em μmol ET/g extrato seco <i>versus</i> capacidade redutora (%) frente aos íons de cobre para os extratos de gergelim, milho, açafão, trigo, aveia, linhaça, soja e girassol, nas concentrações de 15 mg L ⁻¹ (R ² = 0,96).....	84
Figura 27 - Proteção contra a peroxidação lipídica provenientes de extratos metanólicos de gergelim, açafão, soja, milho, linhaça, girassol, trigo e aveia (10 mg/L), controle positivo (trolox) e controle negativo (tampão fosfato e metanol). Lipossoma mais C ₁₁ -BODIPY ^{581/591} foram adicionadas em todos os experimentos.	85
Figura 28 - Atividades normalizadas dos extratos, em relação a cada teste antioxidante. A atividade mais elevada foi considerada de 100%, e os outros valores correspondem a uma percentagem relativa de atividade. Dentro de cada coluna, as médias indicadas com a mesma letra não são significativamente diferentes para este teste (p < 0,05).....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Seleção de doenças geradas por meio do estresse oxidativo.....	27
Tabela 2 - Alguns dos compostos fenólicos encontrados em linhaça, açafão, gergelim, soja, aveia, trigo e girassol.	34
Tabela 3 - Reagentes e solventes e suas devidas marcas usado em experimentos.....	38
Tabela 4 - Equipamentos utilizados durante os experimentos.....	39
Tabela 5 - Características importantes para amostras no presente trabalho.	41
Tabela 6 - Informações importantes sobre amostras escolhidas.	43
Tabela 7 - Rendimento (%) e tempo de extração dos extratos metanólicos de açafão, gergelim, girassol, linhaça, soja, milho, trigo, aveia, em relação à massa original da amostra.	47
Tabela 8 - Conteúdo total de fenóis (CTF) obtido pelo método Folin-Ciocalteu dos extratos metanólicos das farinhas de gergelim, açafão, linhaça, aveia, trigo, milho, girassol e soja.	61
Tabela 9 - Conteúdo total de fenóis em amostras semelhantes às estudadas no presente trabalho, utilizando ácido gálico como padrão.....	62
Tabela 10 - Resultados do conteúdo total de fenóis, utilizando o método de Folin-Ciocalteu para estudos realizados em cascas, sementes, polpas, frutas, resíduos de frutas e fibras de coco registrados na literatura.....	67
Tabela 11 - RSA (%) de amostras semelhantes às estudadas no presente trabalho.	70
Tabela 12 - RSA (%) de cascas, sementes, polpas de frutas, fibras de coco.....	71
Tabela 13 - Resultados para os extratos metanólicos de girassol, açafão, linhaça, aveia, gergelim, milho, trigo e soja obtidos pelo método de FRAP.	75
Tabela 14 - Poder redutor frente aos íons de ferro para amostras semelhantes às do presente trabalho.....	76
Tabela 15 - Poder redutor frente aos íons de ferro para amostras semelhantes às do presente trabalho usando padrões diferentes.	77
Tabela 16 - Capacidade redutora frente aos íons de ferro encontradas na literatura para amostras como: cascas, sementes e polpas de frutas, especiarias, frutas e fibras de coco.....	79

Tabela 17 - Resultados para os extratos metanólicos de girassol, açafão, linhaça, aveia, gergelim, milho, trigo e soja obtidos por CUPRAC.	82
Tabela 18 - Coeficientes de correlações de Pearson entre os métodos.	88

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$^1\text{O}_2$	Oxigênio singleto
AAPH/ ABAP	2,2'-azobis (2-metilpropionamida) di-hidroclorato
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Trisfato de adenosina
AVC	Acidente Vascular Cerebral
BHA	Butil-hidroxianisol
BHT	Butil-hidroxitolueno
CAT	Catalase
CECA	Centro de Ciências Agrárias
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CTF	Conteúdo Total de Fenóis
CUPRAC	Capacidade antioxidante por meio da Redução do Cobre
DNA	Ácido dexorribonucléico
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
EAG	Equivalente de Ácido Gálico
EC₅₀	Concentração Eficiente em 50%
EDTA	Ácido etilenodiaminotetra-acético
ERC	Espécies Reativas de Carbono
ERCI	Espécies Reativas de Cloro
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
ERN	Espécies Reativas de Nitrogênio
ERS	Espécies Reativas de Enxofre
ET	Equivalente de Trolox
FRAP	Capacidade antioxidante por meio da Redução do Ferro
GPx	Glutathione peroxidase
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HOO[•]	Radical hidroperóxido
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC₅₀	Concentração de Inibição em 50%
IQB	Instituto de Química e Biotecnologia

NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotideo Fosfato Oxidases
NPT	Núcleo de Pesquisas Tecnológicas
O₂^{•-}	Radical ânion superóxido
O₂	Oxigênio
OH[•]	Radical Hidroxila
ONOO⁻	Íon peroxinitrito
PG	Galato de Propila
POF	Pesquisa de Orçamento Familiar
r	Coeficiente de correlação
R[•]	Espécie Radicalar
R²	Coeficiente de determinação
RL	Radical Livre
RNA	Ácido ribonucleico
RSA	Atividade Sequestradora de Radical
SAEG	“System for Statistical Analysis” Sistema para Análise Estatística
SMGP	Melhoramento Genético de Plantas
SOD	Superóxido dismutase
Bodipy - C11^{581/591}	4,4-difluoro-5-(4-fenil-1,3-butadienil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno-3-undecanóico ácido
TBHQ	<i>tert</i> -butil-hidroquinona
TPTZ	2,4,6-tris(2-piridil)-5-triazina
TROLOX	Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico
UFAL	Universidade Federal de Alagoas
UV	Ultravioleta
UV-VIS	Ultravioleta-Visível
VC	Voltametria Cíclica
VPD	Voltametria de Pulso Diferencial

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	Considerações Gerais	17
1.2	Espécies Reativas de Oxigênio	18
1.3	Estresse Oxidativo	23
1.4	Antioxidantes	28
1.5	Antioxidantes em Alimentos	31
2	OBJETIVOS	37
2.1	Objetivos Geral	37
2.2	Objetivos Específicos	37
3	EXPERIMENTAL	38
3.1	Reagentes, Solventes e Equipamentos	38
3.2	Obtenção e elaboração das farinhas	40
3.3	Obtenção dos extratos metanólicos	46
3.4	Determinação do conteúdo total de fenóis utilizando o método de Folin-Ciocalteu	47
3.4.1	Curva de calibração para o método de Folin-Ciocalteu	49
3.5	Capacidade antioxidante frente ao radical DPPH[•]	50
3.5.1	Curva de calibração para o DPPH [•]	51
3.6	Capacidade antioxidante por meio da redução de ferro (FRAP)	52
3.6.1	Curva de calibração para o método de FRAP	53
3.7	Capacidade antioxidante por meio da redução de cobre (CUPRAC)	54
3.7.1	Curva de calibração para o método de CUPRAC	55
3.8	Avaliação das amostras como inibidora da peroxidação lípidica	56
3.8.1	Preparo do lipossomo com a sonda fluorescente.....	57
3.8.2	Monitoramento da lipoperoxidação.....	57
3.9	Análise estatística	58

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
4.1	Conteúdo total de fenóis utilizando o método de Folin-Ciocalteu	60
4.2	Capacidade antioxidante frente ao radical DPPH[•]	68
4.3	Correlação entre conteúdo total de fenóis (Folin-Ciocalteu) expressos em EAG/g extrato seco versus a atividade antioxidante (%) frente ao radical DPPH[•]	73
4.4	Capacidade antioxidante por meio da redução de ferro (FRAP)	75
4.5	Capacidade antioxidante por meio da redução de cobre (CUPRAC)	81
4.6	Avaliação das amostras como inibidora da peroxidação lipídica	84
4.7	Comparação entre os métodos de FOLIN, DPPH[•], FRAP e CUPRAC	86
4.8	Considerações finais	88
	CONCLUSÃO	90
5	Perspectivas	91
	REFERÊNCIAS	92

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Gerais

A geração de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) constitui, por excelência, um processo contínuo e fisiológico, cumprindo funções biológicas relevantes (BARBOSA et al., 2010). Durante os processos metabólicos, essas espécies atuam como mediadores para a transferência de elétrons em várias reações bioquímicas (BARBOSA et al., 2010). Sua produção, em proporções adequadas, possibilita a geração de trifosfato de adenosina (ATP), por meio da cadeia transportadora de elétrons, a participação em mecanismos de defesa durante o processo de infecção, dentre outros, porém, a produção excessiva pode conduzir a danos oxidativos em moléculas essenciais para o funcionamento dos organismos (BARBOSA et al., 2010; SHAMI; MOREIRA, 2004). O aumento excessivo destas espécies pode gerar o estresse oxidativo.

A dieta é, sem dúvida, um fator de grande importância na modulação do estresse oxidativo (BARBOSA et al., 2010). Moraes e Colla (2006) afirmaram que as lesões causadas pelas EROs nas células podem ser prevenidas ou reduzidas por meio de antioxidantes. Os antioxidantes são encontrados em muitos alimentos e podem agir diretamente na neutralização da ação destas espécies ou participar indiretamente de sistemas enzimáticos com essa função (MORAES; COLLA, 2006).

Vários estudos têm evidenciado o potencial antioxidante de uma larga variedade de vegetais e alimentos como grãos de cereais (aveia e soja), oleaginosas (linhaça) e cascas de frutas, além das farinhas integrais ou farelo de trigo e de arroz integral, os quais mostraram resultados positivos na prevenção de doenças crônico-degenerativas (MAZZA, 1998; OLIVEIRA et al., 2009).

Segundo a Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) (2008-2009), as famílias brasileiras vêm se alimentando de maneira inadequada, devido ao baixo consumo de frutas e hortaliças e alto consumo de farinhas não integrais. Essas farinhas não integrais poderiam ser substituídas por alimentos mais benéficos à saúde da população, e de fato, muitas farinhas, que já são conhecidas no mercado, poderiam ser mais estudadas e indicadas para a população, proporcionando benefícios por conter compostos bioativos que agem em prol da saúde.

Sendo assim, o presente trabalho visa analisar farinhas alimentícias com potencial efeito antioxidante, que ofereçam propriedades benéficas, além do aporte energético, de forma

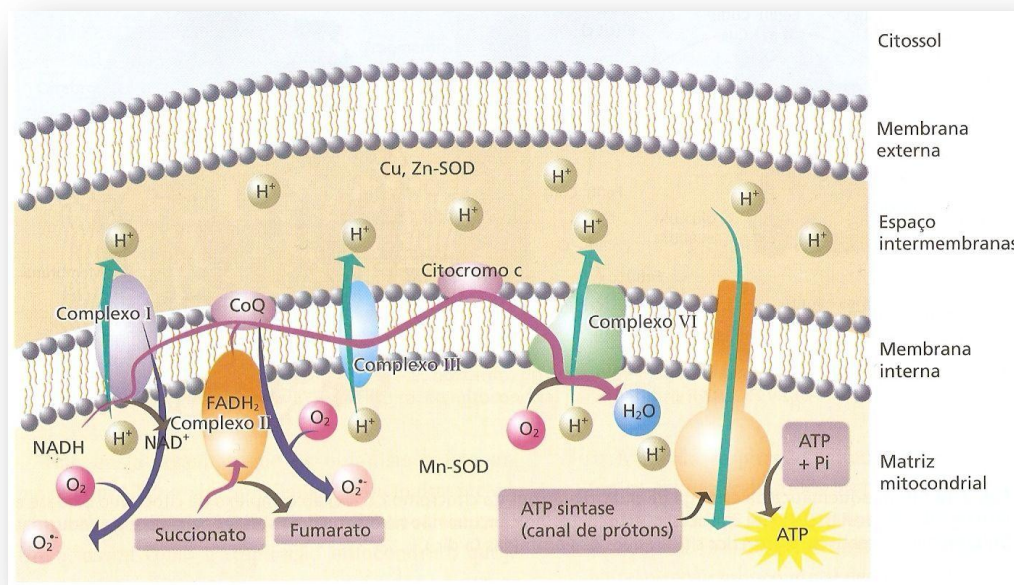
que possam ser substitutas das farinhas atualmente consumidas pela grande maioria dos brasileiros.

1.2 Espécies Reativas de Oxigênio (EROs)

Atualmente, sabe-se que os mecanismos de geração de EROs ocorrem normalmente nas mitocôndrias, membranas celulares e no citoplasma, sendo que a mitocôndria, por meio da cadeia transportadora de elétrons, é a principal fonte geradora destas espécies (Figura 1) (BARBOSA et al., 2010; GREEN et al., 2004). Algumas das EROs têm natureza radicalar, outras são agentes oxidantes não radicalares, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (TREVISAN, 2008). Radicais são espécies que possuem um ou mais elétrons desemparelhados, ou seja, elétron isolado em um orbital atômico ou molecular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Entretanto, as espécies reativas que ganham maior destaque, devido à reatividade e aos danos que podem causar no organismo, são as de oxigênio, outras espécies reativas causam danos, porém menores como as de: carbono, enxofre e nitrogênio (VASCONCELOS et al., 2007).

A geração natural de EROs no organismo humano, seja por alguma disfunção biológica ou não, é uma condição fisiológica agregada à vida aeróbia (RIBEIRO et al., 2005). Em condições fisiológicas, os organismos aeróbios metabolizam 85 a 90% do oxigênio (O_2) consumido na mitocôndria, por meio da cadeia transportadora de elétrons (figura 1) (BARBOSA et al., 2010). Os 10 a 15% do O_2 são utilizados por diversas enzimas oxidases e oxigenases e, ainda, por reações químicas na redução do O_2 à água (H_2O) (BARBOSA et al., 2010), figura 1. No entanto, cerca de 2 a 5% do O_2 metabolizado nas mitocôndrias são desviados para outra via metabólica, e reduzidos de forma univalente, dando origem ao radical ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e em cascata, às EROs (KOURY; DONANGELO, 2003).

Figura 1 - Cadeia transportadora de elétrons.



Fonte: Disponível em <http://biologia.org.br/cadeia-transportadora-de-eletrons/>

Essas substâncias tóxicas são geradas durante a cadeia de transporte de elétrons nas mitocôndrias, reações enzimáticas, reações de auto-oxidação, ou ainda, pelo grupo heme de proteínas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). EROs como: radical ânion superóxido $O_2^{\bullet-}$, radical hidroxila (OH^{\bullet}) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), são gerados mediante reações específicas, catalisadas por enzimas e com a participação de íons de ferro e de cobre (BARBOSA et al., 2010) (equações 1-6).

A maior fonte de energia para os organismos aeróbicos está na terceira etapa da respiração, que ocorre no interior da mitocôndria, onde uma molécula de O_2 é reduzida a duas moléculas de H_2O , com consumo de 4 elétrons (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006) (Equação 7).



A geração do radical $O_2^{\bullet-}$ se dá pela adição de 1 elétron a uma molécula de O_2 no estado fundamental (BARBOSA et al., 2010) (Equação 2).



O radical $O_2^{\cdot-}$, primeira das espécies formadas ao contrário da maioria dos radicais livres, é menos ativo. Em meio aquoso, sua reação principal é a dismutação, na qual se produz uma molécula de H_2O_2 e uma molécula de O_2 (equação 3), através da enzima superóxido dismutase (SOD) (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006) (Equação 3).



Já o H_2O_2 , formado na reação de dismutação, reage com íons de ferro (Fe^{2+}) ou cobre (Cu^+) por meio da reação de Fenton (equação 4), gerando o radical OH^{\cdot} (BARBOSA et al., 2010).



Na reação de Haber-Weiss (equação 5), os íons de ferro (Fe^{2+}) como os de cobre (Cu^+) podem, também, catalisar a reação gerando, da mesma forma, o radical OH^{\cdot} (BARBOSA et al., 2010).



Outras espécies reativas, como por exemplo, o óxido nítrico (NO^{\cdot}), desempenha importantes funções no organismo humano (GREEN et al., 2004 e RIBEIRO et al., 2005). Este radical também pode reagir com as EROs, principalmente radical $O_2^{\cdot-}$, gerando peroxinitrito ($ONOO^-$) (equação 6), potencialmente reativo, e outros produtos, que são muito tóxicos por causar nitração de proteínas e induzir à peroxidação lipídica (GIASSON et al., 2002).



Dentre as Espécies Reativas de Nitrogênio (ERN), além das espécies NO^{\cdot} e $ONOO^-$ incluem-se: o óxido nitroso (N_2O_3), ácido nitroso (HNO_2), nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-).

Alguns deles podem ser altamente reativos no organismo atacando lipídios, proteínas e ácido desoxirribonucleico (DNA), outros são reativos apenas com os lipídios (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Existem ainda alguns que são pouco reativos, mas apesar disso podem gerar espécies danosas (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

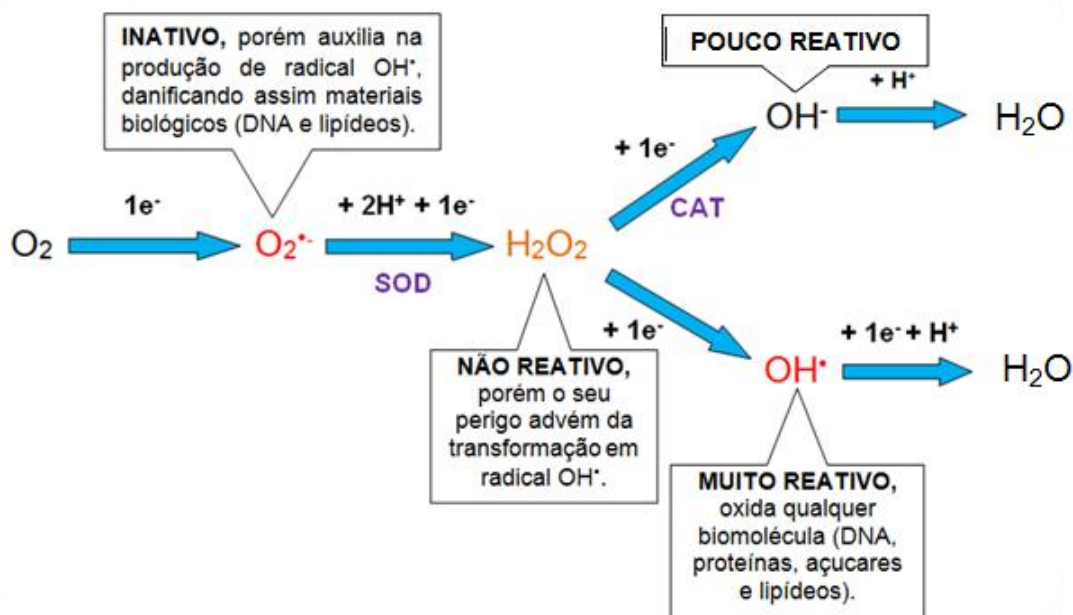
Já o radical $O_2^{\cdot-}$ é uma base fraca cujo ácido conjugado, o radical hidroperóxido ($HOO\cdot$), é mais reativo (equação 7), ele também reage com o radical $HO\cdot$ produzindo oxigênio singlete (1O_2) (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006) (Equação 8).



Apesar do radical $O_2^{\cdot-}$ ser inativo, ele acaba gerando produtos que auxiliam na produção de radical $OH\cdot$ (equações 3-5), porém, apesar dos efeitos danosos, ele tem importância vital para as células de defesa e sem ele o organismo encontra-se desprotegido contra infecções causadas por vírus, bactérias e fungos (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). O radical $O_2^{\cdot-}$ formado é um bactericida fraco, capaz de inativar proteínas ferro-sulfurosas das bactérias, porém gera alguns produtos que possuem forte atividade antimicrobiana, tais como ácido hipocloroso ($HOCl$), H_2O_2 e $ONOO^-$ que são os principais responsáveis pelo combate a corpos estranhos (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Já em relação ao potencial de reatividade das ERO no meio biológico, o radical $OH\cdot$ é o mais reativo e em teoria, pode oxidar qualquer molécula biológica (RIBEIRO et al., 2005) (Figura 2).

Figura 2 - Formação das EROs e sua relação com os sistemas biológicos.



Fonte: Adaptado de Pires, 2008.

Já o H_2O_2 é mais estável que o radical OH^{\bullet} (HANCOCK et al., 2001), porém, é uma espécie com alto potencial reativo (BARBOSA et al., 2010) e segundo Babior (2000) quando esta espécie não é eliminada do organismo pelas enzimas peroxidases e catalase (CAT), pode gerar radicais OH^{\bullet} (Figura 2). O H_2O_2 tem vida longa e é capaz de atravessar as membranas celulares apresentando-se potencialmente tóxico para as células (BARBOSA et al., 2010). Esta propriedade possibilita a ocorrência de reações com alvos biológicos em compartimentos distantes do seu local de formação e, além disto, a toxicidade pode ser aumentada em 10000 x em presença de íons ferro (HANCOCK et al., 2001).

Outras importantes fontes geradoras de EROs são as enzimas Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Oxidases (NADPH oxidases), proteínas transmembrânicas que têm, por excelência, a função de transferir os elétrons através das membranas celulares (BARBOSA et al., 2010). Geralmente, o aceptor de elétrons é o O_2 e, dessa forma, em decorrência desse processo, gera-se o radical ânion $\text{O}_2^{\bullet -}$ (BARBOSA et al., 2010).

Enfim, pode-se dizer que as principais ERO distribuem-se em dois grupos, os radiculares: HO^{\bullet} , $\text{O}_2^{\bullet -}$, peroxila (ROO^{\bullet}) e alcóxila (RO^{\bullet}); e os não-radicalares: O_2 , H_2O_2 e HOCl .

Além da produção endógena de EROs, já comentada, as espécies reativas também podem ser formadas a partir de fontes exógenas (CAROCHO; FERREIRA, 2013), como:

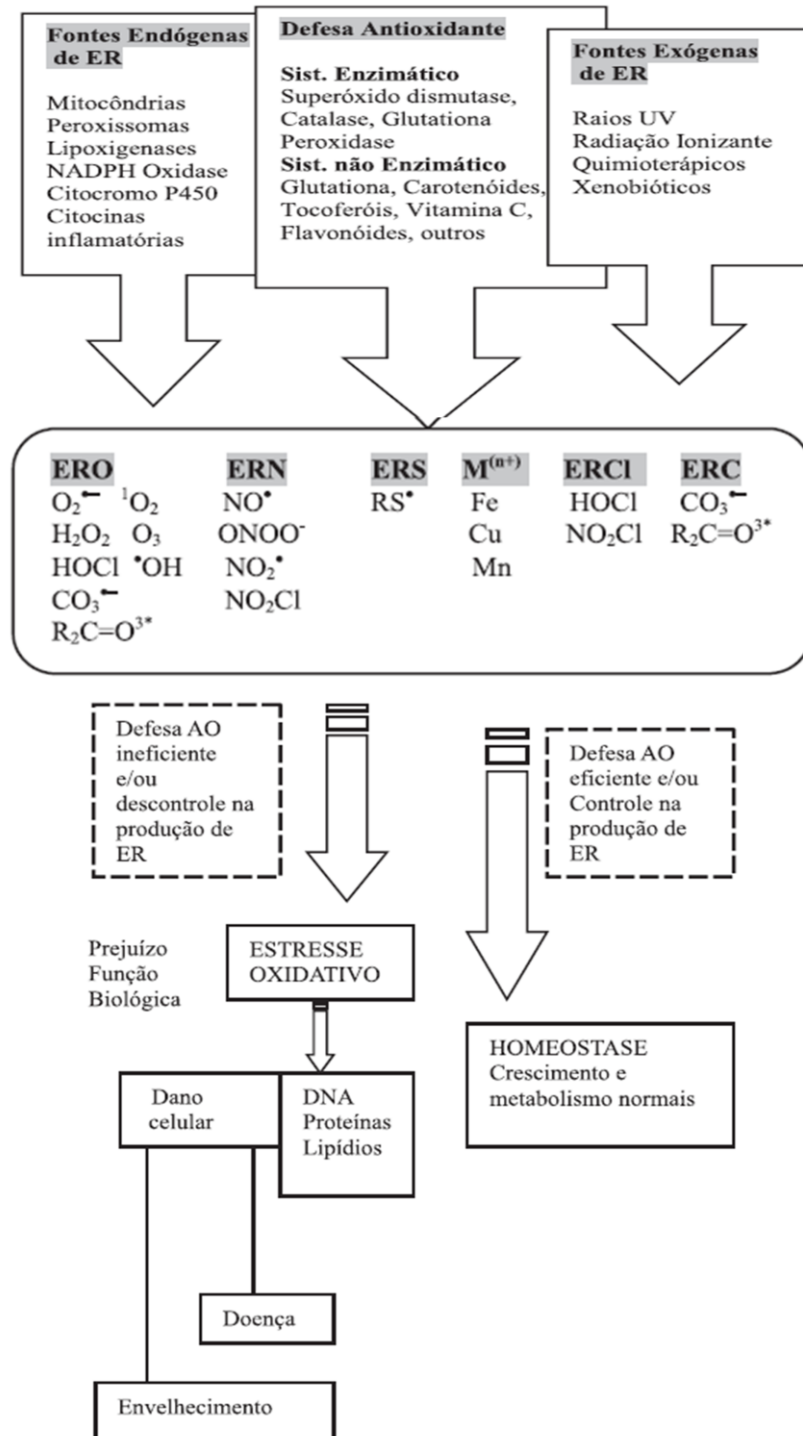
radiações UV, raios-X, raios gama e microondas, interação com produtos químicos, escapamentos de automóveis, fumaça, fumaça de cigarros, charutos, poluentes ambientais, queima de matéria orgânica durante o cozimento, incêndios, atividades vulcânicas, efluentes industriais, produtos químicos em excesso, solventes industriais, ingestão de bebidas alcoólicas, drogas, certos pesticidas e herbicidas, alguns íons metálicos, toxinas fúngicas e xenobióticos (ALI et al., 1996; NAGENDRAPPA, 2005; CADENAS, 1989; VALKO et al., 2006).

Uma má alimentação, a falta de exercícios físicos ou exercícios feitos de forma extrema, temperaturas elevadas, estados psicológicos que provoquem estresse emocional, envelhecimento, entre outros, também estão associados ao estresse oxidativo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

1.3 Estresse Oxidativo

A produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERONs), entre outras, é parte integrante do metabolismo humano e é observada em diversas condições fisiológicas (VASCONCELOS et al., 2007). O balanço entre ambos os efeitos destas espécies é obtido por mecanismos de “regulação redox”, responsáveis pela proteção dos seres vivos do estresse oxidativo e manutenção do “equilíbrio redox”, permitindo o funcionamento celular normal, uma condição denominada homeostase (PIRES, 2008). Esta produção resultante do metabolismo celular é mantida por sistemas que envolvem: mecanismos de prevenção, de reparação, defesas físicas e defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas, porém, um desequilíbrio entre a produção de EROs e a capacidade da defesa antioxidante em eliminar e/ou neutralizar os intermediários reativos produzidos pelo nosso próprio corpo gera o estresse oxidativo ou o desequilíbrio redox (PIRES, 2008; ROSENFELDT et al., 2013; RAHMAN, BISWAS; KODE, 2006). Sendo assim pode-se dizer, segundo Finkel e Holbrook (2000) e Schafer e Buettner (2001) que o estresse oxidativo resulta do desequilíbrio entre o sistema pró e antioxidante, com predomínio dos oxidantes, com dano conseqüente (Figura 3).

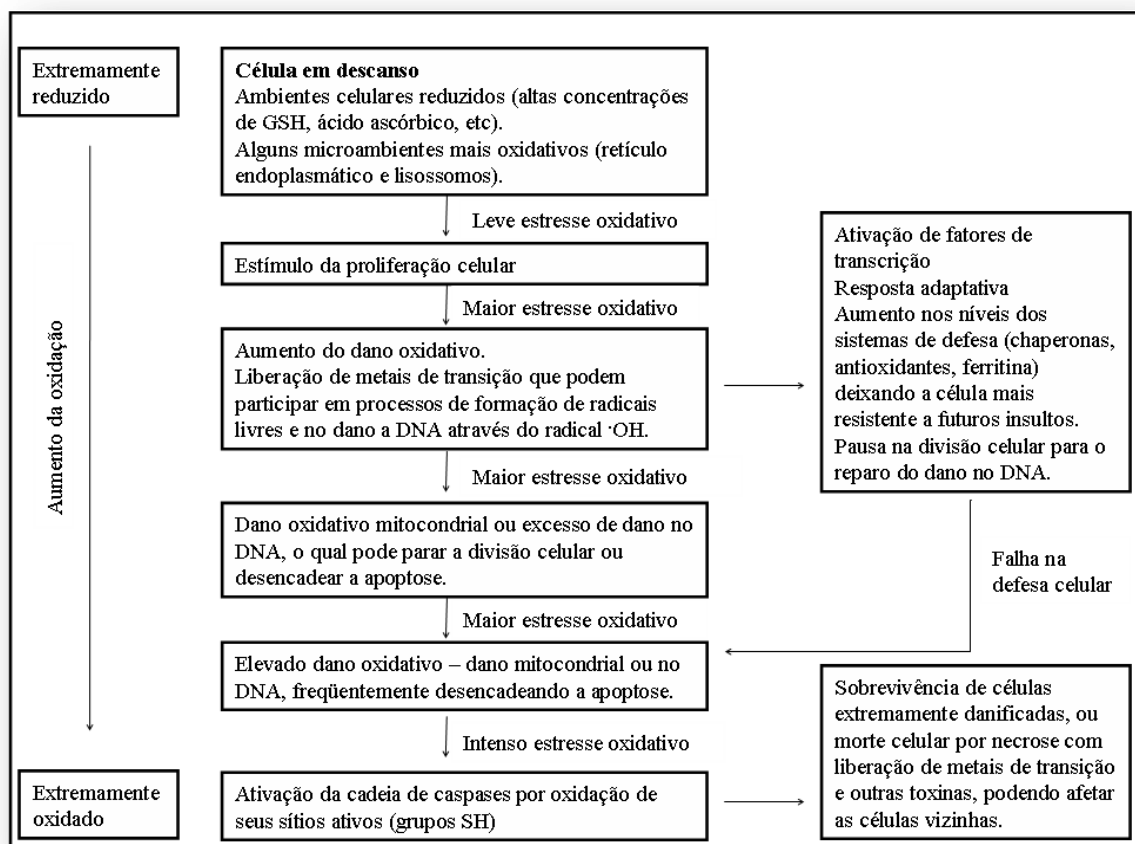
Figura 3 - Fontes e respostas celulares às EROs, nitrogênio, derivados de enxofre, ERCl, de carbono e metais de transição [M⁽ⁿ⁺⁾]. Os sistemas de defesa antioxidante enzimático e não enzimático, quando eficientes, mantêm a homeostase fisiológica e quando estão ineficientes, permitem a instalação do estresse oxidativo, representado pelo dano celular em macromoléculas como o DNA, proteínas e lipídios, que se expressam clinicamente como envelhecimento ou doenças.



Fonte: Adaptado da Finkel; Holbrook, 2000 (VASCONCELOS et al., 2007).

O estado de equilíbrio em favor dos pró-oxidantes é proveniente do excesso das EROs em nosso organismo, provocando assim danos celulares variados como: lesões a biomoléculas (peroxidação dos lipídios de membrana e agressão às proteínas dos tecidos e das membranas, a enzimas, carboidratos e DNA), acarretando a inativação enzimática, mutação, ruptura de membrana e morte celular (Figura 4) (HUSAIN et al., 1987; BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; TREVISAN, 2008; PIRES, 2008).

Figura 4 - Respostas celulares a diferentes graus de estresse oxidativo.

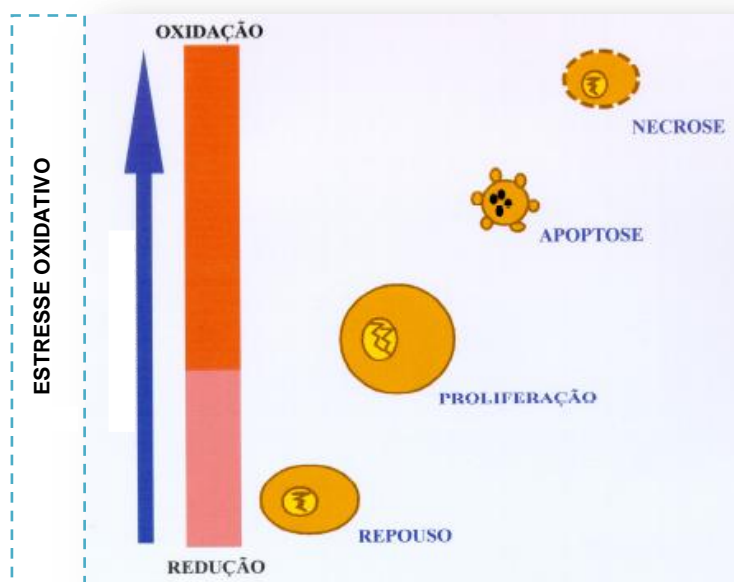


Fonte: Adaptado de Halliwell; Gutteridge, 2007.

Em baixas concentrações, as EROs funcionam como mediadores de sinalização redox em mecanismos de ajustes celulares (RIBEIRO et al., 2005; RIBEIRO, 2000). Já, em concentrações elevadas, as EROs provocam danos celulares, ao atacar membranas, proteínas, polissacarídeos, lipídios e ácidos nucleicos com consequente alteração funcional e prejuízo nas funções vitais em diversos tecidos, adiposo, vascular e cerebral, e órgãos, como músculo e fígado, ocasionando eventualmente algumas doenças (ROSENFELDT et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009a; VASCONCELOS et al., 2007; FINKEL;

HOLBROOK, 2000; MULLER et al., 2007; RIBEIRO et al., 2005; NERI et al., 2005; NIKI et al., 2005; THOMAS; BALASUBRAMANIAN, 2004; HANSEN; JONES, 2006; AZZI, 2007). Além disto, as concentrações elevadas acabam ativando vias de sinalização específicas, conduzindo à parada do ciclo celular e à morte celular por apoptose (figura 5), processo de morte celular programada, resultado da ativação de um programa genético de suicídio celular, dependente de ATP, e/ou necrose (figura 5), tipo de morte celular muito mais violenta, que ocorre quando a célula é exposta a um estado de estresse extremo, onde a membrana plasmática é destruída e o conteúdo citoplasmático extravasa para o exterior e apenas o núcleo mantém a sua integridade (ROSENFELDT et al., 2013; PIRES, 2008; RIBEIRO, 2000).

Figura 5 - Participação do estresse oxidativo na proliferação e morte celular.



Fonte: Ribeiro, 2000.

Quanto mais intenso o estresse oxidativo, mais grave é o dano celular resultante (ROSENFELDT et al., 2013). Um dos mais graves é aquele causado ao DNA e ácido ribonucleico (RNA). Se a cadeia do DNA quebrar, ela pode ser reconectada em outra posição alterando, assim, a ordem de suas bases, passando a ser um dos processos básicos da mutação (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Além disto, as EROs e ERNs podem atacar macromoléculas, como as do DNA, dando origem a cadeias simples e quebras das fitas duplas que podem, eventualmente, causar o envelhecimento celular, doenças cardiovasculares, alterações mutagênicas e o crescimento de tumores cancerosos (OZYUREK et al., 2011). As

Dissertação de Mestrado

enzimas também podem ter seus aminoácidos alterados, perdendo assim sua atividade ou, ainda, podendo assumir atividade diferente, como: a oxidação de lipídios na membrana celular, gerando a ruptura dessa levando a oxidação de lipídios e à morte celular e, agredindo assim as paredes das artérias e veias, facilitando o acúmulo desses lipídios, gerando consequente aterosclerose, podendo causar trombose, infarto ou acidente vascular cerebral (AVC) (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Diversos estudos (VASCONCELOS et al., 2006, GUTTERIDGE, 1993; PAGANO et al., 1998; PIRES, 2008) afirmam que há fortes evidências de que o estresse oxidativo tem importância fundamental nos processos de envelhecimento, transformação e morte celular, com consequências diretas em muitos processos patológicos, entre eles, a indução do câncer e a propagação da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) em pacientes soropositivos (HIV⁺), bem como na fisiopatologia de muitas doenças crônicas, entre elas, doenças auto-imunes, cardiopatias, câncer, doenças do pulmão, intoxicação por xenobióticos e muitas outras (Tabela 1).

Tabela 1 – Seleção de doenças geradas por meio do estresse oxidativo.

Doenças provenientes do estresse oxidativo	Referências
Aterosclerose	Rufino et al. (2006), Green et al. (2004), Pires (2008), Karadag et al. (2009), Valko et al. (2007), Frankel (1996), Barreiros, David e David (2006), Temple (2000) e Vasconcelos et al. (2007).
Mal de Alzheimer	Vasconcelos et al. (2007), Halliwell e Gutteridge (2007), Ribeiro et al. (2005) e Giasson et al. (2002).
Distúrbios neurodegenerativos	Ribeiro et al. (2005), Karadag et al. (2009), Green et al. (2004), Valko et al. (2007) e Frankel (1996).
Mal de Parkinson	Ribeiro et al. (2005) e Vasconcelos et al. (2007).
Câncer	Temple (2000), Rufino et al. (2006), Green et al. (2004), Halliwell e Gutteridge (2007), Ribeiro et al. (2005), Karadag et al (2009), Valko et al. (2007), Frankel (1996), Melo et al. (2011), Halliwell (2007), Abdille et al. (2005) e Pires (2008).

Síndrome de Down	Vasconcelos et al. (2007) e Ribeiro et al. (2005).
Diabetes	Vasconcelos et al. (2007), Halliwell e Gutteridge (2007), Rufino et al. (2006), Karadag et al. (2009), Valko et al. (2007), Green et al. (2004) e Frankel (1996).
Inflamação crônica	Karadag et al. (2009), Valko et al. (2007) e Frankel (1996).
Artrite	Rufino et al. (2006) e Vasconcelos et al. (2007).
Doenças do coração	Rufino et al. (2006), Sachidanandam et al. (2005), Melo et al. (2011) e Abdille et al. (2005).
Catarata	Temple (2000) e Melo et al. (2011).
Hipertensão arterial	Halliwell e Gutteridge (2007) e Vasconcelos et al. (2007).
Trombose	Barreiros, David e David (2006).
Infarto	Barreiros, David e David (2006).
AVC	Barreiros, David e David (2006).
Obesidade	Green et al. (2004).
Malária	Rufino et al. (2006).
Isquemia	Temple (2000).
Úlcera	Repetto e Llesuy (2002).
Asma	Vasconcelos et al. (2006).
Síndrome de Insuficiência Respiratória	Vasconcelos et al. (2006).
Anemia	Vasconcelos et al. (2007).

Fonte: Autora, 2014.

1.4 Antioxidantes

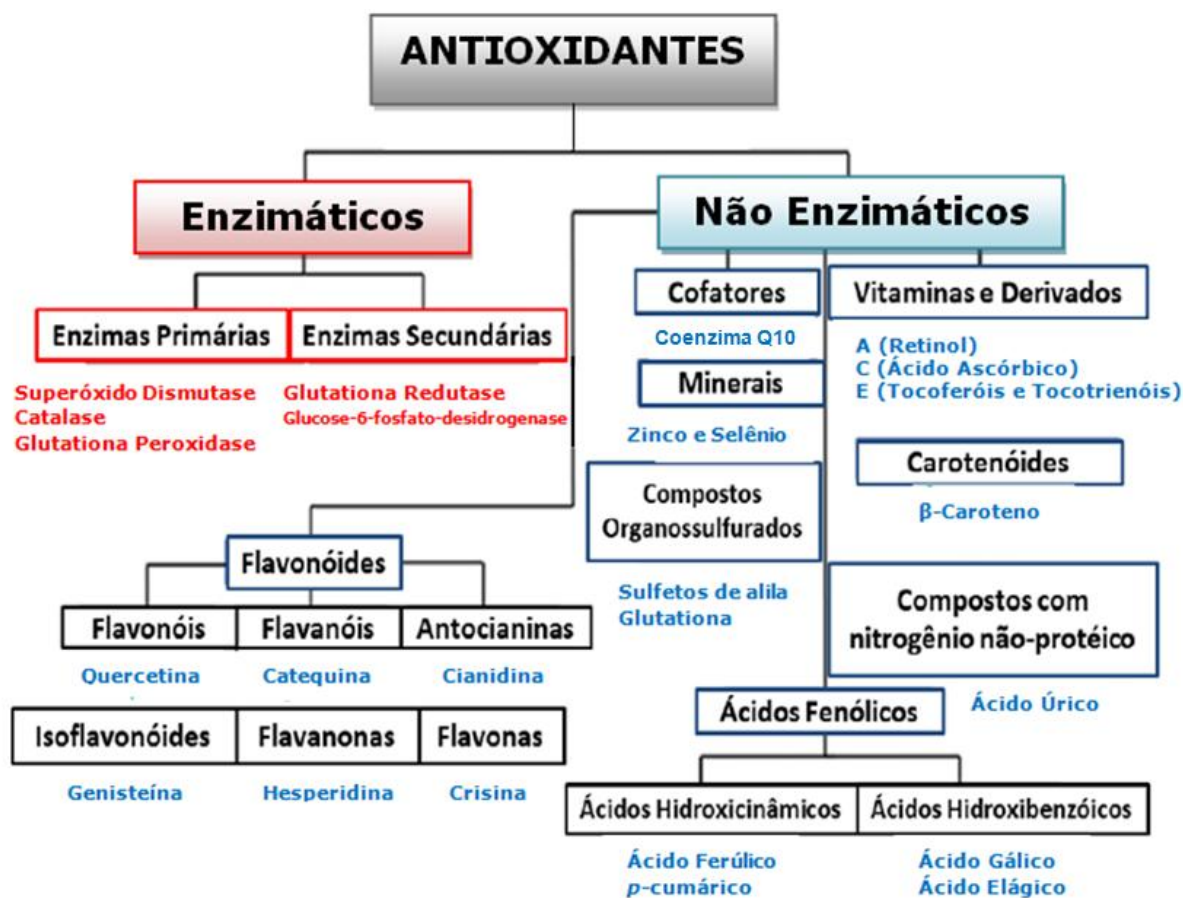
Estudos mostram, de forma crescente, a importância de ingerir alimentos ricos em antioxidantes, pois, estes juntamente com antioxidantes produzidos pelo nosso organismo reagem com EROs e ERNs, em condições de “estresse oxidativo”, e acabam protegendo nosso corpo dos danos celulares e conseqüentemente surgimento de doenças (BARREIROS et al., 2006, HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989; HALLIWELL; ARUOMA, 1991; MELO et

al., 2011). Vários estudos têm evidenciado o potencial antioxidante de uma larga variedade de vegetais (OLIVEIRA, 2009).

O termo antioxidante pode ser definido como: qualquer substância que mesmo presentes em baixas concentrações, em comparação com um substrato oxidável, atrasam ou inibem significativamente o início ou a propagação da cadeia de reações de oxidação deste substrato (HALLIWELL, 2000). O sistema de defesa antioxidante tem o objetivo primordial manter o processo oxidativo dentro dos limites fisiológicos e passíveis de regulação, impedindo que os danos oxidativos se amplifiquem, culminando em danos sistêmicos irreparáveis (BARBOSA et al., 2010). Tais ações podem ser alcançadas por meio de diferentes mecanismos de ação tais como, (1) impedindo a formação de EROs (sistema de prevenção); (2) dificultando a ação destes (sistemas varredores) ou, ainda, (3) favorecendo o reparo e a reconstituição das estruturas biológicas lesadas (sistemas de reparo) (CLARKSON E THOMPSON, 2000; KOURY E DONANGELO, 2003). Estes mecanismos de ação são realizados a fim de atingir um nível celular de homeostase ou "equilíbrio redox" prevenindo assim o dano celular e efeitos destrutivos dos oxidantes (VALKO et al., 2007; ROSENFELDT et al., 2013).

Os antioxidantes podem ser classificados como: enzimáticos e não enzimáticos (CAROCHO; FERREIRA, 2013). Os enzimáticos são de origem endógena e se dividem em primários e secundários (Figura 6) (CAROCHO; FERREIRA, 2013). Os primários são compostos por três enzimas importantes: glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD), que impedem a formação ou neutralizam as espécies reativas formadas pelo nosso corpo, evitando assim as reações em cadeia que culminam com a propagação e amplificação do processo (FERRARI, 2004; CAROCHO; FERREIRA, 2013). Os secundários são compostos por duas enzimas: glutathione reductase e glicose-6-fosfato desidrogenase (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

Figura 6 - Classificação dos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos.



Fonte: Adaptado de Pietta, 2000; Ratnam et al. 2006 e Godman et al. 2011.

Já os antioxidantes não enzimáticos são constituídos por grande variedade de substâncias que podem ter origem endógena ou dietética. Eles se dividem em vitaminas, cofatores de enzimas, ácidos fenólicos, flavonóides, minerais, carotenóides, compostos organossulfurados e ácido úrico (BARBOSA et al., 2010; TREVISAN, 2008; CAROCHO; FERREIRA, 2013; PIRES, 2008).

Antioxidantes de baixo peso molecular podem ser sintetizados no próprio organismo (endógenos) ou ser oriundos da dieta (exógenos) (OLIVEIRA et al., 2009; TREVISAN, 2008; CAROCHO; FERREIRA, 2013). Eles também estão presentes em número e concentração maiores que os antioxidantes enzimáticos e distribuídos em ambientes lipofílicos e hidrofílicos (OLIVEIRA et al., 2009). Estes antioxidantes agem especificamente nos organismos vivos por meio de diferentes mecanismos, como: complexação de íons metálicos, captura de radicais livres, decomposição de peróxidos, inibição de enzimas responsáveis pela geração de EROs e ERNs e modulação de vias sinalizadoras celulares (VASCONCELOS et al., 2006; TREVISAN, 2008; KARADAG et al., 2009).

Além destes, existem os antioxidantes sintéticos produzidos em indústrias alimentícias, de acordo com legislações específicas de cada país (TAKEMOTO; FILHO; GODOY, 2009). Estes antioxidantes sintéticos, além de evitar a destruição de vitaminas no alimento, evitam também a produção de substâncias tóxicas, odores e sabores rançosos que podem ser gerados a partir da deterioração de óleos e gorduras que acabam desqualificando o produto (OLIVEIRA et al., 2009a; RAMALHO; JORGE, 2006). Dentre os antioxidantes sintéticos, os mais utilizados para a conservação de alimentos, devido à sua eficiência e ao baixo custo em indústrias alimentícias são: o butil-hidroxianisol (BHA), o butil-hidroxitolueno (BHT), o galato de propila (PG) e a *terc*-butil-hidroquinona (TBHQ) (DORKO, 1994; TIVERON, 2010; PINHO et al., 2000; RAMALHO; JORGE, 2006; MELO et al., 2011).

Devido à sua estrutura fenólica, os antioxidantes sintéticos agem por meio da doação de um hidrogênio a um radical livre, interrompendo o mecanismo de oxidação (TREVISAN, 2010). Dessa maneira, os derivados fenólicos se transformam em radicais livres, que normalmente se estabilizam, sem promover ou propagar reações de oxidação (BUCK, 1981).

Apesar dos antioxidantes sintéticos serem estáveis e efetivos, estudos com animais permitiram verificar que esses antioxidantes apresentam efeito carcinogênico, outros mostraram a possibilidade de causar efeitos indesejáveis em enzimas de vários órgãos humanos deste modo, o uso foi restrito ou proibido em alguns países como na União Européia e no Canadá (NAKATANI, 1996; TREVISAN, 2010; ALMEIDA-DORIA E REGITANO D'ARCE, 2000; BOTTERWECK et al., 2000; SANTOS, 2009). No Brasil, o uso destas substâncias (BHA, TBHQ e BHT) é controlado pelo Ministério da Saúde (ANVISA, 2008).

Diante destas evidências, há grande interesse em se encontrar novos antioxidantes que sejam seguros e provenientes de fontes naturais (NAKATANI, 1996). Muitos estudos têm sido realizados com o intuito de substituir os antioxidantes sintéticos por produtos naturais com propriedades antioxidantes (SOARES, 2002; CAO et al., 2009; DEVI et al., 2009).

1.5 Antioxidantes em Alimentos

A melhor estratégia nutricional para promover a saúde e reduzir o risco de doenças crônicas, de acordo com a *American Dietetic Association* (Associação Dietética Americana) (1996), é a obtenção de nutrientes de uma grande variedade de alimentos. No entanto, a eficiência antioxidante de compostos bioativos em alimentos de origem vegetal depende de

sua estrutura e da sua concentração no alimento (OLIVEIRA et al., 2009a). Um dos principais aspectos relacionados ao efeito protetor desses alimentos tem sido atribuído, em parte, à presença de compostos antioxidantes, dentre os quais se destacam os compostos fenólicos, além das fibras, β -caroteno, vitamina C e vitamina E (KIM et al., 2007; VASCONCELOS *et al.*, 2006; NAKATANI, 1996).

Como antioxidantes naturais, os compostos fenólicos presentes nos vegetais têm recebido grande atenção nos últimos anos, pois é um grupo quimicamente heterogêneo que contém aproximadamente 10.000 compostos e que apresentam grande variedade de funções nos vegetais (VARGAS; HOELZEL; ROSA, 2008; TREVISAN, 2010). Os compostos fenólicos são caracterizados por uma estrutura aromática, com uma ou mais hidroxilas como grupos funcionais. Estes grupos podem ser substituídos por ésteres, ésteres metílicos e glicosídeos (MORAES-DE-SOUSA, 2007). Estes compostos são facilmente oxidáveis por meio de enzimas vegetais específicas, por influência de metais, luz, calor ou em meio alcalino, ocasionando o escurecimento das misturas ou dos compostos isolados (SIMÕES, 2001). Contribuem para a manutenção de suas características sensoriais, como aparência, cor e sabor, além de proteger seu conteúdo nutricional. No entanto, a quantidade destas substâncias em vegetais é amplamente influenciada por fatores genéticos e condições ambientais, além do grau de maturação e variedade da planta, entre outros aspectos (OLIVEIRA et al., 2009a).

A ingestão de compostos que tenham atividade antioxidante é muito importante para combater as EROs e vários métodos químicos, biológicos e eletroquímicos têm sido propostos para avaliar a atividade de compostos como os polifenóis (BRENNAN; PAGLIARINI, 2001).

Há uma busca intensa por substâncias com atividade antioxidante, provenientes de fontes naturais, que possam atuar sozinhas ou sinergicamente com outros aditivos, que funcionem como alternativas para prevenir a deteriorização oxidativa de alimentos e limitem o uso dos antioxidantes sintéticos e agentes conservantes (MELO; GUERRA, 2002). Outros estudos buscam compreender os mecanismos moleculares nos quais se baseia o estresse redox, no intuito de propor medicamentos ou alternativas nutricionais (alimentos ou nutrientes específicos) que possam diminuir a ação deletéria das espécies reativas sobre a saúde da população humana, animal ou vegetal (MOUSA; MOUSA, 2007; MORIARTY-CRAIGE et al., 2005).

De acordo com estudos, novas tecnologias como a biotecnologia, engenharia genética, processamento de alimentos, inovações de produtos e produção em massa

habilitaram os cientistas de alimentos a planejar novos produtos saudáveis (ANJO, 2004; MEDIREOS et al., 2009). Sendo assim, os antioxidantes presentes naturalmente nos alimentos têm sido cada vez mais estudados quanto à sua eficiência (SHAHIDI, 1997). Vários produtos naturais como: frutas, cereais, ervas, especiarias e leguminosas têm sido objeto de pesquisas devido à presença dos compostos fenólicos (BROINIZI et al, 2007; BAPTISTA et al., 2010; MOREIRA; MANCINI-FILHO, 2004; KUSKOSKI et al., 2006). Estudos afirmam que as propriedades antioxidantes naturais que são encontradas nestes alimentos estão relacionadas com a presença de compostos fenólicos e que antioxidantes naturais, fontes importantes de fibras alimentares também são encontradas nos cereais e sementes (OLIVEIRA et al., 2009a; MOREIRA; MANCINI-FILHO, 2004; KUSKOSKI et al., 2006).

Frutas, vegetais, hortaliças, grãos e especiarias são as principais fontes de compostos antioxidantes mostradas na literatura (TIVERON, 2010; ALMEIDA-DORIA; REGITANO D'ARCE, 2000; SAURA-CALIXTO; GOÑI, 2006; VINSON et al., 1998; RUFINO et al., 2006; FRAZONI, 2005, SOONG; BARLOW, 2004; OLIVEIRA et al., 2009; OMENA et al., 2012; VELIOGLU, 1998; SHAN et al., 2005).

Os cereais integrais também têm um papel importante na nutrição humana. Esta importância se deve aos compostos fenólicos existentes nas camadas exteriores dos grãos de cereais, como por exemplo, o ácido ferúlico, que é um ácido hidroxicinâmico encontrado em abundância nas cascas dos cereais (MANACH et al., 2004; ANDREASEN et al., 2000; BARRON; SURGET; ROUAU, 2007; TIVERON, 2010). Outros componentes principais como as antocianinas, taninos, entre outras substâncias fenólicas, fazem dos grãos, em particular, grande fonte de antioxidantes (MARTINEZ-TOME et al., 2004). Já outros autores (FINCHER; PEDRA, 1987) dizem que os principais constituintes de cereais são os amidos, porém, outros polissacarídeos são encontrados como arabinoxilanas, β -glucanas, pectinas e arabinogalactanos, também chamados de fibras alimentares (HOLGUÍN-ACUÑA et al., 2008).

Com base nestes fatos, alguns dos compostos fenólicos identificados em soja, aveia, trigo, açafrão, linhaça, gergelim e girassol, exceto milho, amostras estas escolhidas para o presente trabalho são apresentados na tabela 2.

Somado a isso a POF (2008-2009) realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística mostrou que a alimentação da população brasileira tem sido inadequada devido a grande quantidade de carboidratos refinados, ingeridos por essa população e principalmente por aquela de baixa renda existente em nosso país.

Segundo a POF (2008-2009), os cereais mais consumidos pela população brasileira são aqueles na sua forma não integral, destacando-se o arroz polido. Já no consumo das farinhas, observou-se uma prevalência da farinha de mandioca e fubá de milho (POF, 2008-2009).

Os resultados do consumo de frutas e hortaliças revelaram que este grupo é consumido em maior quantidade pela população com maior poder aquisitivo (POF, 2008-2009). Observa-se que a dieta da população brasileira necessita de adequações, principalmente quando se refere aos tipos de cereais que devem ser consumidos e o aporte de frutas e hortaliças.

Tabela 2 - Alguns dos compostos fenólicos encontrados em linhaça, açafraão, gergelim, soja, aveia, trigo e girassol.

Fontes	Principais Compostos Fenólicos	Referências
Trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	Ácidos fenólicos: vanílico, <i>p</i> -cumárico, sináptico, ferúlico (mais abundante), gálico, <i>p</i> -hidroxibenzóico, protocatequínico e caféico, lignanas e flavonóides.	Onyeneho; Hettiarachchy (1992), Cheng et al. (2006), Vaheer et al. (2010), Verma et al. (2009), Hung et al. (2009), Kahkonen et al. (1999), Zhang et al. (2012) e Wang et al. (2013), Cochran; Elliot; Papendick (1977), Collins; Caviness (1978), Guenzi; McCalla (1962); Steinsiek et al. (1980).
Soja (<i>Glycine max</i>)	Ácido clorogênico (maior quantidade), caféico, <i>p</i> -cumárico, ferúlico e lignanas. Isoflavonas (daidzina, glicetina e genistina, daidzeína, gliciteína e genisteína, 6- <i>o</i> -acetilglicosídeos, 6- <i>o</i> -malonilglicosídeos).	Bhathena; Velasquez (2002), Nagem Albuquerque; Miranda (1992), Pratt; Birac (1979), César et al. (2007), Park et al. (2001), Esaki et al. (1998), Shahidi et al. (1992), Choi; Rhee (2006), Jun-Ming et al. (2011), Pimentel et al. (2005).
Aveia (<i>Avena</i>)	Ácidos fenólicos e derivados	Bhathena; Velasquez (2002), Mattila

<i>sativa</i>)	dos ácidos benzóico e cinâmico: caféico, siríngico, vanílico, <i>p</i> -cumárico, ferúlico, <i>p</i> -hidroxibenzóico, sinápico e flavonóides, flavonas, flavonóis e flavononas, quinonas, ligninas e lignanas.	Pihlava; Hellstrom (2005), Klajn et al. (2012), Collins (1998); Peterson (2001).
Gergelim (<i>Sesamum indicum</i>)	Lignanas (sesamolina, sesamol).	Chen et al. (2005), Queiroga; Silva, (2008), Fukuda et al. (1986); Yoshida (1994).
Girassol (<i>Helianthus annuus</i>)	Lignanas, ácidos fenólicos e derivados dos cinâmicos: caféico, ferúlico, <i>p</i> -cumárico, isoferúlico, sináptico, <i>trans</i> -cinâmico, <i>o</i> -cinâmico, siríngico, cinâmico dissubstituído, protocatecuico, clorogênico (componente principal).	Maier et al. (2009), Moure et al. (2001), Velioglu et al. (1998), De Leonardis; Macciola; Di Domenico (2005), De Leonardis et al. (2003), Salgado et al (2012), Mikolajczak Smith; Wolff (1970), Sabir; Sosulski; Kernan (1974), Bhatena; Velasquez (2002), Szydłowska-Czerniak et al. (2011); Weisz et al. (2009).
Linhaça (<i>Linum usitatissimum</i>)	Lignanas, ligninas.	Cordeiro et al. (2009), Gomes et al. (2012), Marques (2008), Dixon (2004), Bhatena; Velasquez (2002).
Açafrão (<i>Curcuma longa</i>)	Curcuminóides: curcumina (diferuloylmethane), demetoxicurcumina, bisdemetoxicurcumina e α -atlantona.	Govindarajan (1980), Filho (1996), Kiuchi et al (1993), Goel; Kunnumakkara; Aggarwal (2008); Ramaswamy; Banerjee (1948).

Fonte: Autora, 2014.

O presente trabalho visou investigar amostras como: gergelim, açafrão, soja, girassol, aveia, milho, linhaça e trigo, após processamento industrial, quanto à sua capacidade antioxidante, visto que são escassos os relatos destes aspectos na literatura. Adicionalmente, com base nos dados obtidos, há possibilidade de valorização destas farinhas alimentícias, que

além da sua composição padrão, podem apresentar aspectos funcionais, como a presença de antioxidantes, ou auxiliando na proteção ou tratamento de doenças.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a capacidade antioxidante de farinhas de gergelim (*Sesamum indicum*), girassol (*Helianthus annuus*), linhaça (*Linum usitatissimum*), trigo (*Triticum aestivum*), soja (*Glycine max*), milho (*Zea mays viçosence*), aveia (*Avena sativa*) e açafrão (*Curcuma longa*), visando sua utilização para fins funcionais.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Obter extratos metanólicos das farinhas de gergelim, girassol, linhaça, trigo, soja, milho, aveia e açafrão;
- ✓ Determinar o conteúdo total de fenóis de todos os extratos metanólicos;
- ✓ Determinar a capacidade redutora de todos os extratos metanólicos frente ao radical DPPH*, aos íons de ferro e íons de cobre;
- ✓ Verificar a correlação entre o conteúdo total de fenóis e a capacidade antioxidante das amostras.
- ✓ Determinar o poder de inibição da peroxidação lipídica *in vitro* de todos os extratos metanólicos como índice de proteção de membranas celulares frente ao radical peroxila.
- ✓ Comparar as farinhas entre si, na perspectiva de escolher a mais indicada para fins alimentícios.

3 EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes, Solventes e Equipamentos

Para o presente trabalho foram utilizados os seguintes reagentes e solventes de acordo a tabela abaixo:

Tabela 3 – Reagentes e solventes e suas devidas marcas usado em experimentos.

Reagentes e Solventes	Marca
Ácido gálico e ácido acético glacial	Vetec Química Fina Ltda (Brasil)
Acetato de sódio.	CRQ (Cromato Produtos Químicos Ltda)
Carbonato de sódio anidro.	Reagen Químibras Industrias Químicas S.A (Brasil)
Álcool metílico P.A – ACS e Álcool etílico Absoluto P.A – ACS	Dinâmica Química Contemporânea Ltda – Soluções e Reagentes
Álcool etílico hidratado 92,8° INPM	Santa Cruz
Solução de Tampão pH = 4,0 e 7,0	Fluka Analytical
<i>L</i> -a-fosfatildicolina (lecitina de Soja), DPPH [•] (2,2- difenil-1-picril-hidrazila), reagente Folin- Ciocalteu, acetato de amônio, Trolox [®] (ácido 6- hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico), TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-5-tiazina), ácido clorídrico, cloreto férrico, cloreto de cobre, neocuproína, AAPH/ ABAP (2,2'-azobis (2- metilpropionamida) di-hidrocloro).	Sigma Aldrich Brasil Ltda.
Fosfato de sódio monobásico, fosfato de sódio bibásico; EDTA (ácidoetilenodiaminotetraacético)	Acros Organics (Brasil)
Sonda Bodipy C11 ^{581/591} (ácido 4,4-difluoro-5-(4- fenil-1,3-butadienil)-4-bora-3a,4a-diaza-s- indaceno-3-undecanóico).	Molecular Probes (Canadá)

Fonte: Autora, 2014.

Os equipamentos usados são citados na tabela abaixo (tabela 4):

Tabela 4: Equipamentos utilizados durante os experimentos.

Equipamento	Marca
Espectrofotômetro UV-vis	Modelo Multispec – 1501, Shimadzu, Japão
Fluorímetro	Spex Fluorolog - 1681®
Rotaevaporador	BUCHI R-210
Ultrassom	Cristófoli
Agitador de soluções	Phoenex AP-56
Moinho de lâminas	METVISA – TAR-2
Estufa com circulação e renovação de ar	TECNAL – TE - 394/1
Balança analítica	Mettler Toledo AG 245
Nanotrak-Zetatrac	NPA151-31A-0000-D30-10M
Refrigerador	Springer
Aquecedor	BiomiXer 78 HW-1
Dessecador	Não informado
Bomba de vácuo	Emerson – Motor Division ST Louis, MO. USA – CASSKXDJW-2137 CAT
pH metro	Quimis Aparelhos Científicos LTDA
Destilador	Digilab 20 L e Quimis Aparelhos Científicos LTDA
Micropipetas de 100/1000 µL e 1/5 mL	LABMATEpro
Micropipeta de 100 µL	Gilson Pipetman P100 – França

Fonte: Autora, 2014.

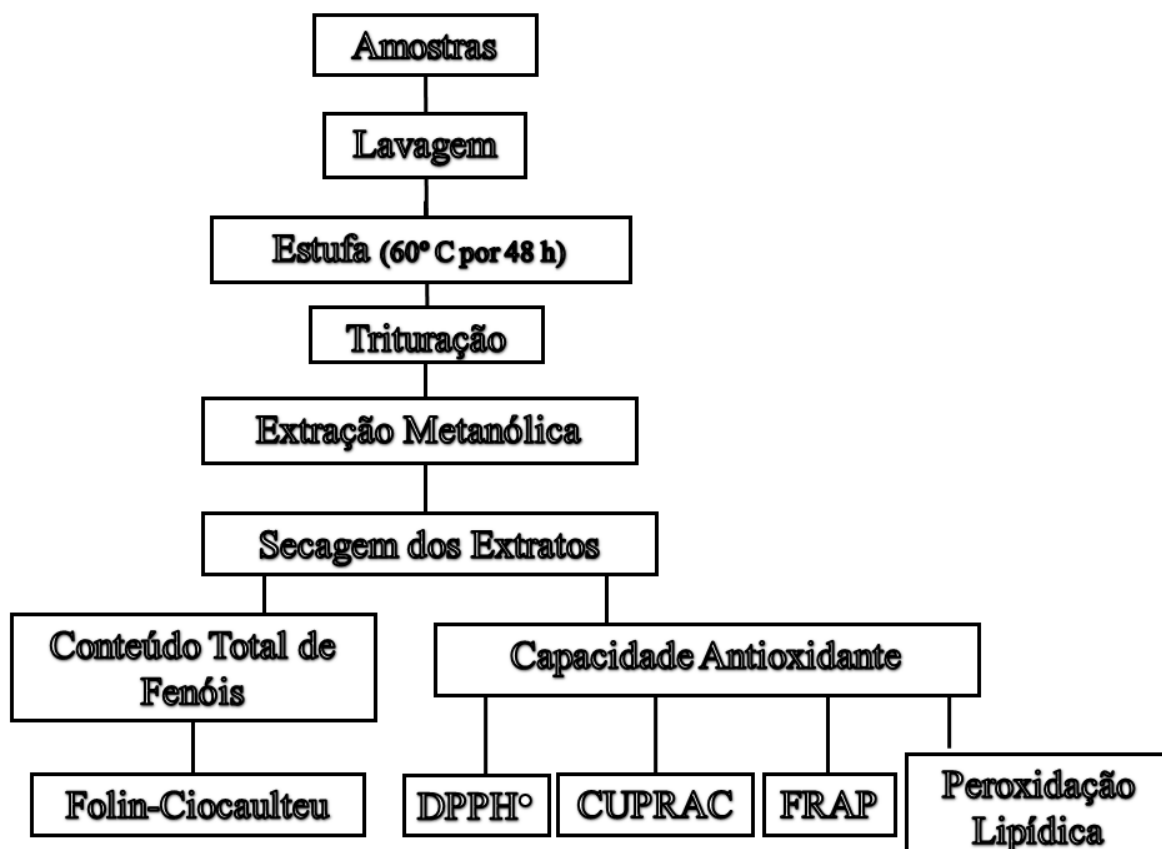
Já as vidrarias utilizadas foram de uso exclusivo, sendo lavadas com etanol, antes e após a sua utilização.

Todo trabalho experimental foi feito no laboratório de Eletroquímica do Instituto de Química e Biotecnologia (IQB) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), exceto o processamento das farinhas, que foi realizado no laboratório de Derivados de Cana de Açúcar, localizado no Núcleo de Pesquisas Tecnológicas (NPT) da UFAL e Cooperativa dos Produtores de Açafração (Mara Rosa – GO).

3.2 Obtenção e Elaboração das Farinhas

A figura 7 representa um fluxograma relativo à preparação das farinhas e os métodos de análises usados no presente trabalho.

Figura 7- Rota experimental simplificada utilizada neste trabalho.



Fonte: Autora, 2014.

As amostras de girassol, gergelim, linhaça, aveia e trigo, desidratadas (2% de umidade) e provenientes da Argentina, foram compradas na Casa de Produtos Naturais – Erva Doce e Doce Ervas, localizado na Avenida Fernandes Lima, Maceió-AL, a soja veio de Luiz Eduardo Magalhães - BA (Figura 10 e Tabela 5) e o açafrão em pó foi comprado da Cooperativa dos Produtores de Açafrão localizado em Mara Rosa-GO (Figura 8 e Tabela 5). Já o milho foi adquirido do Setor de Melhoramento Genético de Plantas (SMGP) localizado em município de Rio Largo - AL pelo Centro de Ciências Agrárias (CECA) da UFAL (Figura 10 e Tabela 5). Com exceção da amostra de açafrão, processada na Cooperativa dos Produtores de Açafrão (Mara Rosa – GO), todas as outras foram processadas no laboratório

de Derivados de Cana de Açúcar, localizado no Núcleo de Pesquisas Tecnológicas (NPT) da UFAL.

Tabela 5 - Características importantes das amostras no presente trabalho.

Amostras	Classificação das amostras	Procedência das amostras	Estado das amostras	Data de fabricação
Trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	Cereal***	Argentina	Grãos* descascados	10/08/2011
Soja (<i>Glycine max</i>)	Leguminosa e Oleaginosa	Luiz Eduardo Magalhães - BA	Grãos*	10/08/2011
Gergelim (<i>Sesamum indicum</i>)	Oleaginosa	Argentina	Sementes** brancas descascadas	15/08/2011
Linhaça (<i>Linum isitatisimum</i>)	Oleaginosa	Argentina	Sementes**	15/08/2011
Girassol (<i>Helianthus annuus</i>)	Oleaginosa	Argentina	Sementes** descascadas	11/08/2011
Aveia (<i>Avena sativa</i>)	Cereal***	Argentina	Grãos* prensados	11/08/2011
Milho (<i>Zea mays viçosence</i>)	Cereal***	Rio Largo – AL	Sementes**	11/08/2011
Açafrão (<i>Curcuma longa</i>)*****	Tubérculo** **	Mara Rosa – GO	Rizoma (raiz)	5/2011

* Qualquer fruto ou semente de pequeno tamanho (Dicionário Aurélio Online).

** Qualquer substância ou grão que se deita a terra para germinar ou grão ou a parte do fruto próprio para a reprodução (Dicionário Aurélio Online).

*** Sementes ou grãos comestíveis das gramíneas (ANVISA, 1978).

**** Parte grossa de um caule que cresce debaixo da terra (Dicionário Aurélio Online).

***** Açafrão da terra, Cúrcuma, Açafrão da Índia, Turmérico, Açafroa ou Gengibre amarelo.

Fonte: Autora, 2014.

Figura 8 - Açafrão *in natura*.

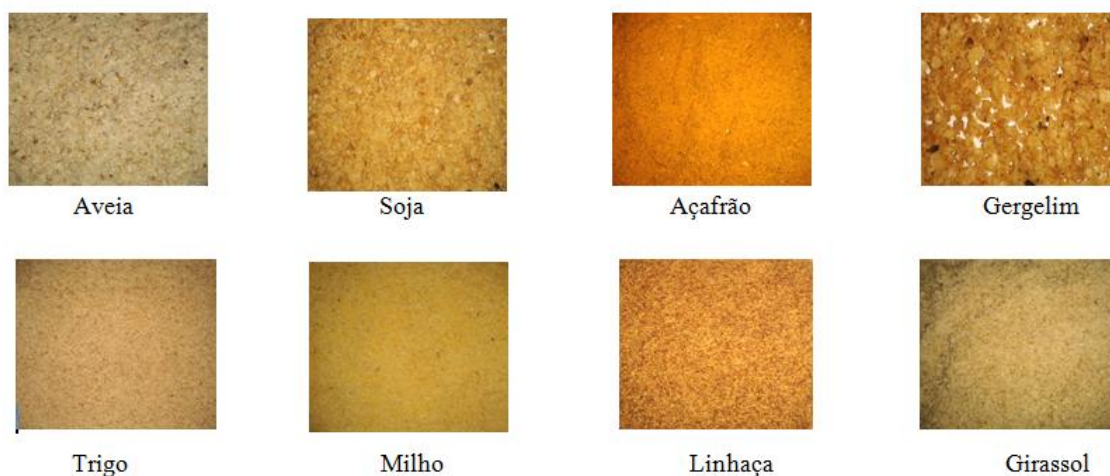
Fonte: Disponível em <http://www.esalq.usp.br/cprural/glossario.php>.

Figura 9 - Amostras *in natura* antes do processo de moagem.

Fotos: Aveia, gergelim, trigo, linhaça e girassol (Autora, 2014), exceto milho (1600 x 1200) e soja (1722 x 1181), disponível em http://snt.sede.embrapa.br/noticias/noticia_completa/189/ e <http://razoesdocorpo.com/blog,1323,consumo-de-proteina-de-soja-ajuda-na-hipertrofia.html>.

As amostras, apresentadas na figura 9, *in natura*, foram extensivamente lavadas em água destilada (3x). Após lavagem, as amostras foram desidratadas em estufa de circulação de ar a 60 °C por 48 h. Em seguida, foram trituradas em moinho de lâminas; após o processamento, as farinhas foram peneiradas (peneira granulométrica - ABNT 35). No presente caso, usou-se a casca, pericarpo, gérmen e endosperma, da maioria das amostras estudadas (soja, linhaça, aveia e milho), para a obtenção da farinha, exceto para as amostras de girassol, trigo e gergelim. Análises gravimétricas foram feitas para todas as farinhas antes e depois do processamento. Este procedimento é comum a todas as amostras estudadas. Quanto à umidade enquanto sementes, após desidratação, os valores se localizaram em torno de 5% (m/m), já em farinhas foram encontrados valores em torno de 8%. Por fim, as farinhas foram colocadas em vidros âmbar e armazenadas sob refrigeração.

Figura 10 - Amostras após processo de moagem.



Fonte: Autora, 2014.

O processamento das farinhas estudadas (Figura 10) foi realizado no laboratório de derivados de cana-de-açúcar da UFAL, sob a supervisão do Dr. Cícero Alexandre da Silva.

As amostras do presente trabalho foram escolhidas devido a sua importância em diversos estudos relatados na literatura, como por exemplo, os mencionados na tabela abaixo:

Tabela 6: Informações importantes sobre amostras escolhidas.

Amostra	Benefícios	Utilização	Referências
Açafrão (<i>Curcuma longa</i>)	Possui atividade antioxidante, anti-protozoária, anti-cancer e anti-inflamatória.	Na culinária como condimento ou como corante. No preparo de medicamentos e perfumes. Usado também na indústria têxtil.	Prathapan et al. (2011), Maheshwari et al. (2006), Pereira; Moreira (2009), Cecílio (1996), Cai et al. (2006), Aggarwal; Kumar; Bharti (2003) e Araújo; Leon (2001).
Aveia (<i>Avena sativa</i>)	Reconhecido como fonte de antioxidantes e como alimento funcional por	Usado na alimentação humana fornecendo aporte energético e	Molin (2011) e Klajn et al. (2012).

	conter elevado valor nutricional.	nutricional equilibrado.	
Gergelim (<i>Sesamum indicum</i>)	Tem valor nutritivo considerável e compostos antioxidantes.	Na indústria alimentícia é utilizado na elaboração de farinhas, produtos de panificação e confeitaria. Já na culinária caseira é usado no preparo de iguarias regionais ou como ingrediente em saladas e arroz. Pode ser também consumido em forma <i>in natura</i> . É utilizado também na produção de fitoterápicos ou de fitocosméticos e na confecção de sabonetes e xampus artesanais.	Firmino et al. (2001), Adel et al.(2011), Beltrão; Vieira (2001) e Namiki (1995).
Girassol (<i>Helianthus annuus</i>)	Possui capacidade antioxidante, propriedades sensoriais e funcionais.	Usado no mercado de óleos, produção de mel, ramo de flores ornamentais e na alimentação de ruminantes.	Embrapa (2008), Salgado et al. (2012), Cevallos-Casals; Cisneros-Zevallos (2010), Hay et al. (2006), Szydłowska-Czerniak et al. (2008); Tuberoso et al. (2007) e Valavanidis et al. (2004).
Soja (<i>Glycine max</i>)	Possui efeito antioxidante, anti-carcinogênico, anti-bacteriano, anti-	Usado na alimentação humana em produtos de panificação, massas,	Anderson; Major (2002), Messina et al. (1994), Zhang et al. (2011), Goés-Favoni et al. (2004), Hubert et al.

	mutagênico e propriedades funcional e nutricional devido a fonte protéica de alto valor biológico e diversos nutrientes.	carnes, cereais, misturas preparadas, bebidas, alimentação para bebês, alimentos dietéticos e suplementos alimentares. Também é usado na agroindústria de alimentos, indústria química, indústria de adesivos, alimentação animal, adubos, fabricação de fibras e na composição de cremes.	(2008), Lee; Cho (2012), Lee et al. (2009) e Marazza et al. (2012), Leme (2010) e Trindade, (2001).
Linhaça	Apresenta composição de nutrientes e compostos bioativos. Possui efeito hipocolesterolêmico, ação antioxidante, anti-inflamatória, anti-estrogênica, anti-carcinogênica e anti-hormonais. É considerada boa fonte de proteína vegetal, fibra alimentar e ainda, antioxidantes, antimicrobianos e anticancerígenos, vitaminas e minerais.	É usada como um alimento aditivo ou ingrediente alimentar em alimentos processados.	Mueller et al. (2010); Couto; Wichmann (2011), Epaminondas (2009), Marques (2008), Soares et al. (2009), Trucom (2006), Gomes et al. (2012).
Trigo	Altos níveis de antioxidantes e fonte de energia devido aos altos	Usado como um componente importante na dieta humana, usado na	Adom; Liu (2002); Adom et al. (2005), Jacobs et al. (1998) e

teores de proteínas.

produção de muitos alimentos e produtos, incluindo pão, macarrão, pão cozido no vapor e bolos.

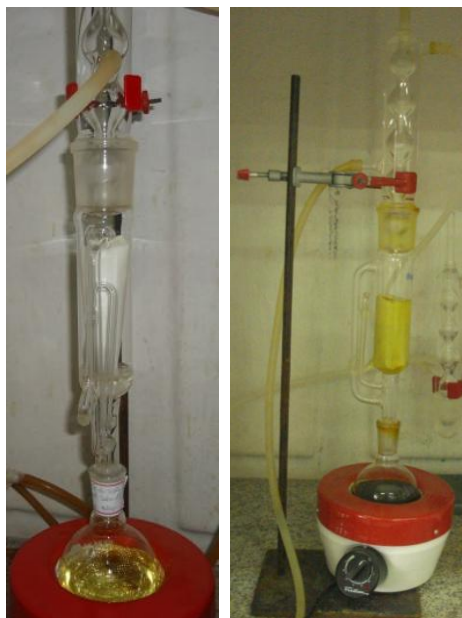
Ward et al. (2008).

Fonte: Autora, 2014.

3.3 Obtenção dos Extratos Metanólicos

Os extratos das farinhas de gergelim, girassol, linhaça, trigo, soja, milho, aveia e açafreão foram feitos no Laboratório de Eletroquímica do Instituto de Química e Biotecnologia (IQB) da UFAL, usando a técnica de extração em aparelho do tipo Soxhlet, usando como solvente, o metanol. A extração foi somente finalizada quando a solução que estava presente no extrator tornava-se totalmente límpida ou incolor (Figura 11).

Figura 11 - Aparelho de Soxhlet usado antes e durante o processo de extração da amostra (açafreão).



Fonte: Autora, 2014.

Para a extração foram usadas 20 g de cada farinha. Estas farinhas pesadas foram colocadas em um cartucho poroso de celulose na câmara do extrator. Em seguida, 150 mL de metanol foram colocados em um balão de fundo chato que foi acoplado ao extrator.

O material extraído foi colocado em um rotaevaporador a 40 °C, para a retirada do solvente. Após esta etapa, 10 mL de clorofórmio foram adicionados ao extrato seco, presente no balão e com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, o mesmo foi retirado e colocado em um vidro âmbar em temperatura ambiente em dessecador, depois de um tempo o excesso de óleo (gergelim - 4 mL, aveia - 1,75 mL, girassol - 2 mL e linhaça - 2,75 mL) em alguns extratos foram retirados com pipeta de Pasteur. Em seguida, todos extratos foram secos novamente em nitrogênio gasoso e por fim foram pesados e armazenados em vidro âmbar sob refrigeração (5 °C). A seguir, foram feitos os cálculos de rendimento percentual das amostras (Tabela 7).

Tabela 7: Rendimento (%) e tempo de extração dos extratos metanólicos de açafão, gergelim, girassol, linhaça, soja, milho, trigo e aveia, em relação à massa original da amostra.

Extratos	Rendimento (%)	Tempo
Açafão	84,4	100 h
Aveia	5,7	7 h 40 min
Linhaça	8,1	29 h 10 min
Gergelim	7,7	37 h 30 min
Milho	2,2	31 h 15 min
Trigo	9,6	8 h 05 min
Soja	4,5	32 h
Girassol	45,3	28 h

Fonte: Autora, 2014.

3. 4 Determinação do conteúdo total de fenóis utilizando o método de Folin-Ciocalteu.

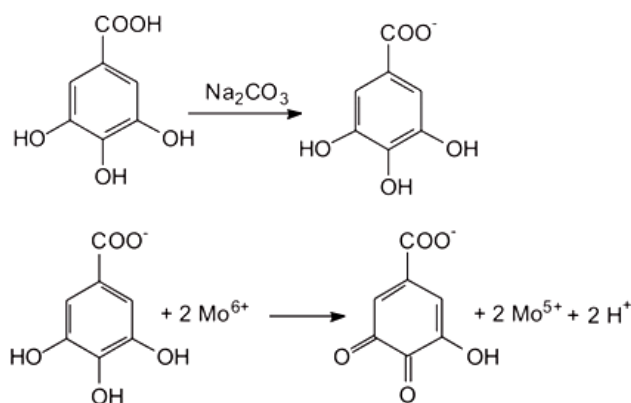
O reagente de Folin-Ciocalteu consiste de uma mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotungstíco, na qual o molibdênio se encontra no estado de oxidação (VI) (cor amarela no complexo $\text{Na}_2\text{MOO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTÓS, 1999).

A natureza química do reagente de Folin-Ciocalteu não está esclarecida, porém se acredita que contenha heteropolifosfotungstênio-molibdênio, sugere-se que o molibdênio (Mo) seja mais fácil de se reduzir no sistema quando existe a presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, formando os chamados complexos molibdênio-tungstênio azuis $[(\text{PMOW}_{11}\text{O}_4)]$ (TOMEI; SILVA; SALVADOR, 2007).

A reação de transferência de elétrons ocorre entre os redutores e Mo (VI) reduzindo-o a Mo (V), ocorrendo uma mudança na coloração do meio (Figura 12) (TOMEI et al., 2007). Quando isto ocorre, pode-se afirmar que neste meio há substâncias redutoras (TOMEI; SILVA; SALVADOR, 2007; SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTÓS, 1999).

A desprotonação do ácido gálico, utilizado como padrão no presente estudo, representando os compostos fenólicos em meio básico, é apresentada na figura 12, juntamente com a reação de oxirredução entre o ânion carboxilato e o reagente de Folin.

Figura 12 - Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu.



Fonte: Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventós (1999).

No presente estudo, foi utilizado o método de Folin-Ciocalteu, descrito por Cicco et al. (2009), com algumas modificações. Sendo assim, os extratos foram diluídos em metanol (15 mg L^{-1}). Para o método, adicionaram-se aos tubos a amostra (0,3 mL) ou o solvente, o reagente de Folin-Ciocalteu (0,3 mL) e carbonato de sódio a 5% (2,4 mL), totalizando um volume de 3 mL. Os tubos foram postos em banho-maria a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ no escuro por 20 min. Em seguida, o produto reacional foi colocado em uma cubeta de quartzo (capacidade = 3 mL; caminho óptico = 1 cm) e medida a absorvância a 760 nm, utilizando espectrofotômetro (UV-vis modelo Mutispec-1501, Shimadzu, Japão).

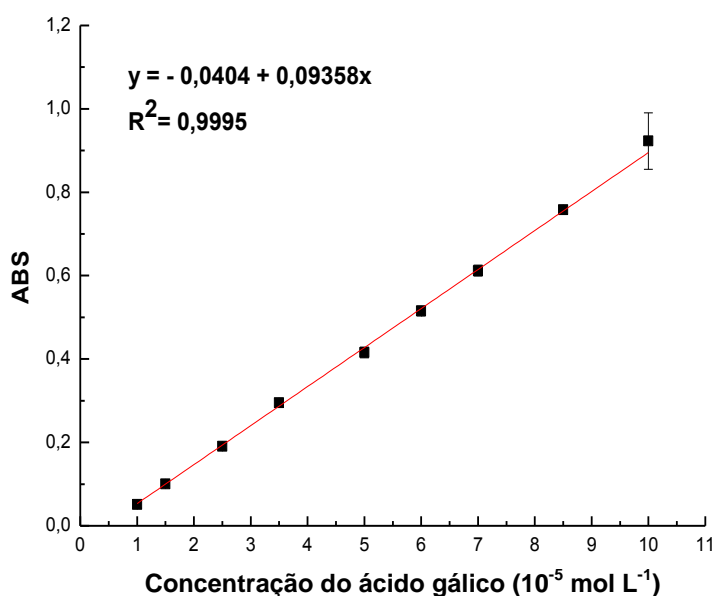
O teor total de fenóis foi obtido a partir de curva de calibração utilizando ácido gálico ($10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) como padrão e os resultados foram expressos em mg de EAG/ g de extrato seco. Todos os experimentos foram feitos em triplicata.

3.4.1 Curva de Calibração para o Método de Folin–Ciocalteu

A curva de calibração de Folin-Ciocalteu foi construída numa faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ a $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹. Primeiramente, foram preparados 100 mL da solução de carbonato de sódio anidro (5 %) em água milli-Q; em seguida, uma solução de 25 mL de solução estoque de ácido gálico em metanol (5×10^{-3} mol L⁻¹) foi preparada. Foram analisadas as seguintes concentrações: $1,0 \times 10^{-4}$, $1,5 \times 10^{-4}$, $2,5 \times 10^{-4}$, $3,5 \times 10^{-4}$, 5×10^{-4} , 6×10^{-4} , 7×10^{-4} , $8,5 \times 10^{-4}$, $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹.

Foi utilizado como branco a mistura da solução de carbonato de sódio anidro com o reagente Folin-Ciocalteu e água milli-Q, sem a presença da amostra. A curva de calibração (Figura 13) foi construída, segundo valores de absorvância a 760 nm das soluções preparadas nas diferentes concentrações estabelecidas.

Figura 13 - Curva de calibração de Folin-Ciocalteu, medida em absorvância a $\lambda = 760$ nm.



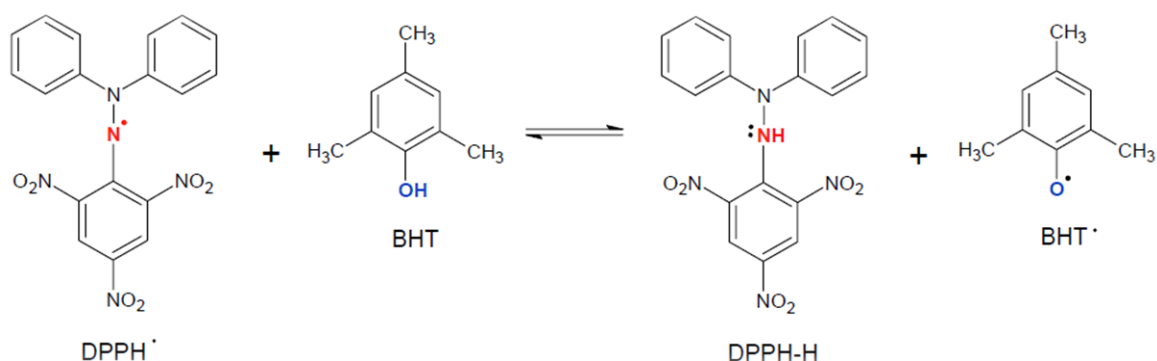
Fonte: Autora, 2014.

Em decorrência da grande diversidade química, em especial entre os compostos fenólicos, vários ensaios com fundamentos e mecanismos de ação diferentes têm sido desenvolvidos, para avaliação da capacidade antioxidante (OLIVEIRA, 2008).

3.5 Capacidade Antioxidante frente ao Radical DPPH[•]

O radical DPPH[•] tem uma coloração púrpura e por ação de antioxidantes ou espécies radicalares (R[•]), o DPPH[•] (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) é reduzido formando o 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H) (Figura 14), de coloração amarela, com consequente desaparecimento da banda de absorção, sendo a mesma monitorada pelo decréscimo da absorvância (OLIVEIRA et al., 2009a). O mecanismo de reação é baseado em transferência de elétrons, enquanto a abstração de átomo de hidrogênio é uma reação marginal, pois a mesma acontece lentamente em solventes que estabelecem fortes ligações de hidrogênio (HUANG; OU; PRIOR, 2005; FOTI; DAQUINO; GERACI, 2004).

Figura 14 - Reação química entre o BHT e o radical DPPH[•].



Fonte: Huang et al., 2005.

O poder redutor das amostras analisadas frente ao radical DPPH[•] foi determinado de acordo com Saánchez-Moreno et al. (1999), com algumas modificações. O método consistiu em preparar uma solução de DPPH[•] (32 $\mu\text{g mL}^{-1}$) em metanol, e a adição de 0,3 mL da solução do extrato a 2,7 mL da solução de DPPH[•]. A avaliação da capacidade antioxidante dos extratos das farinhas foi feita, monitorando-se a redução do radical DPPH[•] por meio da medida do decréscimo da absorvância a 516 nm em espectrofotômetro (UV-vis modelo Mutispec-1501 Shimadzu, Japão).

Soluções metanólicas dos extratos das farinhas e do padrão, ácido gálico, foram preparadas na concentração de 15 mg L^{-1} . As medidas das absorvâncias das misturas reacionais das soluções da amostra (0,3 mL) ou da solução padrão (0,3 mL) e da solução estoque de DPPH[•] (2,7 mL) na concentração de 32 $\mu\text{g mL}^{-1}$ foram feitas a 516 nm, no 1^o, 5^o,

10°, 15°, 20°, 25°, 30°, 35°, 40° e 50° min. Para cada amostra e padrão analisados foi primeiramente feito um branco com adição de 0,3 mL de metanol a 2,7 mL da solução de DPPH•.

A partir da equação da curva de calibração e dos valores de absorvância no tempo t para cada concentração testada, foram determinados os percentuais de DPPH• remanescente (% DPPH_{REM}), conforme a equação 9:

$$\% \text{ DPPH}_{\text{REM}} = [\text{DPPH}]_{\text{T=t}} / [\text{DPPH}]_{\text{T=0}} \times 100 \quad (9)$$

Onde, $[\text{DPPH}]_{\text{T=t}}$ corresponde à concentração de DPPH• no tempo t após a reação com o extrato e como os padrões e $[\text{DPPH}]_{\text{T=0}}$ é referente à concentração inicial de DPPH• ou seja, $32 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Também foi determinada a atividade sequestradora do radical (% RAS) por meio da equação abaixo para um tempo de 30 min (Equação 10):

$$\% \text{ RAS} = [(\text{Abs}_{\text{controle}} - \text{Abs}_{\text{amostra}}) / \text{Abs}_{\text{controle}}] \times 100 \quad (10)$$

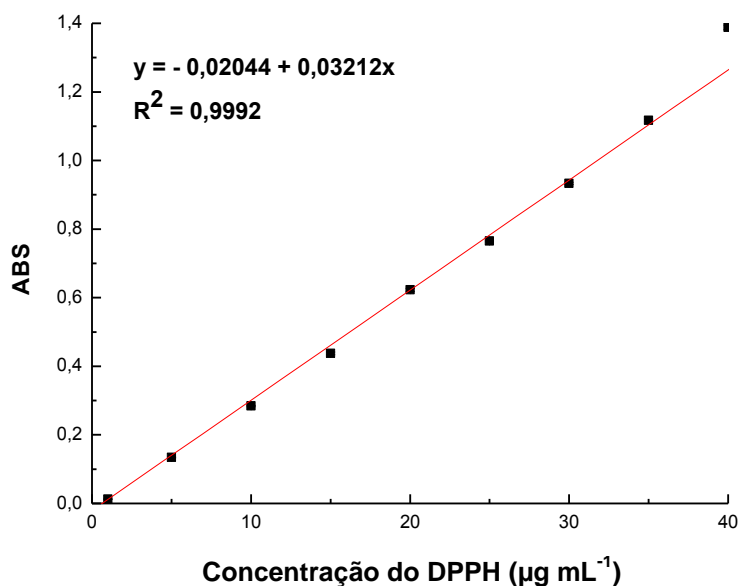
Onde, $\text{Abs}_{\text{controle}}$ é a absorvância inicial da solução metanólica de DPPH• e $\text{Abs}_{\text{amostra}}$ é a absorvância da mistura reacional (DPPH• + amostra) (GULÇIN *et al.*, 2006).

Também foi determinada a capacidade antioxidante a partir da quantidade necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH• em 50%, parâmetro este conhecido por IC₅₀ (OLIVEIRA, 2008). Todos os experimentos foram feitos em triplicata.

3.5.1 Curva de calibração para DPPH•

A curva de calibração do DPPH• foi construída em faixa de concentração de 1 a 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Primeiramente, foram preparados 25 mL de solução estoque de DPPH• em metanol ($40 \mu\text{g mL}^{-1}$), que foi mantida sob refrigeração e protegida da luz. Em seguida, foram feitas diluições de 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 e 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O metanol foi utilizado como branco.

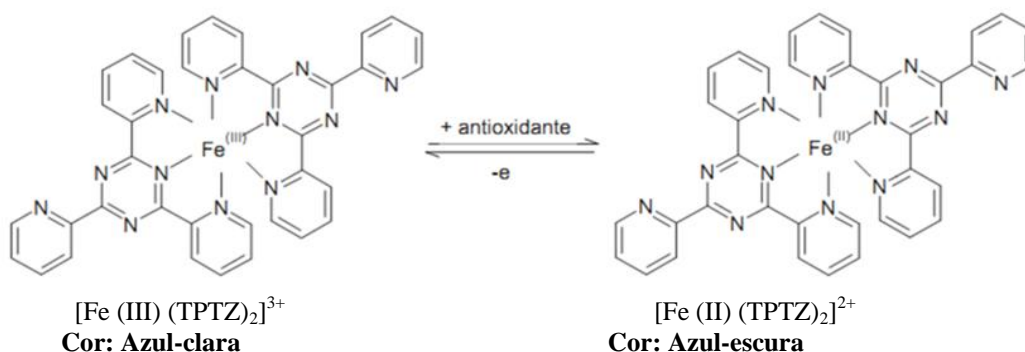
A curva de calibração (Figura 15) foi construída segundo valores de absorvância a 516 nm das soluções preparadas nas diferentes concentrações estabelecidas.

Figura 15 - Curva de calibração do DPPH•, medida em absorvância a $\lambda = 516$ nm.

Fonte: Autora, 2014.

3.6 Capacidade Antioxidante por meio da Redução de Ferro (FRAP)

A determinação da atividade antioxidante por meio de FRAP foi realizada pelo método de Larrauri et al. (1997), com algumas modificações. O método baseou-se na medida direta da habilidade dos antioxidantes, em meio ácido ($\text{pH} = 3,6$), em reduzirem o complexo férrico-tripiridiltriazina (Fe^{3+} TPTZ) formando o complexo ferroso-tripiridiltriazina (Fe^{2+} TPTZ), em baixo valor de pH (BENZIE; STRAIN, 1999, ANTOLOVICH et al., 2001; RODRIGUES, 2012; SUCUPIRA et al., 2012). Neste método o sal férrico, Fe (III) (TPTZ) $_2\text{Cl}_3$, é utilizado como oxidante (BENZIE; STRAIN, 1996). O complexo formado por esta reação possui uma coloração azul intensa com absorção de 595 nm (BENZIE; STRAIN, 1996; ANTOLOVICH et al., 2001; RODRIGUES, 2012). Esta reação é mostrada na figura 16.

Figura 16 - Redução do complexo TPTZ com Fe³⁺.

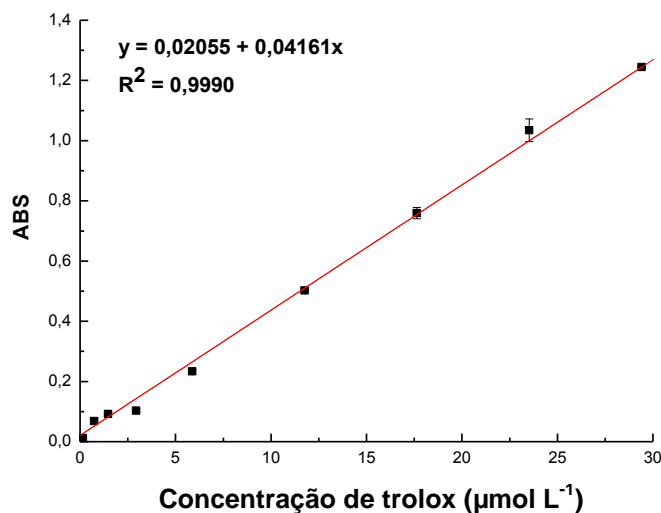
Fonte: Pulido et al., 2000, Prior et al., 2005; Huang et al., 2005.

Para a determinação da atividade antioxidante foi usado o reagente FRAP, preparado no momento da análise, com uma mistura de 50 mL de tampão acetato (0,3 mol L⁻¹, pH = 3,6), com 5 mL da solução de TPTZ (10 mmol L⁻¹ em HCl 40 mmol L⁻¹), mais 5 mL da solução de FeCl₃.6H₂O (20 mmol L⁻¹). Adicionou-se 90 µL de cada solução dos extratos, para obter concentração final de 15 mg L⁻¹, em cada tubo de ensaio, acrescentou-se 270 µL do solvente e misturou-se com 2,7 mL do reagente FRAP. Em seguida, as soluções que estavam nos tubos foram homogeneizadas em agitador de soluções e postas em banho-maria a 37 °C por 30 min. Realizou-se então a leitura da absorbância a 595 nm, em espectrofotômetro (UV-vis modelo Mutispec-1501 Shimadzu, Japão).

Para cada amostra e padrão (trolox) analisados, foi primeiramente feito um branco com 0,3 mL do reagente FRAP. Os resultados foram expressos em µmol de equivalente trolox (ET)/ g de extrato seco. Todos os experimentos foram feitos em triplicata.

3.6.1 Curva de calibração para o método de FRAP

A curva de calibração foi construída variando-se a concentrações da solução de trolox de 0,15 a 30 µmol L⁻¹, sendo assim, foram feitas as seguintes diluições 0,15, 0,75, 1,5, 3, 6, 12, 18, 24 e 30 µmol L⁻¹ a partir da solução estoque. Foi usado como branco o reagente FRAP. A curva de calibração (figura 17) foi construída segundo valores de absorbância a 595 nm das soluções preparadas, nas diferentes concentrações estabelecidas.

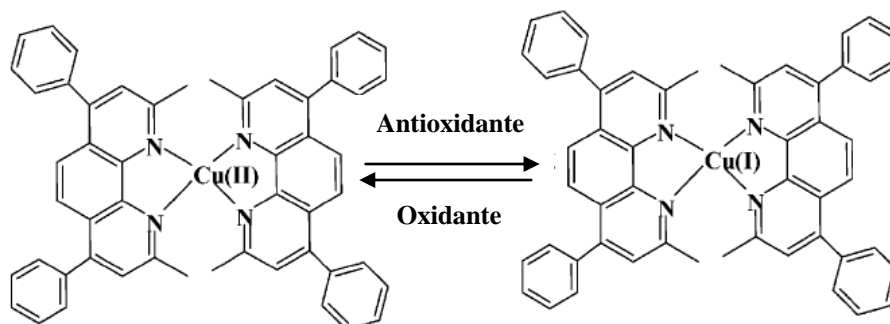
Figura 17 - Curva de calibração do FRAP, medida em absorbância a $\lambda = 595$ nm.

Fonte: Autora, 2014.

3.7 Capacidade Antioxidante por meio da Redução de Cobre (CUPRAC)

A determinação da atividade antioxidante por meio de CUPRAC foi realizada pelo método de Apak et al. (2004), com algumas modificações. Este método baseia-se na transferência de elétrons que ocorre por meio da redução de Cu (II) a Cu (I) por ação de redutores (antioxidantes) presentes numa amostra, em solução hidroetanólica contendo neocuproína (figura 18) e tampão acetato de amônio, pH 7,0 (KARADAG;OZEELIK; SANER, 2009; LIMA, 2011; OZYUREK et al 2011; BENZIE et al., 1999; GORINSTEIN et al., 2006). A figura 18 é representativa do processo, que ocorre em solução.

Figura 18 - Redução do Cu (II) para Cu (I).



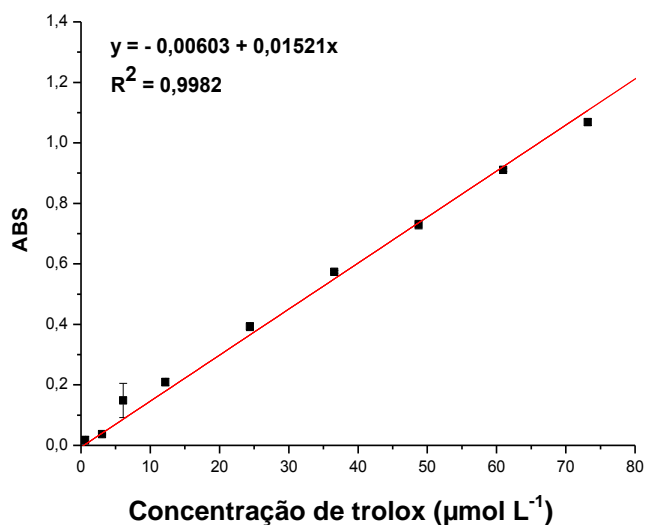
Fonte: Huang et al., 2005.

A forma reduzida do complexo Cu-neocuproína apresenta uma coloração azul intensa (BENZIE; STRAIN, 1999). Assim, a redução da forma oxidada deste complexo (Cu(II)-neocuproína) pelos compostos da amostra pode ser determinada espectrofotometricamente através da leitura da absorvância em 450 nm (KARADAG; OZEELIK; SANER, 2009; HUANG et al., 2005; OZYUREK et al., 2011). O reagente cromogênico (cobre neocuproína II) que é utilizado como oxidante neste método, é usado por ser de fácil acesso, estável e mais seletivo do que outros tipos de reagentes cromogênicos, tendo a capacidade de responder a todos os tipos de antioxidantes biológicos e também antioxidantes presentes em alimentos e vegetais como, por exemplo, flavonóides e ácidos fenólicos, entre outros (KARADAG; OZEELIK; SANER, 2009; APAK et al., 2004; OZYUREK et al 2011).

Para a análise no presente trabalho, foram adicionados, em um tubo de ensaio, 1 mL da solução de cloreto de cobre (CuCl_2) ($1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$), 1 mL da solução de neocuproína ($7,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), 1 mL de solução tampão de acetato de amônio (NH_4Ac) ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0). Em seguida, 0,5 mL da solução do extrato ou do trolox (padrão), ambos com a mesma concentração (15 mg L^{-1}), juntamente com 0,6 mL de H_2O Milli-Q foram adicionados à mistura inicial para atingir um volume final de 4,1 mL. Os tubos ficaram no escuro em temperatura ambiente durante 1 h. Realizou-se então a leitura da absorvância a 450 nm em espectrofotômetro (UV-vis modelo Mutispec- 1501 Shimadzu, Japão). Para cada amostra e padrão analisados foi primeiramente feito um branco com todas as soluções citadas acima, porém no lugar da solução do extrato ou do padrão adicionou-se 0,5 mL de metanol. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol ET/g}$ de extrato seco. Todos os experimentos foram feitos em triplicata.

3.7.1 Curva de calibração para o método de CUPRAC

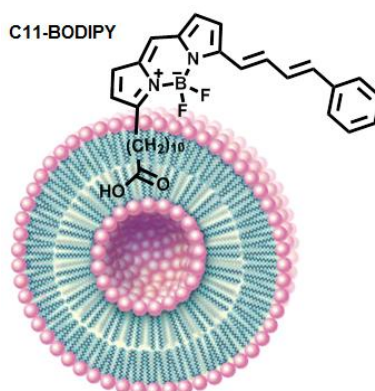
A curva de calibração foi construída variando-se as concentrações da solução de trolox de 0,6 a $73 \mu\text{mol L}^{-1}$, sendo assim, foram feitas as seguintes diluições 0, 6, 3, 6, 12, 24, 36, 48, 60 e $73 \mu\text{mol L}^{-1}$ a partir da solução estoque. A curva de calibração (figura 19) foi construída segundo valores de absorvância a 450 nm das soluções preparadas nas diferentes concentrações estabelecidas.

Figura 19 - Curva de calibração do CUPRAC, medida em absorbância a $\lambda = 450$ nm.

Fonte: Autora, 2014.

3.8 Avaliação das Amostras como Inibidoras da Peroxidação Lipídica

A presente técnica foi feita realizada segundo Drummen et al (2002): lipossomas de fosfatidilcolina de soja (6-8% de insaturações) foram preparados, com o intuito de simular uma membrana celular. Técnicas fluorimétricas são frequentemente utilizadas na medida da lipoperoxidação. O método fundamenta-se no decaimento da fluorescência emitida por uma sonda acoplada ao lipossomo (figura 20) (KAROLIN et al., 1994), através do ataque de uma espécie reativa (MACDONALD; MURRAY; AXELSEN, 2007).

Figura 20 - Sonda fluorescente C11-Bodipy ancorada a um lipossoma.

Fonte: Adaptado de Enciclopédia Britannica, 2007, Karolin et al., 1994; Ferreira, 2013.

3.8.1 Preparo do lipossoma com a sonda fluorescente

Foi necessário o preparo prévio de vesículas unilamelares de fosfatidilcolina de soja. Para isto foram pesados 9,4 mg de fosfatidilcolina de soja e adicionados 10 mL de tampão fosfato pH 7,4, o frasco foi fechado com septo. Para solubilizar o lipídeo, levou-se ao banho ultrassom à temperatura igual ou inferior a 50 °C, por cerca de 30 min, agitando com agitador de soluções a cada 10 min. Durante esta etapa, ocorre a formação dos lipossomas multilamelares.

Em seguida, foi montada uma extrusora com membranas de 100 nm de diâmetro de poros (Avanti Polar Lipids®) e os lipossomas multilamelares formados colocados em uma seringa que foi acoplada à extrusora. Os lipossomas foram passados 15x pela extrusora, formando assim os lipossomas unilamelares com 100 nm de diâmetro (MACDONALD et al., 1991). O tamanho de partícula foi confirmado por Nanotrac-Zetatrac.

Na preparação, foram adicionados 5 µL da sonda Bodipy C11^{581/591} para cada mL de lipossomo unilamelar preparado (DRUMMEN et al., 2002). Em seguida, agitou-se a suspensão no agitador, logo após a incorporação da sonda (DRUMMEN et al., 2002), tudo foi guardado em vidro âmbar e armazenado sob refrigeração. De acordo com DRUMMEN et al. (2002), esta sonda fluorescente, através de seu monitoramento, fornece informações sobre a integridade do mimético de membrana.

3.8.2 Monitoramento da lipoperoxidação

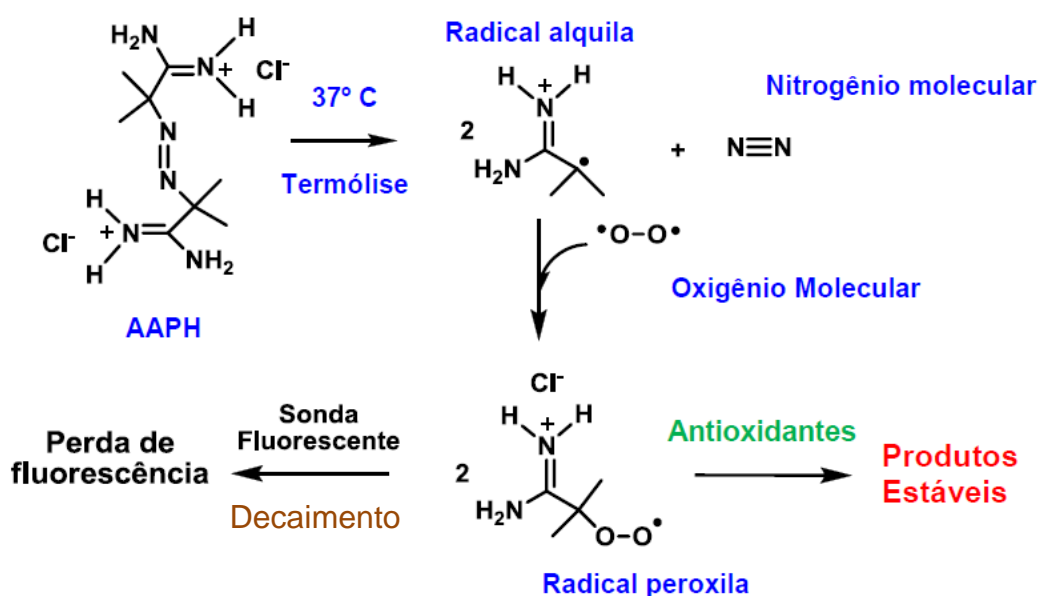
Após o preparo do lipossoma com a sonda fluorescente, foram preparadas soluções metanólicas dos extratos das farinhas (10 µg mL⁻¹) ou do trolox (padrão) (10 µg mL⁻¹) e do AAPH em tampão fosfato (50 mmol L⁻¹) e mantidas protegidas da luz, sob refrigeração. Em seguida, foram adicionados, em uma cubeta, 200 µL dos lipossomas com a sonda, 600 µL de tampão fosfato pH 7,4 e 100 µL da amostra ou trolox.

A cubeta foi, então colocada em um fluorímetro (Spex Fluorolog - 1681®), acoplado a um banho maria à 37 °C. Para o início da reação, 100 µL do AAPH foram adicionados, completando o volume para 1 mL. A medida do decaimento ($\lambda_{\text{excitação}} = 580 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{emissão}} = 600 \text{ nm}$) da fluorescência foi feita em uma cinética de 30 min. Foi utilizado como branco uma solução de 200 µL do lipossoma com a sonda, 700 µL do tampão e 100 µL do AAPH. O AAPH foi utilizado como gerador de radical peroxila.

O AAPH é um composto azo extensivamente usado como gerador de radicais livres à 37 °C, sofre termólise, produzindo nitrogênio molecular e radicais alquila, que podem se combinar para formar produtos estáveis ou reagir com oxigênio molecular formando os radicais peroxila (ZULUETA et al., 2009; FERREIRA, 2013).

A reação de termólise do AAPH durante o método de peroxidação lipídica está representada na figura 21. Por meio desta reação, mediu-se a capacidade das amostras em inibir a peroxidação lipídica, frente ao radical peroxila.

Figura 21 - Reação de geração de radicais a partir de AAPH durante o método de peroxidação lipídica.



Fonte: Adaptado de Zulueta et al., 2009; Ferreira, 2013.

3.9 Análises Estatísticas

Os resultados mostrados no presente trabalho correspondem à média de três repetições \pm desvio-padrão da média ou porcentagem. A análise de variância e testes de diferença significativa foram realizados para identificar as diferenças entre as médias, enquanto o teste de correlação de Pearson foi realizado para determinar as correlações entre as médias, os valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. A análise estatística foi realizada utilizando SAEG 9.1 (System for Statistical Analysis, MG, Brazil).

Todas as análises foram realizadas com o auxílio do programa Microcal Origin® 8,0 e do programa Microsoft® Excel XP. Todas as análises estatísticas foram realizadas pelo Prof. Dr. João Gomes.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Há necessidade de se ter uma alimentação saudável para que corpo tenha uma fonte de compostos químicos essenciais à saúde. Estudos mostram que uma dieta rica em frutas e verduras está associada a uma menor incidência de doenças crônicas e degenerativas (ZIBADE et al., 2007). Isto ocorre devido, em partes, ao efeito protetor dos antioxidantes, dentre os quais, se destacam os compostos fenólicos.

Apesar disto, segundo a POF (2008 - 2009), ainda é pequena a ingestão de produtos alimentícios ricos em compostos fenólicos pela população brasileira e grande o consumo de farinhas que não tem grande valor nutritivo no Brasil, principalmente quando se trata da população de baixa renda. Por este motivo, é importante estudar alimentos que possam agregar valor nutricional elevado e ser de baixo custo, beneficiando assim a população com menor poder aquisitivo do nosso país.

Vários estudos têm evidenciado o potencial antioxidante de uma larga variedade de vegetais (OLIVEIRA et al., 2009; LIU et al., 2007). Muitos trabalhos na literatura descrevem a capacidade antioxidante em plantas medicinais, hortaliças, frutas, temperos, sementes, cereais e resíduos de frutas (SOUSA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2013; OMENA et al., 2012; PANTEDILIS et al., 2007; SHAN et al., 2005; PRAKASH et al., 2007; STRATIL;KLEJDUS; KUBAN, 2007; OLIVEIRA, 2008; OLIVEIRA et al., 2009a). No entanto, ainda não é comum encontrar valores do conteúdo total de fenóis e da capacidade antioxidante para farinhas, sendo assim, no presente trabalho, foram analisados 8 tipos de farinhas alimentícias.

Inicialmente os resultados do conteúdo total de fenóis utilizando o método de Folin-Ciocalteu foram obtidos, em seguida, a capacidade antioxidante frente ao radical DPPH[•], por meio da redução de íons de ferro (FRAP) e íons de cobre (CUPRAC) e, por fim os resultados da peroxidação lipídica, com a comparação entre todos os métodos realizados.

4.1 Conteúdo Total de Fenóis Utilizando o Método de Folin-Ciocalteu

A quantificação de compostos fenólicos foi realizada por meio do método de Folin-Ciocalteu. Mesmo existindo uma grande variedade de métodos para este tipo de quantificação, o método foi escolhido pelo nosso grupo devido ao uso rotineiro e generalizado deste reagente (Folin-Ciocalteu) nestes tipos de análises (ABDILLE et al., 2005;

BANERJEE; DASGRUPTA; DE, 2005; STRATIL; KLEJDUS; KUBAN, 2007; EDASTMALCHI et al., 2007).

Desta forma, os resultados do conteúdo total de fenóis dos extratos metanólicos das farinhas de gergelim, soja, açafrão, linhaça, aveia, trigo, milho, girassol e soja estão descritos na tabela 8. Todos os resultados foram expressos em mg EAG/ g de extrato seco.

Tabela 8 - Conteúdo total de fenóis (CTF) obtido pelo do método de Folin-Ciocalteu dos extratos metanólicos das farinhas de gergelim, açafrão, linhaça, aveia, trigo, milho, girassol e soja.

Extratos metanólicos	Valores do CTF (Folin-Ciocalteu) mg EAG/ g extrato seco
Açafrão	119 ± 2 ^a
Girassol	94 ± 6 ^b
Trigo	53 ± 6 ^c
Milho	49 ± 2 ^{cd}
Gergelim	42 ± 3 ^{cde}
Soja	37 ± 4 ^{de}
Aveia	35 ± 4 ^{de}
Linhaça	31 ± 3 ^e

*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Valores médios de três repetições.

Fonte: Autora, 2014.

Os extratos metanólicos das farinhas de açafrão e girassol foram os que mais se destacaram com valores de 119 e 94 mg EAG/ g de extrato seco, respectivamente, sendo o extrato da farinha de açafrão, o melhor extrato encontrado nesta análise. Os extratos metanólicos que apresentaram os menores conteúdos totais de fenóis foram os das farinhas de linhaça (31 mg EAG/ g de extrato seco), aveia (35 mg EAG/ g de extrato seco), soja (37 mg EAG/ g de extrato seco) e gergelim (42 mg EAG/ g de extrato seco), com o menor valor para o extrato da farinha de linhaça.

Diversos estudos na literatura mostram a presença de compostos fenólicos em cereais, sementes, temperos e leguminosas (KAHKONEN et al., 1999; TIVERON, 2010; SILVA et al., 2011; ARAÚJO et al., 2008), no entanto, apesar de existirem muitos estudos

sobre os compostos fenólicos em numerosas fontes vegetais, ainda há dificuldade de se encontrar resultados suficientes devido à forma diversificada de apresentação dos resultados em muitos casos. Sendo assim, serão listadas, na tabela 9, as condições de extração, amostras estudadas (gergelim, açafrão, girassol, linhaça, soja, trigo, aveia, exceto o milho) e resultados expressos em EAG/ g de extrato seco de estudos encontrados na literatura para este método.

Tabela 9 - Conteúdo total de fenóis em amostras semelhantes às estudadas no presente trabalho, utilizando ácido gálico como padrão.

Amostras	Valor do CTF (mg EAG/ g)	Extrações	Referências
Gergelim creme	1,5	Antes de serem trituradas passaram	Silva et al.
Gergelim preto	2,6	por tratamento térmico (150 °C) durante o período de 10 min, em seguida, foram mantidas em uma solução de metanol e água (60: 40 v/v), por 30 min sob agitação permanente (180 rpm) a 25 °C.	(2011).
Açafrão (<i>Curcuma longa</i>)	12,8	As amostras foram trituradas, após processo de liofilização, e colocadas em contato com etanol (80%) em apenas alguns min.	Tiveron (2010).
Diversos tipos de soja (amarela, verde e preta)	1,0 a 5,9	Feita por tintura com acetona (70%), à 25 °C.	Kumar et al. (2010).
Linhaça (<i>Linum usitatissimum</i>)	0,8	As amostras secas foram liofilizadas após serem colocadas em contato com metanol (80%) e solução aquosa por 1 min.	Kahkonen et al. (1999).
Grãos de trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	0,5 a 0,6	Realizada com metanol (80%) e nitrogênio durante 30 min, tudo foi centrifugado (6000 rpm) por 20 min e transferidos para tubos de	Ragae; Abdel-Aal; Noaman (2006).

		cultura com nitrogênio, guardadas sob refrigeração.	
	0,5	As amostras foram homogeneizadas durante 2 min a 12.000 rpm, durante 20 min a 1050 rpm e centrifugadas durante 10 min a 2.000 rpm, após extração com metanol.	Alvarez-Jubete et al. (2010).
Grãos de trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	0,2	As amostras secas foram liofilizadas após serem colocadas em contato com metanol (80%) e	Kahkonen et al. (1999).
Farelo de trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	1,0	solução aquosa por 1 min.	
Farelo, farinha e grãos de trigo, trigo de diversas espécies, trigos cultivados em locais diferentes e com condições climáticas diferentes.	0,01 a 3,2	As amostras foram sonificadas por 30 min em metanol, depois centrifugadas por 10 min. As amostras foram desengorduradas 2x em hexano numa proporção de 1:4 (v/ v) durante 1 h à 25 °C. Depois, amostras foram secas e hidrolisadas pela mistura de NaOH em metanol (80%) numa proporção de 1:5 (w/ v) durante 3 h. A mistura foi acidificada com HCl (pH 2,0) e filtrada. A mistura límpida foi extraída 3x com éter dietílico. O extrato etéreo foi evaporado e o resíduo final foi reconstituído com 80% de metanol.	Vaher et al. (2010). Jonnala et al. (2010).

		<p>A farinha foi desengordurada 2x em hexano numa proporção de 4:1 (v/v) e mantidos num agitador mecânico, durante 1 h à 25 °C, após as quatro amostras de farelo de trigo terem sido moídas e peneiradas. Cada amostra foi filtrada e o farelo desengordurado final foi seco à 25 °C. O farelo desengordurado foi extraído 2x com metanol (80%), em uma proporção de 5:1 (v/ v) durante 1 h, à 25 °C. Cada amostra foi filtrada e o sobrenadante combinado foi concentrado até secar.</p>	Kim et al. (2006).
		<p>Método descrito por (Yu et al., 2002), com algumas modificações. Usou-se etanol como solvente. Foi usado metanol (70%) por 15 h, em temperatura ambiente. Extração realizada por 15 h com etanol</p>	Yu et al. (2004). Zhou; Yu (2004). Yu et al. (2003)
Grãos de aveia (<i>Avena sativa</i>).	0,3	As amostras secas foram liofilizadas após serem colocadas em contato com metanol (80%) e solução aquosa por 1 min, baseado	Kahkonen et al. (1999).
Palha de aveia (<i>Avena sativa</i>).	0,7		
Farelo de aveia (<i>Avena sativa</i>).	0,4	Kahkonen <i>et al</i> e estudos de Keinanem (1993).	

Fonte: Autora, 2014.

De acordo com os dados mencionados na tabela acima, percebe-se que a maioria dos estudos encontrados na literatura não descreve o estado inicial da amostra, dificultando assim a comparação dos resultados. No entanto, os resultados mencionados na tabela 9 foram comparados com os resultados encontrados no presente trabalho (Tabela 8).

A partir da análise comparativa entre as tabelas 9 e 8, pode-se dizer que os valores de conteúdo total de fenóis apresentados (tabela 9) são bem inferiores aos extratos metanólicos estudados no presente trabalho, descritos na tabela 8.

Através da comparação entre os estudos mencionados na tabela 9 e outros encontrados na literatura, enfatiza-se que diversos fatores influenciam nos valores de conteúdo total de fenóis, desde a sua origem até os processos envolvidos na extração, antes das análises para cada tipo de amostra estudada (KÄHKÖNEN et al., 1999; MANACH et al., 2004; HUNG et al., 2009; YU et al., 2004; WHITE; XING, 1997; YU et al., 2002; PRZYBYLSKI et al., 1998; ZIELINSKI; KOZLOWSKA, 2000; RANDHIR; KWON; SHETTY, 2008; RANDHIR; SHETTY, 2007; CHENG et al., 2006; ZHANG; HAMAUZU, 2004; NACZK; SHAHIDI, 2004; BERTOLDI, 2006).

Em estudos realizados em amostras de milho por Randhir e Shetty (2007), o tratamento térmico em autoclave influenciou no aumento do conteúdo total de fenóis; Já nos estudos realizados por Randhir, Kwon e Shetty (2008), após tratamento térmico, observou-se que seus resultados variaram entre 2,0 a 3,0 mg EAG/ g de extrato seco, valores bem menores do que os nossos.

Em trabalhos realizados em grãos de farinha de trigo (CHENG et al., 2006) relatou-se que os compostos fenólicos, como o ácido ferúlico, ácido siríngico, ácido vanílico e ácido *p*-cumárico, aumentaram após processo térmico (100 °C). Já Zhang e Hamauzu (2004) alertaram que o processo térmico usado em estudos em vegetais, alterou significativamente as características físicas e bioquímicas das suas amostras.

No presente trabalho, os altos valores de conteúdo total de fenóis obtidos (Tabela 8), podem ter sido influenciados pelo uso do metanol, como solvente e o tipo de extração (Soxhlet) realizada para a obtenção de compostos fenólicos. Naczk e Shahidi (2004) afirmam que o metanol tem sido apontado como o mais efetivo dentre os solventes orgânicos, extraíndo assim, uma elevada quantidade de compostos bioativos. Bertoldi (2006) afirma, em geral, que solventes mais polares extraem maior quantidade de compostos fenólicos. Outros estudos também mostram o metanol como um solvente polar efetivo na extração de

compostos fenólicos em cereais (PRZYBYLSKI; LEE; ESKIN, 1998; ZIELINSKI; KOZLOWSKA, 2000).

Os valores de conteúdo total de fenóis obtidos em nosso trabalho (Tabela 8) também pode ter sido influenciado pela forma como as amostras foram processadas antes da extração. No presente caso, usou-se a casca, pericarpo, gérmen e endosperma, da maioria das amostras estudadas, para a obtenção da farinha, exceto para as amostras de girassol, trigo e gergelim (Tabela 5).

Yu et al. (2002) afirmam que há diversos fatores que podem influenciar nos resultados da determinação do conteúdo total de fenóis como: a preparação ou análise da amostra, a natureza dos componentes de interesse, as propriedades físico-químicas da matriz. White e Xing (1997) afirmam em seus estudos que 80% do ácido *trans*-ferúlico de grãos de trigo e centeio foram encontrados na parte mais externa do grão, similarmente a Kähkönen et al. (1999) e outros (MANACH et al., 2004; HUNG et al., 2009). Já, Yu et al. (2004) destacaram em seu trabalho que a variedade ou locais de cultivo do trigo podem alterar significativamente as propriedades antioxidantes e o conteúdo total de compostos fenólicos da farinha de trigo.

Veja a seguir a tabela 10 com uma lista de valores de conteúdo total de fenóis de alguns outros materiais, representados por cascas, sementes, polpas, frutas, fibras de coco e resíduos de frutas.

Tabela 10 - Resultados do conteúdo total de fenóis, utilizando o método de Folin-Ciocalteu para estudos realizados em cascas, sementes, polpas, frutas, resíduos de frutas e fibras de coco registrados na literatura.

Amostras de cascas, sementes, polpas, frutas, resíduos de frutas e fibras de coco.	Valores do CTF mg GAE/ g de extrato seco	Referências
Sementes de jaca	28	Ayala-Zavala et al. (2011).
Sementes de abacate	52	Ayala-Zavala et al. (2011).
Sementes de siriguela	255 ± 42	Omena et al. (2012).
Semente de umbu	202 ± 7	Omena et al. (2012).
Sementes de abacate	88	Soong; Barlow (2004).
Semente de jenipapo	123 ± 19	Omena et al. (2012).
Cascas de umbu	53 ± 6	Omena et al. (2012).
Cascas de siriguela	112 ± 13	Omena et al. (2012).
Casca de jenipapo	188 ± 11	Omena et al. (2012).
Polpa de jenipapo	62 ± 4	Omena et al. (2012).
Polpa de umbu	40 ± 9	Omena et al. (2012).
Polpa de acerola	6 ± 5	Kuskoski et al. (2006).
Manga	117	Soong; Barlow (2004).
Acerola	9 – 19	Lima et al. (2005).
Farinha dos resíduos de acerola	95 ± 7	Oliveira (2008); Oliveira et al. (2009).
Farinha dos resíduos de maracujá	41 ± 4	Oliveira (2008); Oliveira et al. (2009).
Resíduos de morango	60 ± 4	Peschel et al (2006).
Resíduos de carambola	32 ± 4	Shui; Leong (2006).
Resíduos de maçã	52 ± 5	Peschel et al. (2006).
Fibras de coco anão amarelo	501 ± 29	Oliveira et al. (2013).
Fibras de coco gigante	420 ± 20	Oliveira et al. (2013).
Fibra de coco (Híbrido)	531 ± 24	Oliveira et al. (2013).
Fibras de coco anão verde	58 ± 9	Oliveira et al. (2013).

Fonte: Autora, 2014.

De acordo com os estudos mencionados na tabela acima, observou-se que os nossos melhores resultados, açafão (119 mg EAG/ g de extrato seco) e girassol (94 mg EAG/ g de extrato seco), tabela 8, foram similares aos resíduos de acerola e de manga (Tabela 9), ou seja, apresentaram capacidade antioxidante da ordem das frutas, o que é relevante. Já a polpa e a fruta acerola apresentaram valores bem menores do que todos os extratos metanólicos estudados. Podemos perceber também que todos os extratos metanólicos estudados no presente trabalho, foram inferiores apenas aos extratos de fibras de coco (anão amarelo, gigante e híbrido), sementes (siriguela, jenipapo e umbu) e cascas de jenipapo.

4. 2 Capacidade Antioxidante frente ao Radical DPPH[•]

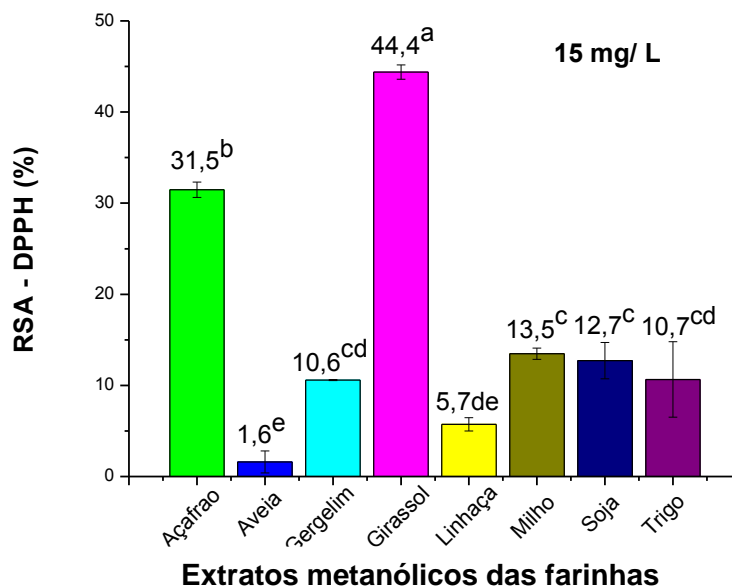
Considerando a abundância dos compostos fenólicos nas farinhas estudadas foi avaliada a atividade antioxidante dos extratos metanólicos de girassol, milho, aveia, açafão, gergelim, trigo, soja e linhaça, por meio do método que determina a capacidade antioxidante frente ao radical DPPH[•].

Existem vários métodos para a determinação da capacidade antioxidante, no entanto, o radical DPPH[•] é mais estável do que radicais hidroxila e superóxido (JIMENEZ-ESCRIG et al., 2000). Por este motivo ele é mais eficiente na análise da eficácia de um antioxidante e um dos mais utilizados para avaliar a atividade antioxidante de compostos fenólicos extraídos de frutas, vegetais, grãos de cereais, vinho e outros.

Para determinar a capacidade antioxidante das farinhas estudadas neste trabalho, usou-se este método, por que além de ser um método considerado fácil e útil para análise de substâncias puras e amostras complexas, ele é o único que não é influenciado por açúcares, podendo apenas ser influenciado pelo solvente e pelo pH das reações (OLIVEIRA et al., 2009a; STRATIL; KLEDJUS; KUBAN, 2007).

Os resultados da atividade sequestradora do radical (RSA %) DPPH[•] das amostras já citadas e do padrão ácido gálico encontram-se descritos na figura 22.

Figura 22 - Porcentagem da capacidade antioxidante obtido pelo método de DPPH[•] dos extratos metanólicos das farinhas de gergelim, açafraão, linhaça, aveia, trigo, milho, girassol e soja.



* Valores comparados ao do ácido gálico (94,5 %), usado como padrão, neste experimento.

* Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Valores médios de três repetições.

Fonte: Autora, 2014.

De acordo com os resultados obtidos, notou-se que os extratos metanólicos das farinhas de girassol (44,4%) e de açafraão (31,5%) foram as que apresentaram os melhores valores, sendo que o extrato da farinha de girassol foi o extrato metanólico que mais se destacou. Já os extratos das farinhas de aveia (1,6%) e de linhaça (5,7%) apresentaram os menores valores de capacidade antioxidante, sendo que o de aveia mostrou ter o menor desempenho em relação a todos os outros.

Na tabela 11 são listados os resultados, apresentadas as amostras semelhantes às investigadas no presente trabalho, como: soja, gergelim, milho, aveia e trigo, exceto amostras como: girassol, açafraão e linhaça, juntamente com os padrões utilizados nas análises.

Tabela 11 - RSA (%) de amostras semelhantes às estudadas no presente trabalho.

Amostras	Valores de DPPH [•] (RSA %)	Referências
18 variedades de soja da Índia	16,4 a 83,5	Kumar et al. (2010).
Gergelim creme e gergelim preto	27,5 e 53,0	Silva et al. (2011).
Farinha de trigo	1 a 95	Hung; Morita (2008).
Grãos integrais de trigo	15,5	Hung et al. (2009).
Farinha de trigo branca	5,8	Hung et al. (2009).
Grãos de trigo	6,6	Serpen; Gokmen; Fogliano (2012).
Farelo de trigo	51,4	Aprodu; Banu (2012).
Farinha de trigo	69,6	Aprodu; Banu (2012).

Fonte: Autora, 2014.

Outros trabalhos foram encontrados na literatura para barbas de milho, milho, soja e compostos bioativos do açafraão (LIMA, 2011; ASSIMOPOULOU; SINAKOS; PAPAGEORGIOU, 2005; MOHSEN; AMMAR, 2009).

Conforme já citado (ZHOU; YU, 2004), além do padrão usado nas análises, existem diversos fatores que interferem nos valores da capacidade antioxidante, sendo um deles a condição de extração ou procedimentos realizados antes das análises. Stratil, Kledjus e Kuban (2007) também afirmam que dos muitos trabalhos que foram publicados na literatura nesta área, poucos são os que têm dados adequados para fazer um estudo de comparação, devido às diferenças nas metodologias empregadas.

Já Liu, (2007) afirma que os grãos de cereais não são tão citados na literatura devido a níveis relativamente baixos de antioxidantes em relação a frutas e vegetais, citados frequentemente como excelentes fontes de antioxidantes. No entanto, diferente de muitos trabalhos, no presente caso, usou-se, para a maioria das amostras, todas as partes do grão, inclusive as camadas externas, fato que se revelou de grande importância, pois existem estudos que confirmam que as camadas mais externas dos grãos apresentam maior capacidade antioxidante e maior conteúdo de ácidos fenólicos (ZHOU; YU, 2004).

Mais trabalhos foram encontrados na literatura para especiarias, frutas, vegetais e outros alimentos (RESTREPO; CORTÉS; ROJANO, 2010; MELO et al., 2008; STRATIL et

Dissertação de Mestrado

al., 2006; ALOTHMAN;BHAT; KARIM, 2009; LU et al., 2011). Sendo assim nossos resultados foram comparados a cascas, polpas e sementes de frutas tropicais, resíduos de frutas e fibras de coco que usaram o mesmo tipo de padrão (ácido gálico) usado no presente estudo. Estes valores estão descritos na tabela 12.

Tabela 12 - RSA (%) de cascas, sementes, polpas de frutas, fibras de coco.

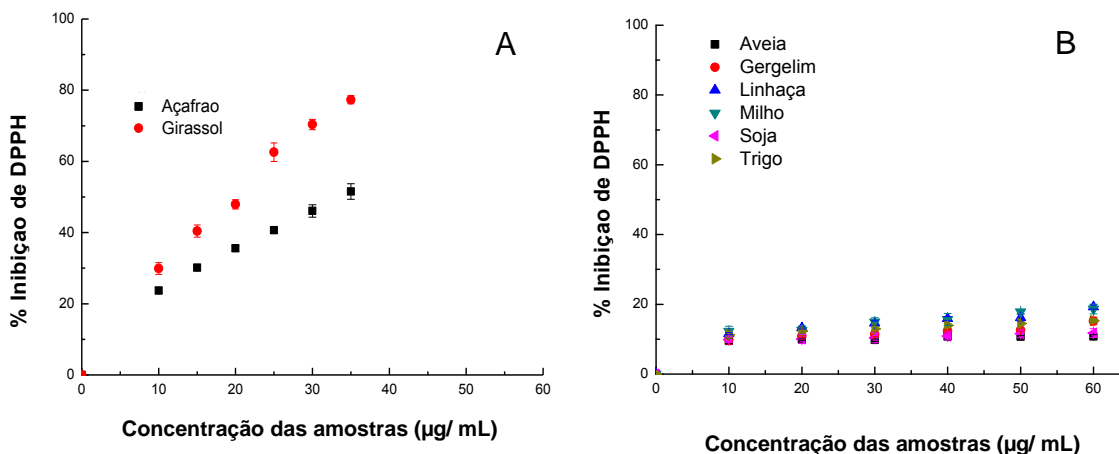
Amostras de cascas, sementes, polpas de frutas, fibras de coco.	Valores de DPPH* (RSA %)	Referências
Polpa de siriguela	6,4 ± 0,4	Omena et al. (2012).
Polpa do jenipapo	10,2 ± 0,4	Omena et al. (2012).
Polpa de umbu	16,1 ± 0,9	Omena et al. (2012).
Semente de siriguela	37,6 ± 1,3	Omena et al. (2012).
Semente de jenipapo	11,6 ± 0,5	Omena et al. (2012).
Semente de umbu	20,8 ± 0,3	Omena et al. (2012).
Casca de umbu	19,7 ± 1,4	Omena et al. (2012).
Casca de jenipapo	15,4 ± 0,7	Omena et al. (2012).
Cascas de siriguela	31,9 ± 0,9	Omena et al. (2012).
Fibras de coco anão amarelo	72,3 ± 5,6	Oliveira et al. (2013).
Fibras de coco gigante	81,7 ± 4,2	Oliveira et al. (2013).
Fibras de coco anão verde	18,2 ± 1,6	Oliveira et al (2013).
Fibras de coco (híbrido)	67,3 ± 0,4	Oliveira et al (2013).
Farinha de resíduos de acerola	28,5	Oliveira (2008).
Farinha de resíduos de abacaxi	12,0	Oliveira (2008).
Farinha de resíduos de maracujá	14,0	Oliveira (2008).

Fonte: Autora, 2014.

A partir da comparação entre as tabelas 11 e 12, nota-se que todos os resultados encontrados no presente trabalho (figura 22), são similares aos resultados encontrados e descritos na tabela 12, exceto as fibras de coco (anão amarelo, gigante e híbrido), pois, estas apresentaram valores bem maiores do que os nossos. Nossos melhores extratos (15 mg L^{-1}) apresentaram valores superiores girassol (44%) e açafão (32%) às farinhas de resíduos de acerola (29%) em 25 mg L^{-1} . O extrato das farinhas de açafão apresentou valor similar a cascas de siriguela.

Para o presente trabalho também foi avaliado a quantidade de antioxidante necessária para diminuir a concentração inicial de DPPH• em 50%, denominada concentração eficiente (EC_{50}) ou concentração inibitória (IC_{50}) (Rodrigues, 2012). Diante dos resultados obtidos, notou-se que os extratos metanólicos que mais se destacaram foram os de açafão ($34,9 \mu\text{g mL}^{-1}$) e girassol ($20,8 \mu\text{g mL}^{-1}$), pois para os extratos de milho, aveia, soja, gergelim e linhaça não foi possível obter o IC_{50} (Figuras 23A e 23B).

Figura 23 - Valores de IC_{50} para os extratos metanólicos de milho, soja, gergelim, trigo, aveia e linhaça (A) e de girassol e açafão (B).



Fonte: Autora, 2014.

De acordo com Rodrigues (2012) quanto maior o consumo de DPPH• por uma amostra, menor o valor de IC_{50} e maior a sua capacidade antioxidante. Sendo assim, pode-se dizer que diante todos os extratos estudados, o extrato de girassol possui maior capacidade antioxidante, pois mesmo sendo usado em pequenas concentrações, ele foi eficiente para reduzir o radical DPPH•.

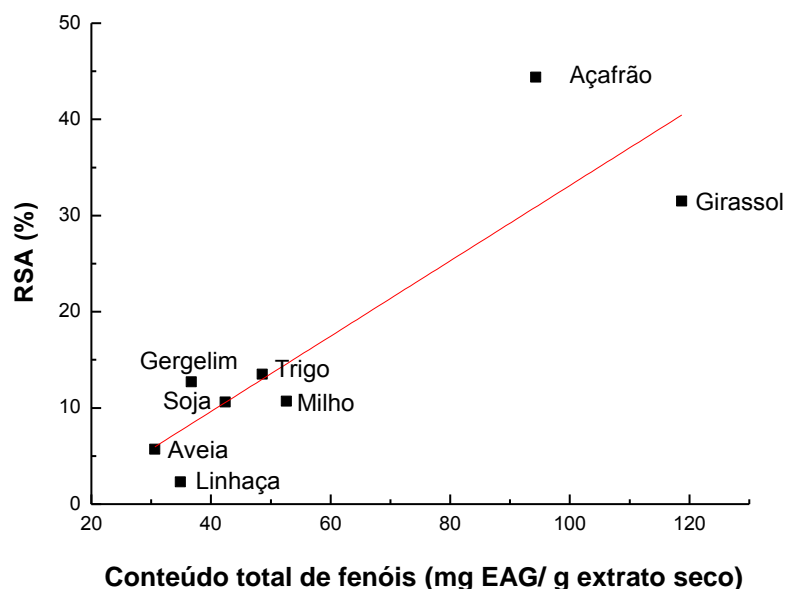
Valores de IC₅₀ foram encontrados na literatura em trabalhos realizados por Kanakis et al. (2009) para compostos isolados de açafrão (*Crocus sativus*) como safranal (95 µg mL⁻¹), crocetina (18 µg mL⁻¹) e dimetilcrocetina (40 µg mL⁻¹).

Outros valores de IC₅₀ foram encontrados para fibras de coco verde anão (59,7 µg mL⁻¹) em trabalho de Oliveira et al. (2013) e para a polpa de noni (40,9 µg mL⁻¹) em estudos feitos por Costa et al. (2013), porém nenhum deles superou nossos resultados (açafrão - 34,9 µg mL⁻¹ e girassol - 20,8 µg mL⁻¹). Já os valores de fibras de coco (anão amarelo 8,6 µg mL⁻¹, gigante 11,0 µg mL⁻¹ e híbrido 9,1 µg mL⁻¹) mostraram valores superiores aos encontrados no presente estudo.

4.3 Correlação entre Conteúdo Total de Fenóis (Folin-Ciocalteu) expressos em EAG/ g extrato seco *versus* a Atividade Sequestradora Frente ao Radical DPPH[•] (%).

De acordo com os resultados obtidos foi feito um estudo de correlação entre o conteúdo total de fenóis com a atividade antioxidante das amostras estudadas. Foi encontrado um coeficiente de correlação (r) forte positivo entre os dois métodos (figura 24), obtendo-se coeficiente com valor significativo igual a 0,85.

Figura 24 - Correlação entre conteúdo total de fenóis (Folin-Ciocalteu) expressos em mg EAG/g extrato seco versus a atividade antioxidante (%) frente ao radical DPPH[•] para os extratos de gergelim, milho, açafrão, trigo, aveia, linhaça, soja e girassol, nas concentrações de 15 mg L⁻¹ (r = 0,85).



Fonte: Autora, 2014.

Diante dos resultados pode-se sugerir que os compostos fenólicos, determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, estejam relacionados, em grande parte, com a atividade sequestradora de radicais dos extratos metanólicos estudados. Oliveira (2008) também afirmou o mesmo em estudos realizados com resíduos de frutas.

Um valor de coeficiente linear, bem menor, (0,34) foi encontrado no trabalho feito por Tiveron (2010) quando os resultados de temperos, legumes e verduras foram comparados. Uma correlação positiva entre o conteúdo total de fenóis e a atividade antioxidante foi encontrada em estudos feitos em variedades de milho, soja, girassol, trigo, gergelim (VELIOGLU et al., 1998; VAHER et al., 2010; SHAHIDI et al., 2006; SILVA *et al.*, 2011; ALVAREZ-JUBETE, 2010).

Em outros estudos, os autores demonstraram que existe uma relação positiva forte entre o conteúdo total de fenóis e a capacidade antioxidante em frutas, hortaliças, temperos, grãos, resíduos e sucos de frutas (MAISUTHISAKUL; SUTTAJIT; PONGSAWATMANIT, 2007; RIBEIRO et al., 2001; LEONG, 2002; VELIOGLU et al., 1998; ABDILLE et al., 2005;

VINSON et al., 1998; SHAN et al., 2005). Kahkonen et al. (1999), afirmam também, que a propriedade antioxidante de vegetais se deve, principalmente, a seus compostos fenólicos.

4.4 Capacidade Antioxidante por meio da Redução de Ferro (FRAP).

Várias são as vantagens para a aplicação deste método como por exemplo: ser de simples execução, ser rápido, de baixo custo e não necessita de equipamentos específicos (KARADAG et al., 2009; PRIOR et al., 2005; BENZIE; STRAIN, 1999).

Desda forma, estudos foram feitos e os extratos metanólicos de gergelim, açafião, linhaça, aveia, soja, girassol, milho e trigo levaram aos seguintes resultados (Tabela 13).

Tabela 13 - Resultados para os extratos metanólicos das farinhas de girassol, açafião, linhaça, aveia, gergelim, milho, trigo e soja obtidos pelo método de FRAP.

Extrato das farinhas	Valores do FRAP ($\mu\text{mol ET/g extrato seco}$)
Linhaça	43 ± 1^d
Milho	99 ± 1^c
Soja	102 ± 6^{cd}
Gergelim	153 ± 14^d
Girassol	1242 ± 34^a
Açafião	945 ± 60^b
Aveia	83 ± 2^{cd}
Trigo	127 ± 6^{cd}

* Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Valores médios de três repetições.

Fonte: Autora, 2014.

De acordo com estes resultados, pode-se dizer que os extratos metanólicos das farinhas de girassol ($1242 \mu\text{mol ET/g extrato seco}$) e de açafião ($945 \mu\text{mol ET/g extrato seco}$) levaram aos melhores resultados dentre todas as amostras, sendo que o extrato da farinha de girassol foi o que mais de destacou. Já os extratos das farinhas de gergelim ($153 \mu\text{mol ET/g extrato seco}$), trigo ($127 \mu\text{mol ET/g extrato seco}$), soja ($102 \mu\text{mol ET/g extrato seco}$), aveia ($83 \mu\text{mol ET/g extrato seco}$) e linhaça ($43 \mu\text{mol ET/g extrato seco}$) apresentaram valores menores (Tabela 13).

Estudos com amostras semelhantes às nossas (girassol, aveia e trigo) foram encontrados e descritos na tabela 14 usando o trolox como padrão, já resultados não foram encontrados para milho, açafraão, gergelim, soja e linhaça.

Tabela 14 - Poder redutor frente aos íons de ferro para amostras semelhantes às do presente trabalho.

Amostras	Valores do FRAP $\mu\text{mol TE/ g}$ extrato seco	Extração	Referências
Cascas de girassol (<i>Helianthus annuus</i> L.).	3 a 16	As cascas estudadas passaram por processo convencional de esmagamento, em seguida foram armazenadas em recipientes fechados no escuro à 25 °C até tratamento e análise.	Szydłowska -Czerniak; Trokowski; Szlyk (2011).
Flocos de aveia	8	As amostras em seu estado natural foram liofilizadas, homogeneizadas e peneiradas segundo Waterman e Mole (1994). A extração foi feita com uma solução aquosa de metanol (1:1, v/ v) de acordo com estudos feitos por Vinson et al. (2001) e Vinson et al. (1998), com algumas modificações.	Stratil; Klejduš; Kuban (2007).
Trigo	4	As amostras em seu estado natural foram liofilizadas, homogeneizadas e peneiradas, segundo Waterman e Mole (1994). A extração foi feita com uma solução aquosa de metanol (1:1, v/ v) de acordo com estudos feitos por Vinson et al. (2001) e Vinson et al. (1998), com algumas modificações.	Stratil; Klejduš; Kuban (2007).
	2 a 15	Trigo sem cascas foram moídos usando	Serpen;

um liquidificador, uma peneira foi usada para obter um pó fino, as amostras foram armazenadas a -20 °C (processo de liofilização) antes da análise.

Fonte: Autora, 2014.

De acordo com estes resultados, percebe-se que todas as amostras encontradas na literatura tiveram valores bem menores aos extratos metanólicos de trigo, açafrão, girassol e aveia, estudados no presente trabalho.

Segundo Michiels et al (2012), Pérez-Jiménez; Saura-Calixto (2006) e Çelik et al (2010), as condições de extração e, principalmente, o solvente podem influenciar bastante os ensaios da capacidade antioxidante em diferentes matrizes alimentares. Outra influência pode ter vindo dos nossos próprios extratos, pois eles são provenientes de farinhas que foram moídas utilizando também as camadas mais externas do grão.

Trabalhos na literatura foram encontrados para as seguintes amostras: aveia, milho, açafrão, trigo e soja, exceto girassol, linhaça e gergelim usando padrões diferentes do nosso trabalho, estes trabalhos podem ser consultados na tabela 15.

Tabela 15: Poder redutor frente aos íons de ferro para amostras semelhantes às do presente trabalho usando padrões diferentes.

Amostras	Valores do FRAP µmol/ g de extrato seco	Extração	Referências
Diversas variedades de sementes de soja	11 a 64***	Feita com acetona (70 %) em 25 °C.	Kumar et al. (2010).
Açafrão (<i>Curcuma longa</i>)	170**	As amostras foram trituradas, após processo de liofilização e colocadas em contato com etanol (80%) em apenas alguns minutos. Descrito por Kahkonen <i>et al</i> (1999), com algumas	Tiveron (2010).

modificações.			
Tipos diferentes de trigo	49 e 12**	Feita com etanol a (70%) a 25 °C durante 3 h com agitação magnética. A mistura foi centrifugada a 4500 rpm durante 10 min.	Dordevic; Marincovic; Brankovic (2010).
Farelo de trigo	8**		
Farinha de trigo	14**		
Trigo após diversos processos de moagem	4 a 26**	Feita com etanol a (70%) a 25 °C durante 3 h sob agitação magnética. A mistura foi centrifugada a 4500 rpm durante 10 min (DORDEVIC <i>et al.</i> , 2010) e o sobrenadante foi utilizado para FRAP.	Aproud; Banu (2012).
Farinhas de trigo diferentes	4 a 35** e 6,6 a 20**	As amostras foram moídas e guardadas em temperaturas baixas. Foram preparados dois tipos de extratos: para o primeiro foi necessário moer e extrair com metanol, sob agitação, durante 15 min a 25 °C, depois centrifugou-se a mistura durante 10 min e daí repetiu-se o processo por três vezes. O segundo extrato foi o resíduo da extração, para isto o resíduo foi digerido com hidróxido de sódio a 25 °C durante 1 h com agitação em nitrogênio. Usou-se ácido acético para ajustar o pH= 3. Os compostos fenólicos foram reconstituídos com água antes da análise, sob agitação, durante 15 min a 25 °C, logo, centrifugou-se por 10	Pellegrini et al. (2006).
Farelo de trigo	15 e 37**		
Farinha integral de aveia	6 e 6**		
Flocos de milho	2 e 11**		
Farinha de milho branco	2 e 11**		
Açafrão	739**		

min, daí repetiu-se a extração por duas vezes.

** Padrão com Fe (II) e ***Padrão não informado.

Fonte: Autora, 2014.

Para fins de comparação, foram encontrados na literatura estudos de cascas, sementes e polpas de frutas, fibras de coco, especiarias e frutas usando o mesmo padrão (trolox) utilizado em nosso trabalho, estes achados estão descritos na tabela 16.

Tabela 16: Capacidade redutora frente aos íons de ferro encontradas na literatura para amostras como: cascas, sementes e polpas de frutas, especiarias, frutas e fibras de coco.

Amostras de cascas, sementes e polpas de frutas, especiarias, frutas e fibras de coco.	Valores do FRAP $\mu\text{mol ET/ g de extrato seco}$	Referências
Goiaba	42	Vasco; Ruales; Kamal-Eldin (2008).
Ameixa, morango, maracujá, manga e tomate	1 a 38	Vasco; Ruales; Kamal-Eldin (2008).
Maracujá-banana	124	Vasco; Ruales; Kamal-Eldin (2008).
Cascas de cereja	118	Vasco; Ruales; Kamal-Eldin (2008).
Casca de tangerina	125 ± 5	Lu et al. (2011).
Fibras de coco verde anão	125 ± 4	Oliveira et al. (2013).
Fibras de coco amarelo anão	2687 ± 154	Oliveira et al. (2013).
Fibras de coco gigante	3286 ± 38	Oliveira et al. (2013).
Fibras de coco (Híbrido)	2464 ± 21	Oliveira et al. (2013).
Mostarda	94 ± 1	Lu et al. (2011).
Gengibre	158 ± 2	Lu et al. (2011).
Pimenta de Sichuan	462 ± 8	Lu et al. (2011).
Pimenta branca e Pimenta (Capsicum annum).	38 - 39	Lu et al. (2011).
Cascas, polpas e sementes de umbu, genipapo e siriguela	1 – 9	Omena et al. (2012).

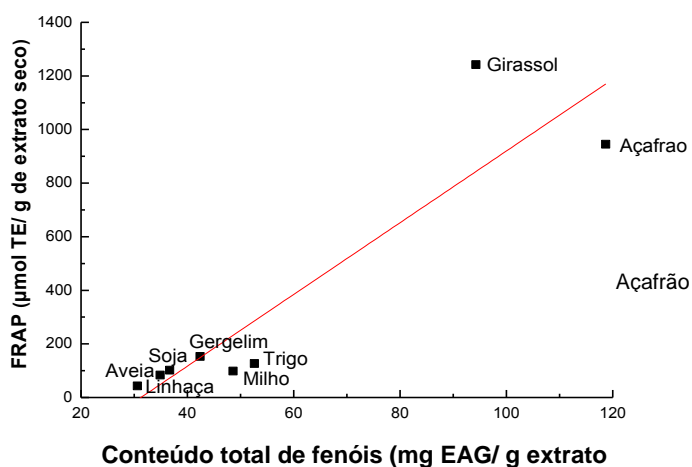
Fonte: Autora, 2014.

A comparação entre as tabelas 13 e 16 permite observar que os extratos metanólicos de gergelim, soja, aveia, linhaça e açafão tiveram valores semelhantes ou maiores ao encontrados na tabela 16 para frutas, cascas de frutas e especiarias, exceto para a pimenta de Sichuan. Nota-se também que as fibras de coco (OLIVEIRA et al., 2013) foram as únicas amostras que superaram os valores dos nossos melhores extratos (açafão e girassol). Já valores bem menores aos nossos foram encontrados para cascas, sementes e polpa de frutas, frutas e especiarias em trabalhos de Omena et al. (2012), Lu et al. (2011) e Vasco et al. (2008).

Outros trabalhos na literatura foram encontrados para frutas, cascas de frutas, óleos de cereais, grãos, legumes, vegetais, sementes, sementes de frutas, especiarias e alimentos diversos (RESTREPO et al., 2010; STRATIL et al., 2006; MARATHE et al., 2011; ALOTHMAN et al., 2009; PELEGRINI et al., 2006; SOONG; BARLOW, 2004; LU et al., 2011), porém, os trabalhos não foram apresentados nas tabelas mencionadas acima (tabelas 14 e 16), devido aos padrões terem sido diferentes do nosso trabalho.

De acordo com os resultados obtidos para FRAP foi feito um estudo de correlação entre o conteúdo total de fenóis (Folin-Ciocalteu) *versus* FRAP das amostras estudadas. Sendo assim, foi encontrada uma correlação forte positiva entre os dois métodos (figura 25) obtendo-se coeficiente com valor significativo igual a 0,89.

Figura 25 - Correlação entre conteúdo total de fenóis (Folin-Ciocalteu) expressos em $\mu\text{mol ET/g}$ extrato seco *versus* capacidade redutor frente aos íons de ferro para os extratos de gergelim, milho, açafão, trigo, aveia, linhaça, soja e girassol, nas concentrações de 15 mg L^{-1} ($r = 0,89$).



Fonte: Autora, 2014.

Diante dos resultados, pode-se sugerir que os compostos fenólicos, determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, estejam relacionados, em grande parte, com os resultados de FRAP dos extratos metanólicos estudados. Correlação positiva também foi encontrada em estudos realizados por Lima (2011) entre a capacidade de redução dos íons de ferro e o conteúdo total de fenóis.

4.5 Capacidade Antioxidante por meio da Redução de Cobre (CUPRAC).

Este método apresenta certas vantagens em relação ao FRAP, uma destas é medir a capacidade antioxidante em pH fisiológico, 7,0, de modo que melhor simule a ação fisiológica destes antioxidantes (APAK et al., 2004; OZYUREK et al., 2011; GORINSTEIN et al., 2006). Para o presente trabalho, isto é de suma importância, pois como as amostras são farinhas provenientes de cereais, sementes, leguminosas e especiarias, elas poderão ser usadas na alimentação humana contra o estresse oxidativo.

Outra vantagem do método é que além dele ser de baixo custo, simples, ele pode ser versátil, ou seja, pode ser aplicável para ambos antioxidantes hidrofílicos e lipofílicos, diferentemente do método de FRAP que tem o complexo de Fe^{3+} TPTZ com maior afinidade para a fase aquosa (devido à interação íon - dipolo com as moléculas de água do solvente) do que solventes orgânicos (APAK et al., 2005), limitando assim a determinação de antioxidantes lipofílicos, especialmente no plasma humano (OZYUREK et al., 2011; APAK et al., 2004; APAK et al., 2005; GUÇLU et al., 2005; GUÇLU et al., 2006; OZUREK et al., 2007; APAK et al., 2006). Para nossos estudos, os extratos metanólicos de gergelim, açafraão, linhaça, aveia, soja, girassol, milho e trigo foram analisados, obtendo-se os resultados listados na Tabela 17.

Tabela 17: Resultados para os extratos metanólicos de girassol, açafião, linhaça, aveia, gergelim, milho, trigo e soja obtidos por CUPRAC.

Extratos das farinhas	Valores do CUPRAC ($\mu\text{mol TE/g extrato seco}$)
Linhaça	325 ± 74^e
Milho	583 ± 44^c
Soja	597 ± 14^c
Gergelim	481 ± 14^d
Girassol	1668 ± 42^a
Açafião	1738 ± 51^a
Aveia	652 ± 49^{cd}
Trigo	856 ± 67^b

* Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Valores médios de três repetições.

Fonte: Autora, 2014.

De acordo com os resultados apresentados na tabela 17, os extratos metanólicos das farinhas de açafião ($1738 \mu\text{mol TE/g extrato seco}$) e de girassol ($1668 \mu\text{mol TE/g extrato seco}$) foram o que mais se destacaram dentre todas as amostras, sem diferença significativa entre elas ($p > 0,05$). Já em relação ao menor valor encontrado, o extrato da farinha de linhaça ($325 \mu\text{mol TE/g extrato seco}$) foi o único significativamente inferior. Valores intermediários foram encontrados para os extratos das farinhas de trigo ($856 \mu\text{mol TE/g extrato seco}$), aveia ($652 \mu\text{mol TE/g extrato seco}$), milho ($583 \mu\text{mol TE/g extrato seco}$), soja ($597 \mu\text{mol TE/g extrato seco}$) e gergelim ($481 \mu\text{mol TE/g extrato seco}$) (Tabela 17).

Para fins de comparação, pode-se perceber que os valores de CUPRAC foram maiores para todas as amostras estudadas, em relação aos valores de FRAP, isto pode ter ocorrido devido ao método CUPRAC poder medir simultaneamente antioxidantes hidrofílicos e lipofílicos, como mencionado acima, ao contrário de Folin-Ciocalteu, DPPH e FRAP (APAK et al., 2008; APAK et al., 2004; APAK et al., 2005; HUANG et al., 2005; BENZIE; STRAIN., 1996; GORINSTEIN et al., 2006; CAPANOGLU et al., 2008).

O mesmo não ocorre com o método FRAP, pois sua reação é lenta e o complexo de Fe^{3+} TPTZ tem mais afinidade com a fase aquosa (devido à interação íon-dipolo com as moléculas de água do solvente) do que solventes orgânicos (APAK et al., 2005), o que limita

a determinação de antioxidantes lipofílicos, especialmente no plasma humano (OZYUREK et al 2011). De acordo com isto pode-se dizer que os valores de CUPRAC foram maiores devido à sensibilidade do método para medir antioxidantes lipofílicos presentes nos extratos estudados. Esta sensibilidade do reagente usado em CUPRAC faz com que o método tenha maior vantagem em relação ao método FRAP (FRUHWIRTH et al., 2006).

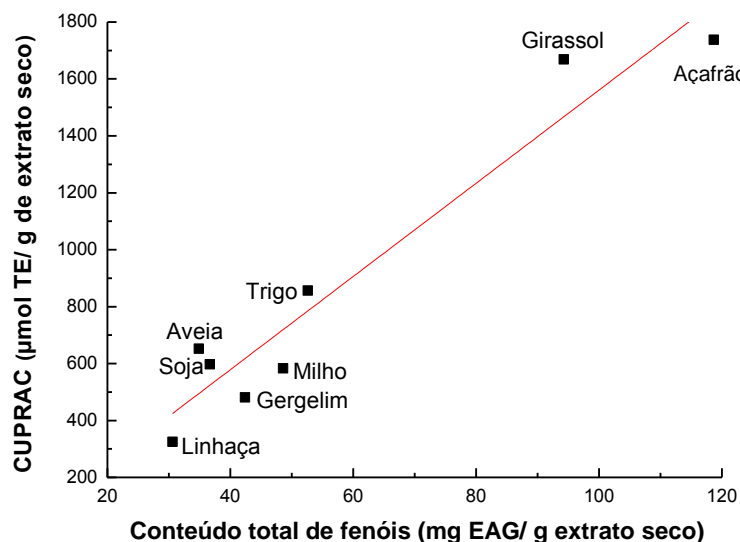
Outro motivo que justifica os altos valores de CUPRAC é a sua seletividade, rapidez e eficiência em reagir com antioxidantes que possuem grupos tióis, como a glutatona (GSH), diferentemente do método de FRAP, que não é sensível a todos os antioxidantes, como por exemplo, a GSH, um importante antioxidante *in vivo* (KARADAG et al., 2009; APAK et al., 2006; BENZIE; STRAIN, 1996; CELIK et al., 2007; GORINSTEIN et al., 2006; APAK et al., 2004; APAK et al., 2005; OZYUREK et al., 2011; OZYUREK et al., 2007; GUÇLU et al., 2005; GUÇLU et al., 2006).

Outros pesquisadores afirmam que o método de FRAP além de não mensurar tióis, também não consegue detectar proteínas e carotenóides (OU et al., 2002; PULIDO et al., 2000). Apak et al. (2007) enfatizam que neste método, não ocorre oxidação completa de certos ácidos hidroxicinâmicos e flavonóides, dentro do tempo estabelecido.

Ozyurek et al. (2011) enfatizam também que além da GSH, o método CUPRAC é capaz de responder a todos os tipos de antioxidantes biologicamente importantes, como por exemplo, ácido ascórbico, α -tocoferol, β -caroteno, GSH redutase, ácido úrico, bilirrubina e todos os tipos de antioxidantes alimentares como: os flavonóides, fenólicos simples e ácidos hidroxicinâmicos, independentemente do tipo de produto químico ou sua hidrofiliabilidade. O método CUPRAC também demonstrou ser útil para a determinação de antioxidantes em plasma e tióis de proteínas, e pode apresentar boas perspectivas de aplicabilidade na química medicinal, envolvendo o diagnóstico, tratamento e acompanhamento de doenças ligadas ao estresse oxidativo (OZYUREK et al., 2011).

De acordo com os resultados obtidos para CUPRAC, foi feito um estudo de correlação entre o conteúdo total de fenóis, utilizando o método de Folin-Ciocalteu *versus* CUPRAC das amostras estudadas. Sendo assim, foi encontrada uma correlação forte positiva entre os dois métodos (Figura 26), obtendo-se coeficiente com valor significativo igual a 0,96.

Figura 26 - Correlação entre conteúdo total de fenóis (Folin-Ciocalteu) expresso em $\mu\text{mol TE/g}$ extrato seco *versus* capacidade redutora (%) frente aos íons de cobre para os extratos de gergelim, milho, açafão, trigo, aveia, linhaça, soja e girassol, nas concentrações de 15 mg L^{-1} ($r = 0,96$).



Fonte: Autora, 2014.

Diante dos resultados, pode-se sugerir que os compostos fenólicos, determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, estejam relacionados, em grande parte, com os resultados de CUPRAC dos extratos metanólicos estudados.

4.6 Avaliação das Amostras como Inibidores da Peroxidação Lipídica

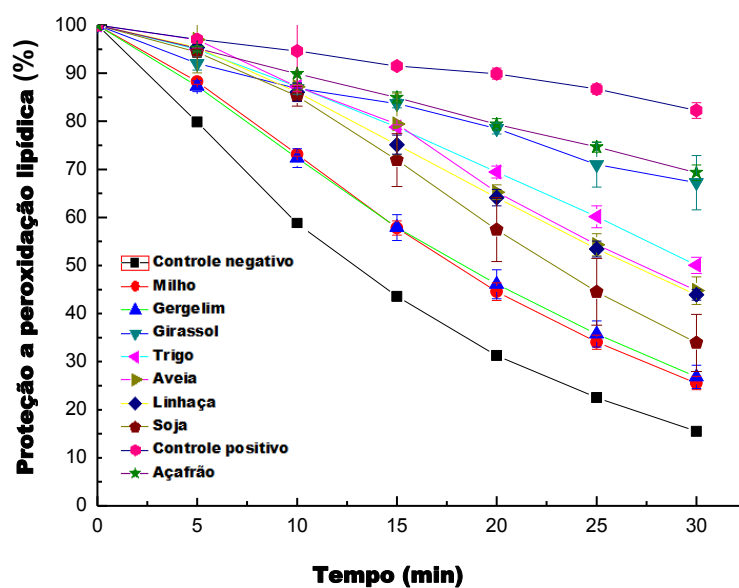
O efeito protetor com antioxidantes contra a peroxidação lipídica foi extensivamente estudada por Niki (2010). De acordo com Ferreira et al. (2013), a capacidade de eliminação de radicais livres por meio de antioxidantes não necessariamente, se correlaciona com a peroxidação lipídica, por este motivo, foi essencial avaliar também o efeito de proteção dos extratos metanólicos estudados contra a peroxidação lipídica.

A capacidade antioxidante foi avaliada usando o radical peroxila para provocar a peroxidação lipídica em uma membrana padrão (lipossoma unilamelar de lecitina de soja), ancorada a uma sonda fluorescente ($\text{C}_{11}\text{-BODIPY}^{581/591}$) sensível a este radical (OLIVEIRA et al., 2013; FERREIRA et al., 2013). Este sistema de quebra de lipossoma induzido por radicais é bastante usado para estudar o dano oxidativo à membrana e a proteção desta por antioxidantes (FERREIRA et al., 2013). Sendo assim, após a adição de uma espécie redutora,

ou seja, um antioxidante observou-se um menor decaimento da fluorescência. Isto significa que a membrana foi protegida e o antioxidante reagiu com as espécies reativas presentes no meio, preservando o lipossomo (NAGUIB, 1998).

Diante dos estudos realizados, obteve-se um gráfico (figura 27) que mostra a porcentagem (%) de proteção à membrana celular dos oito extratos metanólicos (10 mg L⁻¹) em função do tempo (tempo total de 30 min), em comparação com o controle positivo (trolox) e o controle negativo (tampão fosfato e metanol). Lipossomas com C₁₁-BODIPY^{581/591} e AAPH (gerador de radical peroxila) foram adicionados em todos os casos.

Figura 27 - Proteção contra a peroxidação lipídica provenientes de extratos metanólicos de gergelim, açafrão, soja, milho, linhaça, girassol, trigo e aveia (10 mg/L), controle positivo (trolox) e controle negativo (tampão fosfato e metanol). Lipossoma mais C₁₁-BODIPY^{581/591} foram adicionados em todos os experimentos.



Fonte: Autora, 2014

Por meio dos estudos de peroxidação lipídica *in vitro*, os extratos metanólicos que tiveram melhor desempenho em proteger a membrana foram os extratos de açafrão (69,5%) e de girassol (67,5%). Eles tiveram maior poder de inibição frente ao radical peroxila em relação a todos os extratos estudados, em tempo reacional, em torno de 30 min. Já os extratos metanólicos de milho e gergelim mostraram o pior desempenho em relação aos outros extratos, proporcionando pouco mais de 25,5% de proteção. Valores intermediários de

proteção à peroxidação lipídica foram encontrados para os extratos de soja, linhaça, aveia e trigo (33,8 a 49,8%).

Os extratos estudados de açafrão e de girassol, juntamente com os outros extratos metanólicos de gergelim, trigo, soja, milho, linhaça e aveia não forneceram resultados tão bons quanto o do controle positivo (trolox), usado neste trabalho como padrão, que proporcionou 82,3% de proteção em 30 min de reação. Sendo assim, pode-se dizer que todas as amostras protegeram a membrana, sendo que, os melhores resultados foram encontrados para os extratos metanólicos de açafrão e de girassol. Deve-se salientar também que dentre todos os extratos metanólicos estudados o girassol e o açafrão mostraram um desempenho similar aos resultados obtidos para os métodos DPPH[•], FRAP e CUPRAC.

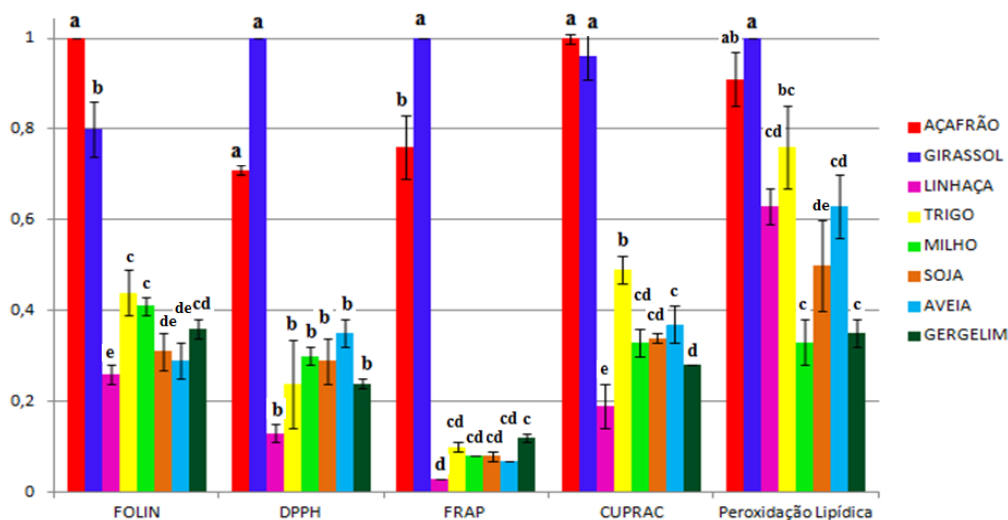
Ao fazer um estudo de comparação com dados encontrados na literatura, percebeu-se que os valores da proteção à peroxidação lipídica (30 min de experimento), obtidos no presente trabalho, foram superiores ao valor encontrado para a farinha de resíduo de abacaxi (OLIVEIRA et al., 2009; OLIVEIRA; 2008) que obteve em torno de 15% de proteção a membrana em 30 min de experimento. Nossos valores também foram superiores aos de polpas, sementes e cascas de frutas (genipapo, siriguela e umbu) que obtiveram entre 8 a 53% de proteção em 30 min em trabalho realizado por Omena et al. (2012). Já outras amostras como: fibras de coco (82 a 100%), farinhas de resíduos de acerola e maracujá (85 a 88%) e cascas e sementes de siriguela (95 a 98%) apresentaram valores superiores aos nossos (OLIVEIRA et al., 2013; OMENA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2009; OLIVEIRA., 2008).

4.7 Comparação entre os métodos FOLIN, DPPH[•], FRAP E CUPRAC.

A comparação intragrupo dos resultados foi realizada considerando a atividade mais elevada como 100%, em cada ensaio (cada coluna), a fim de normalizar os dados (Figura 28). As proporções são mostradas como percentagem para cada extrato estudado.

Ao fazer uma observação intergrupar, percebe-se que dentre todos os extratos estudados, o girassol e o açafrão se destacaram, porém o girassol foi o que obteve o melhor e mais significativo resultado, na maioria dos casos, em relação a todas as amostras estudadas.

Figura 28 – Atividades normalizadas dos extratos, em relação a cada teste antioxidante. A atividade mais elevada foi considerada de 100%, e os outros valores correspondem a uma percentagem relativa de atividade. Dentro de cada coluna, as médias indicadas com a mesma letra não são significativamente diferentes para este teste ($p < 0,05$).



Fonte: Autora, 2014.

De acordo com Tomei et al. (2007) para se fazer determinações mais precisas e confiáveis, os dados obtidos com o método indireto (Folin-Ciocalteu, FRAP e CUPRAC) devem ser regularmente correlacionados com os dados obtidos por métodos diretos (peroxidação lipídica).

Sendo assim, foi feito o estudo de correlação entre todos os métodos utilizados para avaliar a capacidade antioxidante. A tabela 18 mostra resultados da análise de correlação de Pearson. Todos os ensaios mostraram uma boa correlação, mostrando significância estatística de 0,01.

Tabela 18 - Coeficientes de correlações de Pearson entre os métodos.

	FOLIN	FRAP	CUPRAC	DPPH [•]	Peroxidação Lipídica
FOLIN	1,0000	0,9032*	0,9570*	0,8630*	0,7140
FRAP	-	1,0000	0,9443*	0,9634*	0,7926
CUPRAC	-	-	1,0000	0,8915*	0,8201
DPPH	-	-	-	1,0000	0,6990
Peroxidação Lipídica	-	-	-	-	1,0000

Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2014.

As correlações positivas entre a capacidade antioxidante e o conteúdo total de fenóis indicam que os compostos fenólicos têm um papel importante na capacidade antioxidante de todos os extratos estudados. As magnitudes dos coeficientes de correlação foram classificadas conforme CARVALHO et al. (2004) onde: $r = 0$ (nula); $0 < |r| \leq 0,30$ (fraca); $0,30 < |r| \leq 0,60$ (média); $0,60 < |r| \leq 0,90$ (forte); $0,90 < |r| \leq 1$ (fortíssima) e $|r| = 1$ (perfeita). Pode-se dizer então que os resultados forneceram coeficientes de correlação com magnitudes forte e fortíssima. Isto sugere que todos os ensaios são recomendáveis para avaliar a capacidade antioxidante nos extratos metanólicos estudados.

4.8 Considerações finais

De acordo com estudos realizados para determinar o conteúdo total de fenóis, pode-se dizer que as farinhas de açafrão e girassol foram as que forneceram os maiores resultados. Já as farinhas de gergelim, soja, aveia e linhaça foram as que tiveram menores conteúdos totais de fenóis.

Ao determinar a capacidade redutora de todas as farinhas, pode-se perceber que a farinha de girassol foi a que apresentou maior atividade, seguida da farinha de açafrão em análises de capacidade antioxidante frente ao radical DPPH[•], para esta análise o pior desempenho foi da farinha de aveia e linhaça. Os resultados de IC₅₀ indicaram maior capacidade antioxidante para a farinha de girassol, seguida da farinha de açafrão. Para as outras não foi possível o cálculo. Quanto aos resultados de FRAP e CUPRAC percebeu-se que dentre todas as farinhas estudadas, a que mais se destacaram foram as farinhas de açafrão e de girassol em ambos os casos, já o extrato de linhaça apresentou o pior desempenho frente

aos íons de cobre. Diante de todos os resultados, pode-se dizer que todas as farinhas estudadas apresentaram capacidade antioxidante.

Para os estudos de peroxidação lipídica *in vitro* a farinha de açafão e girassol foi a que demonstrou maior poder de inibição frente ao radical peroxila em relação a todas as farinhas estudadas. Já as farinhas de milho e gergelim mostraram o pior desempenho para esta análise.

Em relação aos resultados do estudo de correlação entre Folin-Ciocalteu *versus* DPPH[•], Folin-Ciocalteu *versus* FRAP e Folin-Ciocalteu *versus* CUPRAC, houve correlação positiva entre todos os estudos realizados. Diante destes resultados pode-se dizer que quanto maior o conteúdo total de fenóis maior é a capacidade antioxidante das farinhas.

Quanto à comparação feita entre todos os métodos estudados, a observação intergrupar mostrou que as farinhas de girassol e açafão foram as que forneceram os melhores e mais significativos resultados, sendo que a farinha de girassol se destacou como a melhor dentre todas as farinhas estudadas.

Por fim, observou-se que a correlação de Pearson mostrou correlação positiva com magnitudes forte e fortíssima, entre todos os métodos utilizados para avaliar a capacidade antioxidante das farinhas estudadas. Isto indica que todos os métodos estudados são recomendáveis para avaliar a capacidade antioxidante destas farinhas.

CONCLUSÃO

Diante de todos os resultados obtidos, evidenciou-se que as farinhas de girassol e açafreão mostraram alto conteúdo em antioxidantes, sendo, portanto, fontes relevantes de nutracêuticos, podendo, ainda, ser aplicadas como preservativos em formulações de alimentos.

5 PERSPECTIVAS

Realizar estudos de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) visando caracterização dos compostos ativos presentes nas amostras. Realizar estudos eletroquímicos através das técnicas de Voltametria Cíclica (VC) e Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) com o objetivo de quantificar os compostos responsáveis pela capacidade antioxidante.

Realizar estudos eletroquímicos da capacidade antioxidante por meio do método de FRAP modificado.

Realizar análises microbiológicas, toxicológicas visando obter melhor tempo de armazenamento e conservação destas farinhas em prateleiras.

Realizar análises da presença de agrotóxicos nas farinhas estudadas visando oferecer um produto seguro para o consumo da população.

Determinar quantidade de fibras, taninos e fitatos em todas as farinhas, visto que a presença destes compostos pode diminuir a biodisponibilidade de nutrientes importantes da farinha.

Desenvolver produtos ou preparações utilizando as farinhas e avaliar a aceitação dos mesmos, frente ao consumidor.

Fazer estudos *in vivo*, em animais e posteriormente em humanos, para avaliar as ações antioxidantes em meios biológicos.

REFERÊNCIAS

- ABDILLE, M. et al. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. **Food Chemistry**, 90, 891-896, 2005.
- ADEL A.A. et al. Antioxidant potential of sesame (*Sesamum indicum*) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. **Industrial Crops and Products**, 34, 952– 959, 2011.
- ADOM, K. K; LIU, R. H. Antioxidant activity of grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, 6182-6187, 2002.
- ADOM, K.K., SORRELLS, M.E., LIU, R.H. Phytochemicals and antioxidant activity of milled fractions of different wheat varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53, 2297-2306, 2005.
- AGGARWAL, B. B; KUMAR, A; BHARTI, A. C. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. **Anticancer Research**, 23, 363-398, 2003.
- ALMEIDA-DORIA, R. F; REGITANO, M. A. B. Antioxidant activity of rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 20, 197-203, 2000.
- ALOTHMAN, M; BHAT, R; KARIM, A. A. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia extracted with different solvents. **Food Chemistry** 115, 785-788, 2009.
- ALVAREZ-JUBETE, L. et al. Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. **Food Chemistry**, 119, 770-778, 2010.
- ANDERSON, J. W; MAJOR, A. W. Pulses and lipaemia, shortand long-term effect: Potential in the prevention of cardiovascular disease. **British Journal of Nutrition** (Suppl. 3), 263– 271, 2002.
- ANDREASEN, M. F. et al. Content of phenolic acids and ferulic acid dehydrodimers in 17 rye (*Secale cereale* L.) varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48, 2837-2842, 2000.
- ANJO, D. L. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**. v. 3, n. 2, p. 145-154, 2004.
- ANTOLOVICH, M et al. Methods for testing antioxidant activity. Critical review – **The Analyst. School of Science and Technology**, 588, 2678, 2001.
- ANVISA. Resolução RDC de 15 de janeiro de 2007. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: novembro de 2008.

APAK, R. et al. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52, 26, 7970-7981, 2004.

APAK, R. et al. Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II) – neocuproine as chromogenic oxidant: The CUPRAC method. **Free Radical Research**, 39, 949-961, 2005.

APAK, R. et al. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. **International Journal of Food Science and Nutrition**, 57, 5-6, 292-304, 2006.

APAK, R. et al. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. **Molecules**, 12, 7, 1496-1547, 2007.

APAK, R. et al. Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) assay. **Microchimica. Acta**, 160, 413, 2008.

APRODU, J; BANU, J. Antioxidant properties of wheat mill streams. **Journal of Cereal Science**, 56, 189-195, 2012.

ARAÚJO, C. A. C; LEON, L. L. Biological activities of *Curcuma longa* L. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 96, 723-728, 2001.

ASSIMOPOULOU, A. N; SINAKOS, Z; PAPAGEORGIOU, V. P. Radical Scavenging Activity of *Crocus sativus* L. extract and its bioactive constituents. **Phytotherapy Research, Chichester**, 19, 11, 997-1000, 2005.

AZZI, A. Oxidative stress: A dead end or a laboratory hypothesis? **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 362, 2, 230-232, 2007.

BAPTISTA, G. A. C; ODORISSI, A. A. X; NEVES, L. C; BENASSI, M. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura** 32, 4, 1196-1205, 2010.

BARREIROS, A. L. B. S; DAVID, J. M; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, 29, 1, 113-123, 2006.

BELTRÃO, N. E. M.; VIEIRA, D. J. O agronegócio do gergelim no Brasil. Brasília. **Embrapa Informação Tecnológica**, 348, 121-160, 2001.

BRENNAN, O. V AND PAGLIARINI, E. Multivariate analysis of antioxidant power and polyphenolic composition in red wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 49, 10, 4841-4844, 2001.

CADENAS E. Biochemistry of oxygen toxicity. **Annual Reviews of Biochemistry**, 58, 79–110, 1989.

CAI et al. Antiproliferation and apoptosis induced by curcumin in human ovarian cancer cells. **Dissertação de Mestrado**

Cell Biology International, 30, 221-226, 2006.

CARVALHO, F. I. F. DE; LORENCETTI, C; BENIN, G. Estimativas e implicações da correlação no melhoramento vegetal. **Pelotas: Ed. Universitária da UFPEL**, 142, 2004.

CAROCHO, M; FERREIRA, I. C. R. F. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, 51, 15-25, 2013.

CAO, L. et al. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant properties of *Mosla chinensis* Maxim. **Food Chemistry**, 115, 3, 801-5, 2009.

CAPANOGLU, E. et al. Changes in antioxidant and metabolite profiles during production of tomato paste. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56, 3, 964-973, 2008.

CÉSAR, I. C. C. et al. Determinação de daidzeína, genisteína e gliciteína em cápsulas de isoflavonas por cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 17, 4, 616-625, 2007.

CEVALLOS-CASALS; CISNEROS-ZEVALLOS. Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. **Food Chemistry**, 119, 1485–1490, 2010.

CICCO, N. et al. A reproducible, rapid and inexpensive Folin–Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. **Microchemical Journal**, 91, 107–110, 2009.

CHEN, P.R. et al. Dietary sesame reduces serum cholesterol and enhances antioxidant capacity in hypercholesterolemia. **Nutrition Research**, 25, 559-567, 2005.

CHENG, Z. et al. Effects of post harvest treatment and heat stress on availability of wheat antioxidants. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 54, 5623–5629, 2006.

CHOI, M. S; RHEE, K. C. Production and processing of soybeans and nutrition and safety of isoflavone and other products for human health. **Journal of Medicinal Food**, 9, 1, 1-10, 2006.

CLARKSON, P. M; THOMPSON, H. S. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? **American Journal of Clinical Nutrition**, 72, 2, 637-46, 2000.

COCHRAN, V. L; ELLIOT, L. F; PAPENDICK, R. I. The production of phytotoxins from surface crop residues. **Soil Science Society of America Journal**, 41, 903-908, 1977.

COLLINS, F. C; CAVINESS, C. E. Growth of soybeans on wheat straw residue. **Soil Science Society of America Journal** 70, 92, 1978.

CORDEIRO, R; FERNADES, P. L; BARBOSA, L. A. Semente de linhaça e o efeito de seus

compostos sobre as células mamárias. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 19, 3, 727-732, 2009.

COLLINS, F.W. Oat phenolics: avenanthramides, novel substituted N-cinnamoylanthranilate alkaloids from oat groats and hulls. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 37, 1, 60–66, 1989.

COUTO; WICHMANN. Efeitos da farinha da linhaça no perfil lipídico e antropométrico de mulheres. **Alim. Nutr.** Araraquara, 22, 4, 601-608, 2011.

DE LEONARDIS, A; MACCIOLA, V; DI DOMENICO, N. A first pilot study to produce a food antioxidant from sunflower seed shells (*Helianthus annuus*). **European Journal of Lipid Science and Technology**, 107, 220–227, 2005.

DE LEONARDIS, A; MACCIOLA, V; DI ROCCO, A. Oxidative stabilization of coldpressed sunflower oil using phenolic compound of the same seed. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 83, 523–528, 2003.

DEVI, M. K. A. et al. Functional attributes of soybean seeds and products, with reference to isofl avone content and antioxidant activity. **Food Chemistry**, 114, 3, 771-6, 2009.

DICIONÁRIO Aurélio Online. Disponível em:
<<http://www.dicionariodoaurelio.com/Grao.html>>. Acesso em 15 de Mar. 2014.

DICIONÁRIO Aurélio Online. Disponível em:
<<http://www.dicionariodoaurelio.com/Semente.html>>. Acesso em 15 de Mar. 2014.

DICIONÁRIO Aurélio Online. Disponível em:
<<http://www.dicionariodoaurelio.com/Tuberculo.html>>. Acesso em 15 de Mar. 2014.

DIXON, R. A. Phytoestrogens. **Annual Review of Plant Biology**, 55, 225-61, 2004.

DORDEVIC, T.M; MARINCOVIC, S.S; BRANKOVIC, S.D. Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo cereals. **Food Chemistry**, 119, 957-963, 2010.

DORKO, C. Antioxidants used in foods. **Food Technology**, 48, 4, 33-33, 1994.

DRUMMEN, G. P. C. et al. C11-Bodipy^{581/591}, an oxidation-sensitive fluorescent lipid peroxidation probe: (micro) spectroscopic characterization and validation of methodology. **Free Radical Biology & Medicine**, 33, 4, 473-490, 2002.

EMBRAPA, 2008. Tecnologia de Produção do Girassol. Exigências climáticas. Disponível em: <<http://www.cnpq.embrapa.br/producaogirassol/exigencias.htm>>. Acesso em 20 jul. 2010.

EPAMINONDAS, P. S. **Caracterização físicoquímica e termo-oxidativa das sementes de**

linhaça (*Linum usitatissimum* L.) e de seus óleos. 2009. Dissertação de Mestrado (Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade federal da Paraíba, 2009.

FERRARI, C. K. B. Functional foods, herbs and nutraceuticals: towards biochemical mechanisms of healthy aging. **Biogerontology**, 5, 5, 275-9, 2004.

FERREIRA F. R. **Emprego de técnicas avançadas em estudos bioeletroquímicos de substâncias de interesse biológico.** 2013. Tese (Doutorado em Química e Biotecologia) – Universidade Federal de Alagoas, 2013.

FERREIRA, F. R. et al. Antioxidant activity of the mangiferin inclusion complex with β -cyclodextrin. **LWT – Food Science and Technology**, 51, 129-134, 2013.

FILHO, C. A. B. **Época e densidade de plantio sobre a fenologia e o rendimento da curcuma (*Curcuma longa* L.).** 1996. 100 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 1996.

FIRMINO, P.T. Valor protéico do grão, importância na alimentação humana e aplicações na fitoterapia e fitocosmética. In: BELTRÃO, N.E. M.; VIEIRA, D.J. (Ed.). **O agronegócio do gergelim no Brasil.** Brasília. Embrapa Informação Tecnológica; Campina Grande: Embrapa Algodão, 303-325, 2001.

FINKEL, T; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the the biology of ageing. **Nature**, 408, 6809, 239-247, 2000.

FINCHER, G. B; STONE, B. A. Advances in cereal science and technology. **American Association of Cereal Chemistry**, 1987.

FRANKEL, E. N; GERMAN, J. B. Antioxidants in foods and health: problems and fallacies in the field. **Journal of Science of Food and Agriculture**, 86, 13, 1999-2001, 2006.

FRAZONI, M. P. **Atividade antioxidante de extratos aquosos de sementes de variedades do gênero *Vitis* (uva) provenientes de resíduos de vinificação.** 2005. 51. (Dissertação de Mestrado), Caxias do Sul: UCS, 2005.

FRIDOVICH, I. Superoxide dismutases. An adaptation to a paramagnetic gas. **Journal of Biological chemistry**, 264, 14, 7764-7764, 1989.

FOTI, M. C; DAQUINO, C; GERACI, C. Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH radical in alcoholic solutions. **Journal of Organic Chemistry**, 69, 2309-2314, 2004.

FUKUDA, Y. et al. Chemical aspects of the antioxidative activity of roasted sesame seed oil and the effect of using the oil for frying. **Agricultural and Biological Chemistry**, 50, 4, 857-862, 1986.

GARDNER, P. T. et al. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. **Food Chemistry**, 68, 4, 471-474, 2000.

Dissertação de Mestrado

- GREEN, K; BRAND, M. D; MURPHY, M. P. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. **Diabetes**, 53, 1, 110-8, 2004.
- GODMAN, M. et al. Clinical trials of antioxidants as cancer prevention agents: past, present and future. **Free Radical Biology and Medicine**, 51, 1068–1084, 2011.
- GOEL, A; KUNNUMAKKARA, A. B; AGGARWAL, B. B. Curcumin as “Curecumin”: From kitchen to clinic. **Biochemical Pharmacology**, 75, 787-809, 2008.
- GOMES, I. F. et al. Papel dos compostos bioativos da linhaça (*Linum usitatissimum* L.) no câncer. **Nutrição Brasil**, 11, 1, 2012.
- GORINSTEIN, S. et al. Supplementation of garlic lowers lipids and increases antioxidant capacity in plasma of rats. **Nutrition Research**, 26, 362, 2006.
- GOVINDARAJAN, V.S. Turmeric: chemistry, technology and quality. **Critical Review Food Science Nutrition**, 12, 3, 199-301, 1980.
- GUÇLU, K. et al. Spectrophotometric determination of ascorbic acid using copper (II)-neocuproine reagent in beverages and pharmaceuticals. **Talanta**, 65, 5, 1226-1232, 2005.
- GUÇLU, K. et al. Antioxidant capacity of fresh, sun- and sulphited-dried Malatya apricot (*Prunus armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/ TEAC and Folin methods. **International Journal Of Food Science and Technology**, 41, 76-85, 2006.
- GUENZI, W.D; MCCALLA, T.M. Inhibition of germination and seedling development by crop residues. **Soil Science Society**, 26, 456-458, 1962.
- GULÇIN, I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. **Life Sciences**, 78, 8, 803-811, 2006.
- GUTTERIDGE, J. M. C. Free-Radicals in Disease Processes – A compilation of cause and consequence. **Free Radical Research Communications**, 19, 3, 141-158, 1993.
- HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine. **Oxford University Press**, 4, 2007.
- HALLIWELL, B; ARUOMA O. I. DNA damage by oxygen-derived species - Its mechanism and measurement in mammalian systems. **FEBS Letters**, 281, 1-2, 9-19, 1991.
- HANCOK, J. T; DESIKAN, R; NEILL, S. J. Role of reactive oxygen species in cell signalling pathways. **Biochemical Society Transactions**, 29, Part 2, 345-350, 2001.
- HAY, K.X. et al. High-throughput quantitation of peroxy radical scavenging capacity in bulk oils. **J. Agric. Food Chemistry**, 54, 5299–5305, 2006.
- HOLGUÍN-ACUÑA, A. L. H. et al. Maize bran/ oat flour extruded breakfast cereal: A novel source of complex polysaccharides and na antioxidant. **Food Chemistry**, 111, 654-657, 2008.

HUANG, D.J; OU, B. X; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53, 6, 1841-1856, 2005.

HUBERT, J. et al. Effects of fermentation on the phytochemical composition and antioxidant properties of soy germ. **Food Chemistry**, 109, 709–721, 2008.

HUNG, P. V. et al. N. Total phenolic compounds and antioxidant capacity of wheat graded flours by polishing method. **Food Research International**, 42, 185–190, 2009.

HUNG. P. V; MORITA. N. Distribution of phenolic compounds in graded flours milled from whole buckwheat grains and their antioxidant capacities. **Food Chemistry**, 109, 325-331, 2008.

HUSAIN, S. R; CILLARD. J. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. **Phytochemistry**, 26, 9, 2489-2491, 1987.

JACOBS, D. R. et al. Whole grain intake may reduce risk of coronary heart disease death in postmenopausal women: The Iowa Women's Health Study. **American Journal of Clinical Nutrition**, 68, 248-257, 1998.

JIMENEZ-ESCRIG, A. et al. Evaluation of free radical scavenging of dietary carotenoids by the stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 80, 1686–1690, 2000.

JONNALA, R. S. et al. Phenolics in the bran of waxy wheat and triticale lines. **Journal of Cereal Science**, 52, 509-515, 2010.

JUN-MING, S. et al. Rapid HPLC method for determination of 12 isoflavone components in soybean seeds. **Agricultural Sciences in China**, 10, 1, 70-77, 2011.

JUSTO, O. R. et al. Evaluation of the antioxidant potential of plant extracts obtained by supercritical fluid extraction. **Química Nova**, 31, 7, 1699, 2008.

KAHKONEN, M. P. et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47, 3954-3969, 1999.

KANAKIS, C. D. et al. An overview of structural features of DNA and RNA complexes with saffron compounds: models and antioxidant activity. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 95, 204-212, 2009.

KARADAG, A; OZEELIK, B; SANER, S. Review of methods to determine antioxidant capacities. **Food Analytical Methods**, 2, 41-60, 2009.

KAROLIN. et al. Fluorescence and Absorption Spectroscopic Properties of Dipyrrometheneboron Difluoride (BODIPY) Derivatives in Liquids, Lipid Membranes, and Proteins. **Journal of the American Chemical Society**, 116, 7801-7806, 1994.

KIM, K. et al. Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the

effect of hydrolysis conditions. **Food Chemistry**, 95, 466-473, 2006.

KIM, Y-N; GIRAUD, D. W; DRISKELL, J. A. Tocopherol and carotenoid contents of selected Korean fruits and vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, 20, 6, 458-465, 2007.

KIUCHI, F. et al. Nematocidal activity of turmeric: Synergistic action of curcuminoids. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, 41, 1640-3, 1993.

KLAJN, V. M. et al. Compostos antioxidantes em aveia. **Revista Brasileira de Agrociências**, 18, 4, 292-303, 2012.

KOURY, J.C; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, 3, 16, 4, 433-41, 2003.

KUMAR, V. et al. A comparative assessment of total phenolic content, ferric reducing-antioxidative power, free radical-scavenging activity, vitamin C and isoflavones content in soybean with varying seed coat colour. **Food Research International**, 43, 323-328, 2010.

LAURRARI, J. A; RUPÉREZ, P; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 45, 1390-1393, 1997.

LEE, J. H; CHO, K. M. Changes occurring in compositional components of black soybeans maintained at room temperature for different storage periods. **Food Chemistry**, 131, 161-169, 2012.

LEE, J. H. et al. Characterisation of anthocyanins in the black soybean (*Glycine max* L.) by HPLC/DAD-ESI/MS analysis. **Food Chemistry**, 112, 226-231, 2009.

LEME, A. C. V. P. **Soja orgânica e obtenção de farinha e leite de soja: Análise Microscópica, Histoquímica e Química**. 2010 (Dissertação de Mestrado) - Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.

LEONG, L. P. SHUI, R. An investigation on of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food Chemistry**, 76, 69-75, 2002.

LIMA, K. S. P. **Avaliação da atividade antioxidante e antimutagênica em diferentes infusões medicinais: Barbas de milho, carqueja, dente de leão, folhas de oliveira e urtiga-branca**. 2011 (Dissertação de mestrado) - Tecnologia e Segurança Alimentar, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Lisboa, 2011.

LIMA, V. L. A. G. et al. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chemistry**, 90, 565-568, 2005.

LIU, R. H. Whole grain phytochemicals and health. **Journal of Cereal Science**, 46, 207-219, 2007.

LIU, X. et al. Total phenolic content and DPPH center dot radical scavenging activity of
Dissertação de Mestrado

lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in Colorado. **LWT-Food Science and Technology**, 40, 3, 552-557, 2007.

LU, M. et al. Antioxidant capacity and major phenolic compounds of spices commonly consumed in China. **Food Research International**, 44, 530-536, 2011.

NACZK, M; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of chromatography**, 1054, 95-111, 2004.

NAGEN, T. J; ALBUQUERQUE, T. T. O; MIRANDA, L. C. G. Ácidos fenólicos em cultivares de soja: ação antioxidante. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, 35, 1, 129-138, 1992.

NAGENDRAPPA, C. G. An appreciation of free radical chemistry, free radicals in diseases and health. **Resonance**, 10, 65-73, 2005.

NAGUIB, Y. M. A. A fluorometric method for measurement of peroxy radical scavenging activities of lipophilic antioxidants. **Analytical Biochemistry**, 265, 2, 290-298, 1998.

NAKATANI, N. Antioxidants from spices and herbs. In: **Shahidi, F (Ed) Natural antioxidants: Chemistry, health effects and applications**, Newfoundland: AOAC Press, 4, 64-65, 1996.

NAMIKI, M. The chemistry and physiological functions of sesame. **Food Rev. Int.** 11, 281–329, 1995.

NERI, S. et al. Effects of antioxidant supplementation on postprandial oxidative stress and endothelial dysfunction: A single-blind, 15-day clinical trial in patients with untreated type 2 diabetes, subjects with impaired glucose tolerance, and healthy controls. **Clinical Therapeutics**, 27, 11, 1764-1773, 2005.

NIKI, E. Assessment of antioxidant capacity *in vitro* and *in vivo*. **Free Radical Biology & Medicine**, 49, 503–515, 2010.

OLIVEIRA, A. C. **Capacidade antioxidante de farinhas de resíduos de frutas tropicais**. 2008. (Dissertação de Mestrado) Ciências da Saúde – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2008.

OLIVEIRA, A. C. et al. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, 115, 2, 469-475, 2009.

OLIVEIRA, A. C. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química. Nova**, 32, 3, 689-702, 2009a.

OLIVEIRA, M. B. S. et al. Cocos nucifera Linn. (Palmae) Husk Fiber Ethanol Extract: Antioxidant Capacity and Electrochemical Investigation. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, 16, 121-129, 2013.

OLIVEIRA, M. S. et al. Atividade antioxidante e antifúngica de extratos vegetais. **Alim. Nutr**, 18, 3, 267-275, 2007.

OMENA, C. M. B. et al. Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities of ethanol extracts of peel, pulp and seeds of exotic Brazilian fruits antioxidant anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities in fruits. **Food Research International**, 49, 334-344, 2012.

ONYENEHO, S. N; HETTIARACHCHY, N. S. Antioxidant activity of durum wheat bran. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 40, 1496–1500, 1992.

OU, B. et al. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, 3122, 2002.

OZYUREK, M; GUCLU, K; APAK, R. The. main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement. **TRAC-Trends in Analytical Chemistry**, 30, 4, 652-664, 2011.

OZYUREK, M. et al. Spectrophotometric determination of ascorbic acid by the modified CUPRAC method whit extractive separation of flavonoids-La(III) complexes. **Analytica Chimica Acta**, 588, 1, 88-95, 2007.

PADILHA, C. P; PINHEIRO, R. L. O papel dos alimentos funcionais na prevenção e controle do câncer de mama. **Revista Brasileira Cancerologia**, 50 (3): 251-60, 2004.

PAGANO, G. et al. Congenital disorders sharing oxidative stress and cancer proneness as phenotypic hallmarks: prospects for joint research in pharmacology. **Medical Hypotheses**, 51, 253-266, 1998.

PANTELIDIS, G. E. et al. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. **Food Chemistry**, 102, 777-783, 2007.

PARK, Y. K. et al. Biotransformação de Isoflavonas de Soja – Aplicação da biotecnologia enzimática na conversão de isoflavonas com maior atividade biológica. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, 20, 2001.

PELLEGRINI, N. et al. Total antioxidant capacity of spices, dried fruits, nuts, pulses, cereals and sweets consumed in italy assessed by three different in vitro assays. **Molecular Nutrition & Food Research**, 50, 1030-1038, 2006.

PEREIRA, R. C. A; MOREIRA, M. R. Cultivo de *Curcuma longa* L. (Açafrão-da-índia ou Cúrcuma). **Comunicado Técnico Online**, 142, 2009.

PEREZ-JIMENEZ, J. et al. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, 39, 791–800, 2006.

PESCHEL, W. et al. An industrial approach in the search of natural antioxidants from

- vegetable and fruit wastes. **Food Chemistry**, 97, 137-150, 2006.
- PETERSON, D.M. Oat Antioxidants. **Journal of Cereal Science**. 33, 2, 115-129, 2001.
- PIETTA, P., Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, 63, 1035–1042, 2000.
- PIMENTEL, B. M. V; FRANCKI, M; GOLLÜCKE, B. P. Alimentos funcionais: introdução as principais substâncias bioativas em alimentos. **São Paulo: Editora Varela**, 2005.
- PINHO, O. et al. Quantification of synthetic phenolic antioxidants in liver patês. **Food Chemistry**, 68, 353-357, 2000.
- PIRES, A. S. S. Universidade de Coimbra. 2008. **Citotoxicidade da vitamina C em células tumorais - Estudo *in vitro* e *in vivo* através de métodos bioquímicos e de imagiologia nuclear**. (Dissertação de Mestrado) 2008.
- PRAKASH, D. et al. Antioxidant and free radical-scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (*Glycine max*). **Food Chemistry**, 104, 783-790, 2007.
- PRATHAPAN A. et al. Antiperoxidative, free radical scavenging and metal chelating activities of *Boerhaavia diffusa* L. **Journal Food Biochemistry**, 35, 1548-1554, 2011.
- PRATT, D. E; BIRAC, P. M. Source of antioxidant activity of soybean and soy products. **Journal Food Science**, 44, 1720-1722, 1979.
- PRIOR, R. L; WU, X; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 53, 10, 4290- 4302, 2005.
- PRZYBYLSKI, R; LEE, Y. C; ESKIN, N. A. Antioxidant and radical scavenging activities of buckwheat seed components. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, 75, 1595–1601, 1998.
- PULIDO, R; BRAVO, L; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48, 8, 3396-3402, 2000a.
- QUEIROGA, V. P. et al. Qualidade fisiológica e composição química das sementes de gergelim com distintas cores. **Revista Agroambiente On-line**, 4, 27-33, 2010.
- RAHMAN, I; BIWAS, S; KODE, A. Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. **European Journal of Pharmacology**, 533, 222-239, 2006.
- RAGAEI, S; ABDEL-AAL, E. M; NOAMAN, M. Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. **Food Chemistry**, 98, 32–38, 2006.
- RAHMAN, I; BISWAS, S. K; KODE A. Oxidant and antioxidant balance in the airways and

- airway diseases. **European Journal of Pharmacology**, 533, 1-3, 222-239, 2006.
- RAMALHO, V. C; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, 29, 4, 755-760, 2006.
- RAMASWAMY, T.S; BANERJEE, B.N. Vegetable dyes as antioxidant for vegetable oils. **Annals of Biochemistry and Experimental Medicinal**, 8, 55, 1948.
- RANDHIR, R; SHETTY, K. Mung beans processed by solid-state bioconversion improves phenolic content and functionality relevant for diabetes and ulcer management. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 8, 197-204, 2007.
- RANDHIR, R; KWON, Y. I; SHETTY, K. Effect of thermal processing on phenolics, antioxidant activity and health-relevant functionality of select grain sprouts and seedlings. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 9, 355-364, 2008.
- RATNAM, D. V. et al. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. **Journal of Controlled Release**, 113, 189-207, 2006.
- REPETTO, M. G; LLESUY, S. F. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 35, 5, 523-34, 2002.
- RESTREPO, D. A. M; CORTÉS, R. M; ROJANO, B. A. Potenciación de la capacidad antioxidant de Fresa (*Fragaria ananassa* Duch.) por incorporación de vitamina e utilizando la técnica de impregn a vacío. **Vitae, Revista de La Facultad de Química Farmacêutica**, 17, 2, 135-140, 2010.
- RIBEIRO, M. A; BERNARDO-GIL, M. G; ESQUÍVEL, M. M. *Melissa Officinalis*, L. Study of antioxidant activity in supercritical residues. **Journal of Supercritical Fluids**, 21, 51-60, 2001.
- RIBEIRO, S. M. R. et al. The formation and the effects of the reactive oxygen species in biological media. **Bioscience Journal**, 21, 3, 133-149, 2005.
- RODRIGUES, J. S. Q. **Infusões à base de folhas de passifloras do cerrado: Compostos fenólicos, atividade antioxidante in vitro e perfil sensorial**. 2012. (Dissertação de mestrado) Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.
- ROSENFELDT, F. et al. Oxidative stress in surgery in an ageing population: Pathophysiology and therapy. **Experimental Gerontology**, 48, 45-54, 2013.
- RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). **EMBRAPA, Comunicado Técnico Online 127, Fortaleza, 4p**, 2006.
- SAÂNCHEZ-MORENO, C; LARRAURI, J; SAURA-CALIXTO, F. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic
Dissertação de Mestrado

constituents. **Food Research International**, 32, 407-412, 1999.

SABIR, M. A; SOSULSKI, F. W; KERNAN, J. A. Phenolic constituents in sunflower flour. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 22, 572–574, 1974.

SACHIDANANDAM, K; FAGAN, S. C; ERGUL, A. Oxidative stress and cardiovascular disease: Antioxidants and unresolved issues. **Cardiovascular Drug Reviews**, 23, 2, 115–32, 2005.

SALGADO, P. R. et al. Exploration of the antioxidant and antimicrobial capacity of two sunflower protein concentrate films with naturally present phenolic compounds. **Food Hydrocolloids**, 29, 374-381, 2012.

SANTOS, L. P. S. **Caracterização química e avaliação da propriedade antioxidante de diferentes variedades de uva**. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciência Exatas – Departamento de Química – Programa de Pós-Graduação em Química, 2009.

SAURA-CALIXTO, F; GOÑI, I. Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. **Food Chemistry**, 94, 3, 442-447, 2006.

SCHAFFER, F. Q; BUETTNER, G. R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. **Free Radical Biology And Medicine**, 30, 11, 1191-1212, 2011.

SERPEN, A; GOKMEN, V; FOGLIANO, V. Solvent effects on total antioxidant capacity of foods measured by direct QUENCHER procedure. **Journal of Food Composition and Analysis**, 26, 52-57, 2012.

SHAHIDI, F; WANASUNDARA, P. K. J. P. D. Phenolic antioxidants. **CRC critical Review Food Science and Nutrition**, 32, 1, 67-103, 1992.

SHAHIDI, F; LIYANA-PATHIRANA, CM; WALL, D.S. Antioxidant activity of white and black sesame seeds and their hull fractions. **Food Chemistry**, 99, 478-483, 2006.

SHAHIDI, F. Natural Antioxidants Chemistry, health effects, and applications. **Champaign: AOCS Press**, 414, 1997.

SHAMI, N. J. I. E; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Brazilian Journal of Nutrition**, 17, 2, 227-36, 2004.

SHAN, B. et al. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53, 7749-7759, 2005.

SHUI, G; LEONG, L. P. Residue from star fruit valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. **Food Chemistry**, 97, 277-284, 2006.

SILVA, E. R. et al. Capacidade antioxidante e composição química de grãos integrais de gergelim creme e preto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 46, 7, 736-742, 2011.

SIMÕES, C. M. C. et al. Farmacognosia: do plasma ao medicamento. **Ed. UFSC/ Ed. UFRGS**, 2001. 883p.

SINGLETON, V. L; ORTHOFER, R; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, 299,152-177, 1999.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, 15, 71-81, 2002.

SOARES, L. L. et al. Avaliação dos efeitos da semente de linhaça quando utilizada como fonte de proteína nas fases de crescimento e manutenção em ratos. **Revista de Nutrição**, 22, 4, 483-491, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rn/v22n4/v22n4a04.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2010.

SOONG, Y; BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**, 88, 411-417, 2004.

SOUZA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, 30, 2, 351-355, 2007.

STRATIL, P., KLEJDUS, B. AND KUBAN V. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables – Evaluation of spectrophotometric methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54, 607-616, 2006.

STRATIL, P; KLEJDUS, B; KUBÁN, V. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. **Talanta**, 71, 1741-1751, 2007.

SUCUPIRA, N. R. et al. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **Revista UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, 14, 4, 263-9, 2012.

SZYDŁOWSKA-CZERNIAK, A; TROKOWSKI, K; SZLYK. Optimization of extraction conditions of antioxidants from sunflower shells (*Helianthus annuus* L.) before and after enzymatic treatment. **Industrial Crops and Products**, 33, 123-131, 2011.

Szydlowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., Szlyk, E. Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric method. **Talanta** 76, 899–905, 2008.

TAKEMOTO, E; FILHO, J. T; GODOY, H. T. Validação de metodologia para a determinação simultânea dos antioxidantes sintéticos em óleos vegetais, margarinas e gorduras hidrogenadas por CLAE/ UV. **Química Nova**, 32, 5, 1189-1194, 2009.

TEMPLE, N. J. Antioxidants and disease: more questions than answers. **Nutrition Research**, 20, 3, 449–459, 2000.

THOMAS, S; BALASUBRAMANIAN, K. A. Role of intestine in postsurgical complications: Involvement of free radicals. **Free Radical Biology & Medicine**, 36, 6, 745-756, 2004.

- TIVERON A. P. **Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil**. 2010. (Dissertação de Mestrado) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2010.
- TOMEI, R. R; SILVA, N. S; SALVADOR, M. J. Estresse Oxidativo: metodologias atuais para avaliação da atividade antioxidante. **Revista UniVap**, 14, 25, 2007.
- TREVISAN, R. **Marcadores de estresse oxidativo e outros parâmetros biológicos em peixes e bivalves como ferramentas de monitoramento ambiental: Análise de dois ecossistemas catarinenses**. 2008. (Trabalho de Conclusão de Curso) – Departamento de Bioquímica, CCB, UFSC. 2008.
- TRINDADE E. A. Proteínas de soja como fonte de nutracêuticos. **Revista Racine**, 62 (3), 26-32, 2001.
- TUBEROSO, C. I. G. et al. Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. **Food Chemistry**, 103, 1494–1501, 2007.
- TUTEM, E; APAK, R; BAYKUT, F. Spectrophotometric determination of trace amounts of copper (I) and reducing agents with neocuproine in the presence of copper (II) . **Analyst**, 116, 1, 89-94, 1991.
- VAHER, M. et al. Phenolic compounds and the antioxidant activity of the bran, flour and whole grain of different wheat varieties. **Procedia Chemistry**, 2, 76-82, 2010.
- VALAVANIDIS, A. et al. Comparison of the radical scavenging potential of polar and lipidic fractions of olive oil and other vegetable oils under normal conditions and after thermal treatment. **Journal Agricultural Food Chemistry**, 52, 2358–2365, 2004.
- VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Biochemistry and Cell Biology-Biochimie et Biologie Cellulaire**, 39, 44–84, 2007.
- VALKO, M. et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, 160, 1– 40, 2006.
- VARGAS, P. N; HOELZEL, S. C; ROSA, C. S. Determinação do teor de polifenóis totais e atividade antioxidante em sucos de uva comerciais. **Revista Alimentos e Nutrição.**, 19, 1, 11-15, 2008.
- VASCO, C; RUALES, J; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, 111, 816-823, 2008.
- VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano. Principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, 30, 5, 1323-1338, 2007.
- VASCONCELOS, S. M. L; SILVA, A. M; GOULART, M. O. F. Pró-antioxidantes e antioxidantes de baixo peso molecular oriundos da dieta: estrutura e função. Nutrire (SBAN),
Dissertação de Mestrado

v. 31, p. 95-118, 2006. **Nutrire**, 31, 95, 2006.

VELIOGLU, Y. S. et al. Antioxidant activity and total phenolic in selected fruits, vegetables, and grain products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 46, 4113-4117, 1998.

VERMA, B; HUCL, P; CHIBBAR, R. N. Phenolic acid composition and antioxidant capacity of acid and alkali hydrolysed wheat bran fractions. **Food Chemistry**, 116, 947-954, 2009.

VINSON, J. A. et al. Phenol antioxidant quantity and quality in foods vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 46, 3630-3634, 1998.

VINSON, J. A. et al. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 49, 5315-5321, 2001.

WANG, L. et al. Determination of phenolic acid concentrations in wheat flours produced at different extraction rates. **Journal of Cereal Science**, 57, 67-72, 2013.

WARD, J. L. et al. The HEALTHGRAIN cereal diversity screen: concept, results and prospects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56, 9699-9709, 2008.

WATERMAN, P. G; MOLE, S. Eds. Extraction and chemical quantification. **In Analysis of Phenolic Plant Metabolites. Methods in Ecology; Blackwell Scientific Publications: Oxford**, 66-103, 1994.

WEISZ, G. M; KAMMERER, D. R; CARLE, R. Identification and quantification of phenolic compounds from sunflower (*Helianthus annuus* L.) kernels and shells by HPLC-DAD/ESI-MS. **Food Chemistry**, 115, 758-765, 2009.

WHITE, P. J; XING, Y. Antioxidants from cereals and legumes. **Natural antioxidant, chemistry, health effects and applications**, 25-45, 1997.

YANG, J; LIU, R. H; HALIM, L. Antioxidant and antiproliferative activities of common edible nut seeds. **LWT - Food Science and Technology**, 42, 1, 1-8, 2009.

YOSHIDA, H. Composition and quality characteristics of sesame seed (*Sesamum indicum*) oil roasted at different temperatures in an electric oven. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 65, 3, 331-336, 1994.

YU, L. et al. Antioxidant properties of bran extracts from “Akron” wheat grown at different locations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, 1566-1570, 2003.

YU, L. et al. Free radical scavenging properties of wheat extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, 1619-1624, 2002.

YU, L. et al. Comparison of wheat flours grown at different locations for their antioxidant properties. **Food Chemistry**, 86, 11-16, 2004.

ZHANG, D; HAMAUZU, Y. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of
Dissertação de Mestrado

broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. **Food Chemistry**, 88, 503–509, 2004.

ZHANG, R. F. et al. Phenolic composition and antioxidant activity in seed coats of 60 Chinese black soybean (*Glycine max* L. Merr.) varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 59, 5935–5944, 2011.

ZHANG, Y. et al. Phenolic acid profiles of Chinese wheat cultivars. **Journal of Cereal Science**, 56, 629-635, 2012.

ZHOU, K; YU, L. Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, 37, 717-721, 2004.

ZIBADI, S. et al. Oral administration of purple passion fruit peel extract attenuates blood pressure in female spontaneously hypertensive rats and humans. **Nutrition. Research**, 27, 7, 408-416, 2007.

ZIELINSKI, H; KOZLOWSKA, H. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48, 2008–2016, 2000.

ZULUETA, A; ESTEVE, M. J; FRÍGOLA, A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. **Food Chemistry**, 114, 1, 310-316, 2009.