

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE SEMENTES DE MARACUJÁ (*Passiflora edulis*) EM ÓLEO DE SOJA¹

Neuza Jorge², Cassia Roberta Malacrida², Priscila Milene Angelo², Denise Andreo²

ABSTRACT

PROXIMAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE EXTRACT OF PASSION FRUIT SEEDS (*Passiflora edulis*) IN SOYBEAN OIL

This study evaluated the antioxidant activity of passion fruit seeds extract in soybean oil. Dried seeds were ground and submitted to extraction with ethanol:water (95:5), for two hours, at room temperature. The resulting extract was centrifuged and the supernatant evaporated for dry extract yield calculation. The extract of passion fruit seeds was suspended again in ethanol:water (95:5) and applied to soybean oil in two concentrations (500 mg kg⁻¹ and 1,000 mg kg⁻¹), being submitted to oven accelerated test at 60°C, for 20 days. Oil samples were taken every 5 days and analyzed for peroxide value. As a parameter of comparison, it was used butyl hydroxytoluene (BHT) as well as refined soybean oil without antioxidants (control). In the extract, the antioxidant activity was measured by the DPPH radical method and total phenols by using the Folin-Ciocalteu method. The yield of dry extract was 1.26%, the IC₅₀ value was 113.41 µg mL⁻¹, and the concentration of total phenolic compounds was 42.93 mg of gallic acid per gram of extract. At the final heating time, peroxide values were significantly different and the antioxidant activity order was: BHT > passion fruit 500 mg kg⁻¹ > passion fruit 1,000 mg kg⁻¹ > control.

KEY-WORDS: Antioxidants; passion fruit seeds; peroxide value; proximal composition.

RESUMO

Este trabalho consistiu em avaliar a atividade antioxidante do extrato de sementes de maracujá em óleo de soja. As sementes desidratadas foram trituradas e submetidas à extração em etanol:água (95:5), por duas horas, à temperatura ambiente. O extrato resultante foi centrifugado e o sobrenadante rotovaporado, a fim de se calcular o rendimento de extrato seco. O extrato de sementes de maracujá foi ressuspensão no mesmo solvente utilizado para a extração e aplicado no óleo de soja, em duas concentrações (500 mg kg⁻¹ e 1.000 mg kg⁻¹), sendo submetido ao teste acelerado de estufa, a 60°C, por 20 dias. Amostras de óleo foram retiradas a cada 5 dias e analisadas quanto ao índice de peróxidos. Como parâmetro de comparação, foi utilizado butil hidroxitolueno (BHT), bem como o óleo de soja refinado, isento de antioxidantes (controle). No extrato, a atividade antioxidante foi mensurada pelo método do radical DPPH e a concentração de compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu. O rendimento em extrato seco foi 1,26%, o valor de CE₅₀ encontrado foi 113,41 µg mL⁻¹ e a concentração de compostos fenólicos totais foi 42,93 mg de ácido gálico/g de extrato. Para o tempo final de estufa, os valores de peróxidos diferiram significativamente entre si e a ordem de atividade antioxidante foi: BHT > maracujá 500 mg kg⁻¹ > maracujá 1.000 mg kg⁻¹ > controle.

PALAVRAS-CHAVE: Antioxidantes; sementes de maracujá; índice de peróxidos; composição centesimal.

INTRODUÇÃO

Atualmente, existe uma forte tendência para o aumento do consumo de frutas tropicais, devido ao seu valor nutricional e seus efeitos terapêuticos. Dentre elas, está o maracujá, fruto originário da América Tropical, bastante cultivado no Brasil (Oliva et al. 1996).

Cascas e sementes, resultantes do processamento do suco de maracujá, acarretam problemas à

indústria, pelo resíduo gerado, cujo volume representa inúmeras toneladas. Assim, agregar valor a estes subprodutos é de interesse econômico, científico e tecnológico (Ferrari et al. 2004).

As sementes de maracujá representam, aproximadamente, 12% do fruto e podem ser consideradas boas fontes de óleos, além de conter alta quantidade de fibras, o que sugere seu uso como fonte complementar desses nutrientes na dieta (Chau & Huang 2004).

1. Trabalho recebido em mar./2008 e aceito para publicação em dez./2009 (nº registro: PAT 3566).

2. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. E-mails: njorge@ibilce.unesp.br, cmalacrida@terra.com.br, pmileneangelo@yahoo.com.br, deniseandreo@hotmail.com.

A oxidação lipídica, uma das principais causas de deterioração de alimentos, pode ser prevenida pela adição de antioxidantes, dentre os quais os sintéticos BHA (butil hidroxianisol), BHT (butil hidroxitolueno), GP (galato de propila) e TBHQ (terc-butil hidroquinona) são os mais utilizados (Ramalho & Jorge 2006). O emprego destes compostos, entretanto, tem sido alvo de questionamentos, quanto à sua inocuidade, motivando a busca de antioxidantes naturais, que possam atuar isolados, ou sinergicamente, com outros aditivos, em substituição aos sintéticos (Soares 2002). Por esta razão, maior atenção tem sido dada à aplicação de antioxidantes naturais em alimentos, devido ao valor nutricional e efeitos terapêuticos (Gaméz-Meza et al. 1999).

Pesquisas realizadas nos últimos anos relatam que muitos vegetais, em particular as especiarias e frutas, apresentam, em sua constituição, além dos nutrientes essenciais, compostos com ação antioxidante, de natureza fenólica, dentre os quais se destacam os polifenóis (Halliwell 1996, Harborne & Williams 2000). Segundo Dhawan et al. (2004), o gênero *Passiflora* possui importantes componentes fitoquímicos com atividade antioxidante, como compostos fenólicos, glicosídeos e alcalóides.

Apesar da grande biodiversidade existente no Brasil e de haver um grande potencial a ser explorado, existem poucos dados sobre a atividade antioxidante de extratos obtidos de resíduos da industrialização de frutas. Visando ao aproveitamento das sementes de maracujá obtidas do processamento de suco, o objetivo deste estudo foi determinar a composição centesimal e a atividade antioxidante destas sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

Óleo vegetal e BHT

No experimento, foi utilizado o óleo de soja refinado, sem a adição de antioxidantes (TBHQ e ácido cítrico), cedido pela empresa Cargill Agrícola S/A, Uberlândia (MG), e o antioxidante sintético comercial BHT, marca Grindox™, gentilmente cedido pela empresa Danisco S/A.

Sementes de maracujá

As sementes foram adquiridas de uma indústria produtora de doces, localizada no município de

Engenheiro Schimdt (SP) e, após recepção, foram homogeneizadas e preparadas para a realização das análises. As sementes foram lavadas, ligeiramente, com água destilada, para remover restos de polpas e açúcares solúveis provenientes das frutas, e colocadas em estufa com circulação de ar forçada, à temperatura de 40°C, para redução do teor de umidade abaixo de 10%. Em seguida, foram armazenadas em recipientes plásticos de polipropileno, vedados com tampas de rosca e devidamente rotulados.

Obtenção do extrato de sementes de maracujá

As sementes secas foram trituradas e passadas em tamis de 80 mesh, para a obtenção de um pó uniforme. O extrato das sementes de maracujá foi obtido por extração com etanol:água (95:5), sob agitação contínua (160 rpm) em *shaker* (Tecnal, modelo TE-141, Piracicaba, Brasil), por 2 horas, à temperatura ambiente. Em seguida, o extrato foi centrifugado a 1.000 rpm, por 6 minutos. Para determinar o rendimento em matéria seca, o sobrenadante foi recolhido e o solvente utilizado para a obtenção do extrato removido em evaporador rotativo, sob pressão reduzida, a 40°C. O extrato seco foi ressuspense em etanol:água (95:5), para aplicação no óleo de soja.

Composição centesimal das sementes

As determinações analíticas de umidade (método Ai 2-75), lipídios (método Ai 3-75), cinzas (método Ba 5a-49) e fibras (método Ba 6-84) nas sementes foram realizadas de acordo com os métodos oficiais da AOCS (1993). As proteínas foram determinadas pelo método de Kjeldahl (método 984.13), descrito pela AOAC (1995), e os carboidratos foram quantificados por diferença. Todas as medidas analíticas da composição centesimal das sementes foram realizadas em triplicata.

Atividade antioxidante e compostos fenólicos totais

A atividade antioxidante do extrato de sementes de maracujá foi determinada pelo método do radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), descrito por Mensor et al. (2001). Esta metodologia permite a determinação do valor da concentração eficiente (CE₅₀), em µg mL⁻¹, definido como a concentração de extrato necessária para atingir 50% de atividade antioxidante e obtido por regressão linear.

A determinação de compostos fenólicos foi realizada pelo método colorimétrico, desenvolvido por Singleton & Rossi (1965), utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu. Para a quantificação, foi utilizada uma curva padrão de ácido gálico, nas concentrações de 0 mg L⁻¹, 100 mg L⁻¹, 200 mg L⁻¹, 300 mg L⁻¹, 400 mg L⁻¹ e 500 mg L⁻¹. O coeficiente de determinação da curva analítica foi de 0,9995 e a atividade antioxidante e os compostos fenólicos totais foram determinados em duplicata.

Avaliação da atividade antioxidante

O ensaio experimental, conduzido em estufa, para avaliação da atividade antioxidante, foi realizado com delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (controle, BHT e concentração de extrato de 500 mg kg⁻¹ e 1.000 mg kg⁻¹) e cinco tempos de estufa (0, 5, 10, 15 e 20 dias), em duas repetições.

Amostras para a avaliação da atividade antioxidante foram preparadas misturando-se o extrato de maracujá com o óleo de soja, em duas diferentes concentrações (500 mg kg⁻¹ e 1.000 mg kg⁻¹). BHT (100 mg kg⁻¹) foi utilizado para comparação e óleo de soja refinado, isento de antioxidantes, foi usado como controle. Foram preparadas duas repetições de cada tratamento (concentrações de extrato de 500 mg kg⁻¹ e 1.000 mg kg⁻¹, controle e BHT).

O teste da estufa (teste de *Schall*), associado à determinação do índice de peróxidos, foi utilizado para avaliar a atividade antioxidante do extrato adicionado ao óleo de soja (Zhang et al. 1990). As amostras de óleo foram colocadas em béqueres de vidro, com relação superfície/volume de 0,4 cm⁻¹, e mantidas sob aquecimento em estufa com circulação de ar, a 60°C. Índices de peróxidos (método Cd 8-53) foram medidos (AOCS 1993), em duplicata, nas amostras, em períodos de 0, 5, 10, 15 e 20 dias.

Análise estatística

Os resultados obtidos das determinações analíticas, em duplicata, foram submetidos a análise de variância e as diferenças entre as médias testadas, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey. A relação entre tempo de estufa e índice de peróxidos foi analisada por regressão linear.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição centesimal das sementes, rendimento em matéria seca e valores de CE₅₀ e de compostos fenólicos totais do extrato de sementes de maracujá são apresentados na Tabela 1.

Com relação à composição centesimal, as sementes apresentaram maiores percentagens de lipídios (28,12%) e fibras (44,65%). Os valores encontrados para composição centesimal de sementes de maracujá, em estudo realizado por Chau & Huang (2004), foram: 6,60% de umidade; 8,25% de proteína; 24,5% de lipídios; 1,34% de cinzas; 64,8% de fibras; e 1,11% de carboidratos. Segundo estes autores, as sementes são ricas em lipídios e em fibras, sendo a fibra insolúvel mais predominante composta, principalmente, de celulose, pectina e hemicelulose.

Os elevados teores de fibras e proteínas das sementes de maracujá sugerem que estas podem ser utilizadas como ração animal, ou até mesmo na alimentação humana, por possuírem um representativo valor nutricional, desde que comprovada a ausência de substâncias tóxicas ou alergênicas. Devido à alta percentagem de lipídios, estas sementes podem ser reaproveitadas, tanto pela indústria alimentícia quanto pela indústria cosmética.

O rendimento da extração em etanol:água (95:5) das sementes de maracujá foi de 1,26%, em extrato seco. Segundo Depkevicius et al. (1998), a quantidade de matéria extraída pode ser influenciada pela composição do substrato e técnica de extração.

Tabela 1. Composição centesimal das sementes, rendimento em matéria seca, compostos fenólicos totais e concentração eficiente do extrato de sementes de maracujá.

Componentes	Concentração (g 100 g ⁻¹)
<i>Sementes de maracujá</i>	
Umidade	6,89 ± 0,14
Proteínas	12,57 ± 0,52
Lipídios	28,12 ± 0,75
Cinzas	1,47 ± 0,09
Fibras	44,65 ± 0,17
Carboidratos (por diferença)	13,19
<i>Extrato etanólico de sementes de maracujá</i>	
Rendimento (%)	1,26
Compostos fenólicos totais (mg g ⁻¹)	42,93
EC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	113,41

O conteúdo de fenólicos totais varia, consideravelmente, de uma fruta para outra e depende da parte da fruta analisada. No extrato de sementes de maracujá, o valor da CE_{50} encontrado foi de $113,41 \mu\text{g mL}^{-1}$ e a concentração de compostos fenólicos totais foi de $42,93 \text{ mg g}^{-1}$, em equivalentes de ácido gálico. Kuskoski et al. (2005) verificaram, em polpa de maracujá, atividade antioxidante de $46,66 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ e concentração de compostos fenólicos de $20,00 \text{ mg}$ de equivalentes de ácido gálico 100 g^{-1} de polpa da fruta. Em extrato etanol:água (95:5) de sementes de melão amarelo, Malacrida et al. (2007) obtiveram concentração de fenólicos totais de $20,90 \text{ mg}$ de equivalentes de ácido gálico por grama de extrato.

A ação antioxidante dos compostos fenólicos é importante na redução da oxidação lipídica, pois, quando incorporados à alimentação humana, não conservam apenas a qualidade dos alimentos, mas também reduzem o risco de desenvolvimento de patologias, como doenças cardiovasculares, câncer, úlceras, processos inflamatórios, fragilidade vascular e infecções (Martínez-Valverde et al. 2000).

Muitos solventes podem ser utilizados com sucesso, na extração de compostos fenólicos, porém, o aumento do rendimento depende, diretamente, da polaridade dos mesmos (Duh 1998). É válido ressaltar que, além dos compostos fenólicos, as frutas contêm outros inibidores de oxidação, como ácido ascórbico, ácidos hidroxicarboxílicos e carotenóides (Pokorný 2007) e que a extração desses fitoquímicos também é influenciada pela polaridade do solvente utilizado.

O índice de peróxidos é largamente utilizado para se avaliar o desenvolvimento primário da oxidação lipídica. A atividade antioxidante do extrato de sementes de maracujá foi comparada com a do BHT e a do controle. Conforme pode ser observado na Figura 1, todos os tratamentos foram capazes de reduzir a formação de peróxidos no óleo de soja, à temperatura de 60°C . Além disso, verificou-se, a partir dos coeficientes de determinação das retas de regressão linear (Tabela 2), a relação entre a quantidade de peróxidos formada e o período de permanência em estufa, ou seja, quanto maior o tempo de aquecimento, maior a formação de peróxidos, em todos os tratamentos.

Após 20 dias de aquecimento, os extratos adicionados ao óleo de soja, nas concentrações de 500 mg kg^{-1} e 1.000 mg kg^{-1} , apresentaram efeito antioxidante, quando comparados ao controle. O extrato de maracujá, nas concentrações 500 mg kg^{-1}

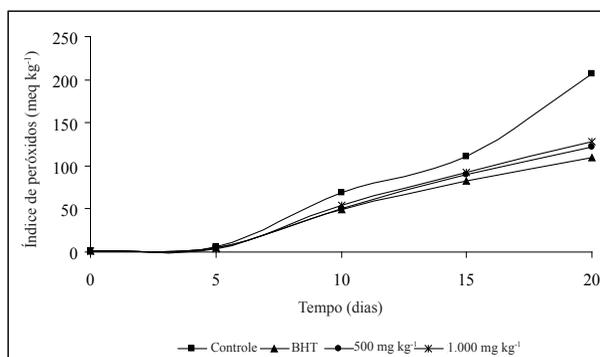


Figura 1. Índice de peróxidos para os tratamentos BHT, extrato de sementes de maracujá (500 mg kg^{-1} e 1000 mg kg^{-1}) e controle (óleo de soja), em função do tempo de estufa.

Tabela 2. Efeito do tempo de estufa sobre o índice de peróxidos, nos diferentes tratamentos.

Tratamentos	Reta de regressão linear	R ²
Controle	$y = 51,46x - 75,47$	0,92*
BHT	$y = 29,37x - 38,46$	0,96*
Maracujá 500 mg kg^{-1}	$y = 32,61x - 44,44$	0,96*
Maracujá 1.000 mg kg^{-1}	$y = 43,46x - 47,25$	0,96*

* Valores significativos para $p < 0,05$.

e 1.000 mg kg^{-1} , inibiu o processo oxidativo, com $41,1\%$ e $37,7\%$, respectivamente, de redução de peróxidos, nos 20 dias de aquecimento, enquanto o BHT os reduziu em $47,1\%$. A partir de 15 dias de aquecimento, o BHT apresentou maior capacidade antioxidante que os extratos de maracujá. Assim, para o tempo final de estufa, a ordem de atividade antioxidante foi: BHT > maracujá 500 mg kg^{-1} > maracujá 1.000 mg kg^{-1} > controle, com valores de peróxidos de $109,24 \text{ meq kg}^{-1}$; $121,57 \text{ meq kg}^{-1}$; $128,69 \text{ meq kg}^{-1}$; e $206,52 \text{ meq kg}^{-1}$, respectivamente.

Apesar de os valores de peróxidos dos óleos adicionados dos extratos de sementes de maracujá e de BHT não apresentarem diferença significativa, até 5 dias de aquecimento, a concentração 500 mg kg^{-1} apresentou maior atividade antioxidante, após o período de 10 dias de aquecimento, em relação à concentração 1.000 mg kg^{-1} .

Em estudo realizado por Gaméz-Meza et al. (1999), extrato do bagaço de uva, nas concentrações de $0,1\%$ e $0,3\%$ de compostos fenólicos totais, BHA ($0,02\%$) e TBHQ ($0,02\%$) foram adicionados ao óleo de soja e submetidos ao teste de estufa, a 60°C , por 21 dias. As concentrações do extrato não apresentaram

diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$), porém tiveram um poder antioxidante mais alto que o BHA e menor que o TBHQ, sendo uma alternativa de antioxidante natural.

CONCLUSÕES

1. O extrato de maracujá demonstrou ter efeito protetor sobre o óleo de soja, contra a oxidação propiciada pelo tempo/temperatura de estufa. Esta ação protetora pode estar relacionada ao elevado teor de compostos fenólicos totais presentes no extrato etanólico de sementes de maracujá. Observou-se, ainda, a dependência do desenvolvimento da oxidação lipídica, em função do tempo de aquecimento, em todos os tratamentos testados.
2. As sementes de maracujá, resíduo agroindustrial da extração do suco, de baixo valor econômico, podem ser transformadas em produtos de valor econômico significativo, devido à sua atividade antioxidante, apresentando-se como uma alternativa natural para serem empregadas em alimentos.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelas bolsas de Mestrado, Doutorado e Produtividade em Pesquisa.

REFERÊNCIAS

- AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY (AOCS). *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*. Champaign: AOCS, 1993.
- AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY (AOCS). *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*. Champaign: AOCS, 1997.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Arlington: AOAC, 1995.
- CHAU, C. F.; HUANG, Y. L. Characterization of passion fruit seed fibres: a potential fibre source. *Food Chemistry*, Oxford, v. 85, n. 2, p. 189-194, abr. 2004.
- DEPKEVICIUS, A. et al. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Hoboken, v. 77, n. 1, p. 140-146, 1998.
- DHAWAN, K.; DHAWAN, K.; SHARMA, A. Passiflora: a review update. *Journal of Ethnopharmacology*, Lausanne, v. 94, n. 1, p. 1-23, set. 2004.
- DUH, P. D. Antioxidant activity of burdock (*Arctium lappa* Linné): its scavenging effect on free-radical and active oxygen. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Madison, v. 75, n. 4, p. 455-461, 1998.
- FERRARI, R. A.; COLUSSI, F.; AYUB, R. Caracterização de subprodutos da industrialização do maracujá: aproveitamento das sementes. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 101-102, abr. 2004.
- GAMÉZ-MEZA, N. et al. Antioxidant activity in soybean oil of extracts from Thompson Grape Bagasse. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Madison, v. 76, n. 12, p. 1445-1447, dez. 1999.
- HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. *Annual Review of Nutrition*, Palo Alto, v. 16, n. 1, p. 33-50, 1996.
- HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, Oxford, v. 55, n. 6, p. 481-504, nov. 2000.
- KUSKOSKI, E. M. et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 25, n. 4, p. 726-732, out./dez. 2005.
- MALACRIDA, C. R. et al. Composição química e potencial antioxidante de extratos de sementes de melão amarelo em óleo de soja. *Revista Ciência Agronômica*, Fortaleza, v. 38, n. 4, p. 372-376, out./dez. 2007.
- MARTÍNEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenolicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, Caracas, v. 50, n. 1, p. 5-18, 2000.
- MENSOR, L. L. et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research*, Reading, v. 15, n. 2, p. 127-130, 2001.
- OLIVA, P. B.; MENEZES, H. C.; FERREIRA, V. L. P. Estudo da estabilidade do néctar de acerola. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 16, n. 3, p. 228-223, 1996.
- POKORNÝ, J. Are natural antioxidants better - and safer - than synthetic antioxidants? *European Journal of*

- Lipid Science and Technology*, Weinheim, v. 109, n. 6, p. 629-642, maio 2007.
- RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755-760, jul./ago. 2006.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, Davis, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.
- SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição*, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.
- ZHANG, K. Q. et al. Antioxidative components of Tanshen (*Salvia miltiorrhiza* Bung). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 38, n. 5, p. 1194-1197, 1990.